

UNIVERSIDAD DE PANAMA
FACULTAD DE MEDICINA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

AREA DE MICROBIOLOGÍA

DIRECTORA

Dra Nora de Moreno

TESIS

**Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodonticos de uso
comun y la terapia antibiotica para el *Enterococcus spp* in
vitro de pacientes con patología pulpar en Panama**

ELABORADO POR

DRA ANA MARÍA RODRIGUEZ

2010

Dedicatoria

A mi esposo Rigo por su amor y ayuda siempre

A mis padres por darme el don de la vida y creer en mi

A mi hijo Jose Manuel la luz de mis ojos

*Agradezco a Dios sobre todas las cosas por ser el guía de mi vida y por darme la
oportunidad de cumplir mis sueños*

*Agradezco a mis profesores y compañeros por cada uno de los momentos compartidos
durante este proceso de aprendizaje y superación profesional*

Agradezco a todas las personas e instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo de investigación

**Dra Miriam Bullen Dr Rigoberto Beitia Dr Ruben De La Guardia
Dra Nora de Moreno Dra Markela de Quinzada Dr Mateo Simons
Dra Evelia Quiróz Profesora Carmen I Espino Dra Clara de De La
Togna (q e p d) Dra Militza de Isaza Dr Pedro Fernandez Dr
Juan M Pascale Dr Edgar Morcillo Dra Argentina Yin Laboratorio
Central del Instituto Gorgas Facultad de Medicina y Odontología de
la Universidad de Panama y Policlínica Presidente Remon de la
Caja de Seguro Social**

INDICE GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I GENERALIDADES DE LA INVESTIGACION	5
Definicion del Problema	6
Antecedentes de la Investigacion	8
Justificacion	11
Objetivos de la Investigacion	13
CAPITULO II REVISIÓN DE LA LITERATURA	14
2 1 Endodoncia Generalidades	15
2 2 Clasificación de las Enfermedades pulpares	17
2 3 Microbiología de los conductos radiculares	19
2 4 <i>Enterococcus spp</i>	25
2 4 1 Detección de <i>E faecalis</i>	29
2 4 1 1 Metodo convencional	29
2 5 Importancia del <i>Enterococcus spp</i> como agente infeccioso en la patologia pulpar	32
2 5 1 Dientes con infección primaria	33
2 5 2 Dientes con periodontitis apical persistente	35
2 6 Factores de virulencia del <i>E faecalis</i>	43
2 6 1 Sustancia de agregacion(AS)	46
2 6 2 Adhesinas o proteínas de superficie	48
2 6 2 1 Proteina de superficie <i>ESP</i>	49
2 6 2 2 Proteina de superficie <i>ACE</i>	49
2 6 3 Feromonas sexuales	50
2 6 4 Acido lipoteicoico (ALT)	51
2 6 5 Superóxido extracelular	52
2 6 6 Gelatinasa	53
2 6 7 Hialuronidasa	54

2 6 8	Citolisina	55
2 6 9	AS-48	56
2 6 10	Otras bacteriocinas	56
2 6 11	Biopelícula	57
2 7	Resistencia antimicrobiana del <i>Enterococcus spp</i>	61
2 8	Importancia de la irrigación en la terapia endodóntica	63
2 8 1	Objetivos de la irrigación del sistema de conductos	65
2 8 2	Agentes de irrigación mas utilizados en Endodoncia	66
2 8 2 1	Hipoclorito de sodio de 0 5 6% (NaOCl)	68
2 8 2 2	Gluconato de Clorhexidina (CHX)	73

CAPITULO III ASPECTOS METODOLÓGICOS

3	MATERIALES Y MÉTODO	78
3 1	Área del estudio	79
3 2	Tamaño de la muestra	79
3 3	Criterios de inclusión	80
3 4	Criterios de exclusión	80
3 5	Metodología	80
3 5 1	Deteccion de cepas de <i>Enterococcus spp</i>	80
3 5 2	Prueba de eficacia de las sustancias irrigadoras	81
3 6	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	82
3 7	Procedimientos previos a la toma de la muestra	82
3 8	Colección de las muestras	82
3 8 1	Toma de la muestra	83
3 9	Caracterización de las colonias	87
3 10	Identificación de las especies de <i>Enterococcus spp</i>	89
3 11	Prueba de eficacia de las diferentes irrigadores in vitro	90
3 11 1	Test de exposición directa	90
3 11 2	Prueba de difusión por disco	94
3 12	Prueba de Vitek Sensibilidad antibiotica	95
3 13	Prueba de difusión por disco Sensibilidad antibiotica	97

CAPITULO IV RESULTADOS	
Resultados	98
4 1 Test de exposición directa	100
4 2 Prueba de difusión con discos	109
4 2 1 Irrigadores endodónticos	109
4 2 2 Sensibilidad antibiotica	116
CAPÍTULO V DISCUSIÓN	118
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	130
BIBLIOGRAFIA	134
ANEXOS	140
HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS CLINICOS	140
HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	141
ANALISIS ESTADÍSTICO	142
FLUJOGRAMAS DE METODOLOGIAS EXPERIMENTALES	155

INDICE DE CUADRO

CUADRO I

Irrigantes de uso endodontico utilizados en la investigación	81
--	----

INDICE DE TABLAS

TABLA I

Deteccion e identificacion de <i>Enterococcus spp</i> de conductos radiculares con patología pulpar	99
---	----

TABLA II

Eficacia de los irrigadores endodónticos sobre el <i>E faecalis</i> durante un periodo de 5 minutos	101
---	-----

TABLA III

Eficacia de los irrigadores endodonticos sobre el <i>E faecalis</i> durante un periodo de 15 minutos	103
--	-----

TABLA IV

Eficacia de los irrigadores endodónticos sobre el <i>E faecalis</i> durante un periodo de 30 minutos	104
--	-----

TABLA V

Eficacia de los irrigadores endodonticos sobre el <i>E faecium</i> durante un periodo de 5 minutos	106
--	-----

TABLA VI

Eficacia de los irrigadores endodonticos sobre el <i>E faecium</i> durante un periodo de 15 minutos	107
---	-----

TABLA VII

Eficacia de los irrigadores endodonticos sobre el <i>E faecium</i> durante un periodo de 30 minutos	108
---	-----

TABLA VIII

Promedio del tamaño del halo de inhibición de los irrigadores endodónticos sobre el <i>E faecalis</i>	109
---	-----

TABLA IX

Promedio del tamaño del halo de inhibición de los irrigadores endodónticos <i>E faecium</i>	111
---	-----

TABLA X	
Promedio de los halos de inhibición de los irrigadores endoónticos para el <i>E faecalis</i> <i>E faecium</i> y <i>E faecalis</i> ATCC	

113

TABLA XI	
Sensibilidad antimicrobiana Prueba de difusión por disco sobre antibióticos de uso común	

116

TABLA XII	
Eficacia de los antibióticos de uso común sobre el <i>E faecium</i>	
Metodo de difusión por disco	

117

TABLA XIII	
Eficacia de los antibióticos de uso común sobre el <i>E faecalis</i>	
Metodo de difusión por disco	

117

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1	
Diagrama de caja de los promedios del tamaño de halo de inhibición de la CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl Al 2.5% y 5.25% sobre el <i>E faecalis</i>	

110

GRAFICA 2	
Diagrama de caja de los promedios del tamaño de halo de inhibición de la CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl Al 2.5% y 5.25% sobre el <i>E faecium</i>	

112

GRAFICA 3	
Diagrama de Caja del promedio de halos de inhibición de CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl al 2.5% y 5.25% sobre el <i>E faecalis</i> <i>E faecium</i> y <i>E faecalis</i> ATCC(cepa control)	

114

INDICE DE FIGURA

FIGURA 1 Diagnóstico y revisión del área a tomar	83
FIGURA 2 Equipos y materiales utilizados en la toma de la muestra	84
FIGURA 3 Aislamiento absoluto de la pieza dental	84
FIGURA 4 Desinfección preliminar al acceso	85
FIGURA 5 Acceso al conducto radicular	85
FIGURA 6 Toma de la muestra con lima no 15	86
FIGURA 7 Colocación de la muestra en agar biliesculina	86

FIGURA 8	Agar biliesculina	87
FIGURA 9	Agar sangre con cepas de <i>Enterococcus spp</i>	88
FIGURA 10	Tinción de Gram 100X	88
FIGURA 11	Prueba de identificación por Vitek (GPI) y sensibilidad antibiótica (GPS)	89
FIGURA 12	Agar Sangre	90
FIGURA 13	Cultivo de bacterias en medio BHI	90
FIGURA 14	Densitometro	91
FIGURA 15	Contaminación bacteriana con las puntas de papel No 50	91
FIGURA 16	Prueba de eficacia irrigantes de uso endodóntico	92
FIGURA 17	Caldo Lethen por 48 horas	92
FIGURA 18	Caldo BHI por 48 horas	93
FIGURA 19	Observación de la turbidez	93
FIGURA 20	Confirmando la presencia de <i>Enterococcus spp</i> en Agar sangre	94
FIGURA 21	Prueba de difusión por disco Halo de inhibición	95
FIGURA 22	Vitek Colorimeter	96
FIGURA 23	Preparación de Tarjetas Vitek	96
FIGURA 24	Test de difusión por disco con CHX	115
FIGURA 25	Test de difusión por disco con NaOCl	115

LISTA DE FLUJOGRAMAS

Flujograma 1	Esquema representativo de determinación del test de exposición directa	155
Flujograma 2	Esquema representativo de determinación del test de difusión por disco	156

LISTA DE ABREVIATURAS

CHX	Gluconato de clorhexidina
NaOCl	Hipoclorito de Sodio
ATCC	American type culture collection (colección americana de cepas)
ALT	Ácido lipoteicoico
AS	Sustancia de agregación
BHI	Infusión de cerebro corazón

BH1a – Agar de cerebro corazón
PCR reaccion en cadena de la polimerasa
ml – mililitro
mm milímetro
µg – microgramo
µl microlitro
ufc unidades formadoras de colonias
AMX Amoxicilina
AMXC-Amoxicilina-acido clavulanico
E Eritromicina
V Vancomicina
R resistente
S sensible
I Sensibilidad intermedia

RESUMEN

Este estudio evalúa *in vitro* la eficacia antimicrobiana de los irrigantes endodónticos y la sensibilidad antibiótica del *Enterococcus spp* de dientes con patología pulpar en Panamá. La metodología empleada incluyó la utilización de dos pruebas: el test de exposición directa a los irrigadores endodónticos en 5, 15 y 30 minutos y el test de difusión por disco para los irrigantes endodónticos y antibióticos. Los irrigadores utilizados fueron el hipoclorito de sodio al 2.5% y 5.25% y la clorhexidina al 0.12%, 0.2% y 2%. Se utilizó la prueba de ANOVA para el análisis estadístico y las pruebas de comparación múltiple de Tukey y de Duncan para un nivel de significancia del 95% siendo la $p < 0.05$ para establecer las diferencias del efecto antimicrobiano entre los irrigadores con ambas tests. Encontramos que solo la Clorhexidina al 2% posee una alta eficacia antimicrobiana en la eliminación del *Enterococcus spp* no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con los otros irrigadores. En cuanto a la sensibilidad antibiótica el *Enterococcus spp* es sensible a la amoxicilina con/sin ácido clavulánico que son antibióticos utilizados de primera línea en Endodoncia. Debemos tener presente que los *Enterococcus spp* forman parte de esa flora oportunista que puede infectar los conductos radiculares y debido a su gran capacidad de virulencia puede permanecer en lesiones persistentes dentro del conducto. Lograr la erradicación total de este microorganismo en los tratamientos de endodoncia es uno de nuestros principales objetivos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effectiveness of endodontic irrigants and antibiotic susceptibility of *Enterococcus spp* *in vitro* in teeth with pulpal pathology in Panama. The methodology was the use of two tests: the test of direct exposure to the antimicrobial in the times of 5, 15 and 30 minutes and the disk diffusion test for endodontic irrigants and antibiotics. Irrigators used were sodium hypochlorite 2.5% and 5.25% and chlorhexidine 0.12%, 0.2% and 2%. Statistical analysis was conducted using a one way analysis of variance (ANOVA). Tests of differences were analyzed using the Tukey's test with a value of $p < 0.05$ considered statistically significant.

The results found that only 2% of Chlorhexidine has a high antimicrobial efficacy in the elimination of *Enterococcus spp*. There were no statistically significant differences with the other irrigators. As for the antibiotic sensitivity *Enterococcus spp* is sensitive to amoxicillin with / without clavulanate which are first line antibiotics used in endodontics. We must remember that the *Enterococcus spp* is part of that opportunistic flora that can infect the root canal and due to its high virulence capacity may remain in conducto. The goal is the total eradication of this organism in endodontic treatment is one of our main objectives.

INTRODUCCION



Los avances en la Endodoncia nos han permitido lograr mejores tratamientos en un menor tiempo con herramientas que hacen posible la eliminación quimio-mecánica de la infección instaurada dentro de los conductos. Los materiales actuales hacen que esta ciencia sea cada vez más perfecta. Sin embargo, la lucha contra los microorganismos permanece y siguen siendo el talón de Aquiles de los que nos dedicamos a curar enfermedades cuya etiopatogenia son los microorganismos.

Entender este microecosistema no ha sido nada fácil para los estudiosos de estas ciencias, por lo que ha sido difícil extrapolar los resultados *in vitro* a la realidad (Sundqvist, 1976; Bystrom et al, 1987; Slots & Taubman, 1992; Nair, 1997).

Se sabe que la etiopatogenia de los conductos radiculares se debe a la capacidad de ciertos microorganismos de sobrevivir en un ambiente carente de suplementos y que se organizan y adaptan a este sistema de vida. Aun después de realizado el tratamiento de endodoncia, se ha visto que algunas de ellas persisten en este ambiente.

De allí la importancia en este trabajo de conocer el papel del *Enterococcus spp* dentro de los conductos con patología pulpar, así como su comportamiento frente a sustancias que se utilizan para irrigar los conductos radiculares durante la instrumentación mecánica del tratamiento de Endodoncia.

Por muchos años se han estudiado estas sustancias para irrigar conductos radiculares en ayuda a la eliminación quimio-mecánica de las bacterias que

causan la infección pulpar (Bystrom et al 1987 Orstavik & Haapasalo 1990 Holland et al 1992 Sydney & Estrela 1996 Bammann & Estrela 1999 Lana 1999)

Se han utilizado sustancias en distintas concentraciones a diferentes tiempos la más utilizada y acertada en cuanto a su eficacia ha sido el hipoclorito de sodio (NaOCl) A pesar que los resultados de los estudios son tan diversos la mayor eficacia en la eliminación de la flora así como de los tejidos remanentes es la concentración del 5.25%

El hipoclorito de sodio tiene grandes ventajas desintegra el tejido orgánico remueve partículas por acción mecánica y es bactericida y bacteriostático sin embargo es riesgoso utilizarlo porque presenta desventajas como el olor desagradable mal sabor e irritante de tejidos lo cual ha llevado a muchos investigadores a utilizar en los estudios el Gluconato de clorhexidina (CHX) al 2% cuya acción antimicrobiana ha sido lo más parecido posible

Esta investigación se centró en la capacidad de los agentes irrigadores uso endodóntico más comunes para disminuir o eliminar el *Enterococcus spp* en un tiempo determinado Para esto se utilizaron dos métodos el test de exposición directa y el test de difusión por disco

CAPITULO I GENERALIDADES DE LA INVESTIGACIÓN

1 1 DEFINICION DEL PROBLEMA

La Endodoncia es una rama de la Odontología que estudia la etiología biológica diagnóstico prevención y tratamiento de las enfermedades de la pulpa y sus complicaciones En los últimos años las investigaciones microbiológicas nos demuestran la importancia de conocer los microorganismos que actúan como agentes infecciosos en estas patologías Esta microbiota de los conductos radiculares es muy compleja y diversa y todavía no se comprenden sus interrelaciones y componentes

En los últimos años microorganismos como el *E faecalis* ha tomado gran importancia debido a su presencia en las infecciones persistentes dentro del conducto radicular lo que concluye en el fracaso de los tratamientos endodónticos Incluso los protocolos de irrigación y técnicas de instrumentación en la terapia endodóntica han ido variando para evitar la persistencia de las infecciones dentro del conducto ya sellado

La eliminación del *E faecalis* ha resultado ser un reto en esta rama de la Odontología ya que se ha observado una alta resistencia de este microorganismo a ciertos medicamentos intraconducto utilizados durante el tratamiento de Endodoncia como el Hidróxido de Calcio y a algunas sustancias irrigadoras como el Hipoclorito de Sodio (NaOCl) por lo que se ha modificado el protocolo de irrigación utilizando el gluconato de clorhexidina (CHX) junto con el NaOCl para que su actividad antimicrobiana sea más eficaz

Debido a que los tratamientos de Endodoncia son sumamente costosos las consecuencias del fracaso de los tratamientos traen elevados costos tanto para el paciente como la dificultad de resolver una infección secundaria. Por lo que resulta interesante conocer la eficacia de estos medicamentos en la eliminación de las cepas tomadas de dientes con patología pulpar en Panamá así como su sensibilidad antibiótica. Esto nos permitirá conocer el comportamiento de estos microorganismos y así determinar nuestra guía de tratamiento dando una mejor respuesta a la efectividad de los tratamientos realizados en nuestro país.

1 2 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

La finalidad de la terapia endodóntica es eliminar la infección producida por los microorganismos dentro de los conductos radiculares de los dientes intentando devolverle en lo posible su integridad para evitar así la extracción del mismo. Es un procedimiento que requiere de un mayor control de las medidas de asepsia para tener éxito en el tratamiento así como de técnicas clínicas muy precisas.

Muchas veces por una u otra razón el tratamiento fracasa y no responde a la terapia endodóntica convencional regresando a la patología inicial e instaurándose nuevamente el proceso infeccioso. Un alto porcentaje de estos tratamientos fracasados se debe a la incapacidad de eliminar en su totalidad la flora patógena por lo que es importante utilizar una buena técnica mecánica así como de un control químico que utilice sustancias antimicrobianas que ayuden a eliminar y descontaminar los conductos radiculares.

La ecología microbiana de los conductos radiculares con lesiones pulpares es muy compleja y varía desde una flora anaerobia facultativa hasta una flora estrictamente anaeróbica. Sin embargo muchos autores han identificado microorganismos resistentes a los medicamentos irrigadores utilizados en el tratamiento persistiendo en los conductos radiculares.

Uno de estos microorganismos es el *E. faecalis* especie morfológicamente semejante a los estreptococos y cuyo hábitat natural es el intestino. A pesar

de esto su presencia en los conductos radiculares juega un papel predominante en la resistencia a las sustancias de irrigación intraconducto así como también su resistencia a los antibióticos. Esto se debe a que el *E faecalis* coloniza los conductos radiculares y forma una biopelícula que le permite ser resistente a las medicaciones comunes como el Hidróxido de Calcio creando una infección crónica (Distel J et al 2002)

El *E faecalis* es intrínsecamente resistente a prácticamente todas las cefalosporinas disponibles y ha reducido la susceptibilidad a las penicilinas carbapenemos y otros antibióticos betalactámicos. Además no es susceptible a los aminoglucósidos y es resistente a todos los antimicrobianos incluyendo al cloranfenicol tetraciclinas macrólidos clindamicinas (Lima et al 2001). Con referencia a lo anterior nos queda la interrogante de si ¿las sustancias irrigadoras utilizadas en la terapia endodóntica son eficaces en la eliminación del *Enterococcus spp* ?

Un irrigante endodóntico debe tener entre otras propiedades una fuerte actividad antimicrobiana disolviendo tejido orgánico remanente desinfectando el conducto radicular eliminar detritos proveer lubricación y no tener efectos citotóxicos en los tejidos periradiculares.

El NaOCl es una de las sustancias más utilizadas y tiene muchas de estas propiedades sin embargo su efecto citotóxico en los tejidos periapicales así como su desagradable sabor y olor potencial corrosivo y productor de reacciones alérgicas no lo hacen un irrigador seguro.

La CHX ha tomado este papel al ser utilizado como irrigador en las endodoncias con muy buenas propiedades sin embargo posee la desventaja de no disolver los tejidos pulpaes

Muchos son los estudios que han enfocados sus esfuerzos a determinar el papel de estas sustancias en la eficacia antimicrobiana sobre todo en cepas que son resistentes a ella

En un estudio de Kurkuvilla et al 1988 investigaron el efecto de combinar tanto el NaOCl como el CHX para aprovechar la ventaja de ambos irrigadores en la eficacia de su accion antibacteriana Y resulto en una gran reducci3n de la flora microbiana cuando se comparo con el uso por separado de 3stas sustancias

Este trabajo investigara in vitro el comportamiento bacteriano de cepas de *Enterococcus spp* provenientes de conductos radiculares con patologia pulpar en Panama frente a los irrigantes de uso endodontico y su sensibilidad a diferentes antibioticos

1.3 JUSTIFICACIÓN

Estudios previos han demostrado que en los tratamientos de Endodoncia con lesiones perirapicales persistentes los microorganismos juegan un papel fundamental en la etiología de la enfermedad siendo el *E faecalis* uno de estos agentes

Resulta importante un diagnóstico preciso de los agentes involucrados ya que de ello dependerá el tratamiento indicado para resolver este problema intentar empíricamente diferentes terapéuticas puede resultar en un aumento en la resistencia a la resolución de la lesión pulpar

El *E faecalis* es un comensal de nuestra flora bucal pero ya se ha demostrado que puede verse involucrado en diferentes infecciones antes sólo atribuibles a unas cuantas bacterias Sus características tan particulares de resistencia antibiótica lo convierten en un agente virulento en momentos determinados por lo que realizar este estudio nos permite conocer la etiología de las enfermedades pulpares llevándonos a diagnósticos y tratamientos más exactos

Existen dos factores de riesgo dentro de la población panameña que nos llevan a pensar que el *Enterococcus spp* podría ser un agente etiológico importante en las lesiones pulpares una es el abuso de antibióticos por parte de los pacientes y la otra es el aumento de la población inmunosuprimida todo esto aunado a las características propias del agente

Los tratamientos de Endodoncia resultan muy costosos requieren de la utilización de instrumentos y técnicas especializadas por lo que el fracaso en

el tratamiento no solo trae consecuencias económicas sino también puede afectar el éxito en el tratamiento al ser más difícil controlar la infección

Por muchos años las técnicas de irrigación de los conductos radiculares han resultado un gran aliado en la eliminación de la infección. Han sido estudiados diferentes sustancias así como también el efecto sobre algunos de los patógenos más importantes

Se ha visto que el *E. faecalis* es resistente a algunas de estas sustancias por lo que los protocolos de irrigación se han adecuados a su eliminación para evitar así el fracaso de los tratamientos

Este estudio nos permite verificar las guías de irrigación en los tratamientos y adecuarlos a nuestro entorno de manera que podamos brindar una terapia realmente efectiva basándonos en la evidencia científica. Tener una base como punto de referencia hacia nuevas líneas de investigación que mejoren nuestra calidad profesional y dará respuesta al problema de los tratamientos de endodoncia resistentes a la terapia endodóntica convencional

1 4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1 4 1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar in vitro la eficacia antimicrobiana de los *Enterococcus spp* de conductos con patologia pulpar en Panama, utilizando sustancias irrigantes de uso comun en Endodoncia por medio de las pruebas de exposicion directa y difusion por disco

1 4 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar *Enterococcus spp* de conductos radiculares con patologia pulpar

Identificar las especies de cepas de *Enterococcus spp* por medio de pruebas bioquimicas

Evaluar la eficacia antimicrobiana del NaOCl y la CHX en diferentes concentraciones y tiempos por medio de pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Comparar la eficacia de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio y clorhexidina en diferentes tiempos

Realizar pruebas de sensibilidad antibiotica a las cepas de *Enterococcus spp*

Sugerir guias de tratamiento adaptados a los hallazgos encontrados en este estudio

2 REVISIÓN DE LA LITERATURA

2 REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 ENDODONCIA GENERALIDADES

La Endodoncia es una rama de la odontología que se ocupa de la morfología fisiología y patología de la pulpa dental y de los tejidos periapicales Su estudio y practica acompaña a las ciencias clínicas básicas incluyendo la biología de la pulpa dental la etiología diagnóstico prevención y tratamiento de las enfermedades lesiones de la misma y las complicaciones periapicales asociadas

Esta especialidad se centra en la pulpa dental órgano especializado con características particulares diferentes a cualquier otro tejido dentro del cuerpo humano Éste constituye el denominado complejo dentinopulpar que es un tejido conjuntivo laxo con características especiales que mantiene una relación íntima con la dentina (Villasana A. 2002)(Lopez Marcos J F 2004)

La pulpa dental está formada por células (fibroblastos macrófagos linfocitos) fibras colágenas y reticulares sustancia fundamental amorfa líquido tisular vasos sanguíneos linfáticos y nervios Su superficie está rodeada de células altamente diferenciadas llamadas odontoblastos especializados en la formación de la dentina (Soares y Goldgerb 2002)

Igual que otros tejidos conectivos que se encuentran en el cuerpo reacciona a la infección u otros estímulos irritantes mediante una respuesta

inflamatoria Sin embargo ciertos aspectos anatomicos de este tejido conectivo especializado tienden a alterar la naturaleza y el curso de la respuesta debido a

Que la pulpa esta rodeada por un tejido duro (dentina) que limita el área para expandirse restringiendo de esta manera su capacidad para tolerar el edema

Tiene una carencia casi total de circulacion colateral lo cual limita su capacidad para enfrentar las bacterias

Posee celulas como el odontoblasto y células capaces de diferenciarse en celulas secretoras de tejido duro que forman dentina normal o dentina terciaria o ambas a la vez como defensa ante un irritante (Villasana 2002)

Son muchas los factores que pueden intervenir en el desarrollo de una patologia pulpar siendo Grossman L. en 1973 (Villasana 2002) quien clasifico los factores etiologicos de las lesiones pulpares en tres grandes grupos

Factores Fisicos los cuales incluyen los mecanicos termicos y electricos

Factores Quimicos

Factores Bacterianos

Se considera la invasion de microorganismos como la causa mas frecuente de las lesiones pulpares Los microorganismos y sus productos pueden llegar a la pulpa tanto por una solucion de continuidad en la dentina caries exposicion accidental como por la propagacion de una infeccion gingival o

por la corriente sanguínea. (Soares, I y Goldberg F 2002)(López Marcos J F 2004) (Merino R Guilarte C Pardi G 2007)

En esta última vía se habla de la anacoresis y se explica que las bacterias pueden circular a través del torrente sanguíneo desde un sitio de infección y colonizar o acumularse en sitios de inflamación como en la inflamación pulpar producida por ejemplo por un irritante físico o mecánico y esta podría ser una de las explicaciones de la necrosis pulpar luego de un traumatismo (irritante físico) (Lopez-Marcos JF 2004) (Ingle y Bakland 2004) (Caviedes B J Meneses J P 2006)

2.2 CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES PULPARES

Walton y Torabienad clasifican las enfermedades pulpares en tres grupos basándose en los síntomas clínicos de cada uno (Villasana 2002)

Pulpritis reversible

- Sintomática
- Asintomática

Pulpritis Irreversibles

- Sintomática
- Asintomática

Necrosis pulpar

La pulpritis se describe como un proceso inflamatorio en respuesta a los factores o estímulos que afectan la pulpa dental produciéndose cambios histológicos y patológicos que degeneran la pulpa dental hasta producir la

necrosis o muerte pulpar (Soares I y Goldberg F 2002)(Lopez Marcos J F 2004)

En la Facultad de Odontología de la Universidad de Panama se utiliza el siguiente esquema de clasificacion diagnóstica

- 1 Diente vital sin patologia pulpar clinica
- 2 Exposicion pulpar por caries dental
- 3 Hiperemia
- 4 Pulpitis cronica parcial
- 5 Pulpitis cronica total
- 6 Necrosis pulpar

Muchas veces al eliminar el factor o estimulo la pulpa dental es capaz de defenderse y retornar a su estado normal sin embargo por las características de este tejido los procesos inflamatorios terminan por destruirla

Se desencadena así un proceso inflamatorio con aumento de la permeabilidad capilar vasodilatación quimiotaxis de células de defensa etc

La intensa dilatación de los vasos da lugar a reducción en la circulación de los eritrocitos y a la marginación de leucocitos a lo largo de las paredes vasculares Finalmente se pueden observar dos tipos de procesos inflamatorios una fase exudativa (aguda) y otra proliferativa (cronica) Se generan dos entidades patologicas el absceso y la celulitis No se ha correlacionado ninguna especie especifica Sin embargo algunos estudios han demostrado que ciertos cultivos mixtos de bacterias son significativamente más formadoras de abscesos (Ingle y Bakland 2004)

Los productos secuelas de la inflamación pueden escaparse a los espacios de los tejidos periapicales produciendo lesiones perirradiculares (Soares I y Goldberg F 2002)

2.3 MICROBIOLOGÍA DE LOS CONDUCTOS RADICULARES

La ecología microbiana de la cavidad oral está compuesta por una microflora compleja que responde a los condicionantes ambientales que favorecen la transición de una flora comensal a una patológica. Así el desarrollo de las patologías bucales estarán determinadas por múltiples factores que interactúan entre sí.

Se estima que dentro de la cavidad bucal existen cerca de más de 300 especies de bacterias conviviendo en un estado de equilibrio es una flora que puede ser transitoria y que se inicia con microorganismos pioneros convirtiéndose en una comunidad microbiana diversa y compleja. Cuando este equilibrio se rompe y se favorecen las condiciones para el desarrollo de alguna patología esta flora compatible con salud se convierte en agentes patógenos que pueden llegar a exhibir todo su potencial virulento conduciendo al estado de enfermedad.

La pulpa dental es un órgano estéril resguardado por los tejidos dentales del esmalte y la dentina (Menno R, Guilarte C, Pardi G 2007). Una vez que se alteran estas barreras las bacterias pueden invadir y establecer una enfermedad pulpar. La caries dental es la causa más común que facilita el acceso de las bacterias a la pulpa, incluso cualquier fisura, trauma o desgaste

que exponga la dentina facilita la entrada a través de los tubulos dentinarios los cuales varían en ancho de 1-4 μm y muchas de estas bacterias miden menos de 1 μm (Soares I y Goldberg F.2002)

En 1894 Miller detecto por primera vez, la presencia de microorganismos dentro de los conductos radiculares, como agentes etiologicos de las patologias pulpares confirmado posteriormente por multiples investigadores (Sassone L et al 2003) (Aguilar T 2004)(Caviedes B J Meneses J P 2006)

La finalidad del tratamiento de Endodoncia es eliminar este proceso patologico instaurado dentro de los conductos para preservar en lo posible las piezas dentales

Para lograr el objetivo del tratamiento de Endodoncia se requieren maniobras especificas que intentaran eliminar en su totalidad la infeccion ocasionada al órgano pulpar Esto resulta dificil ya que la microflora presente es muy diversa e invade muchas veces áreas de poco acceso para el tratamiento endodóntico Por ello existe un porcentaje significativo de tratamientos fracasados donde se instala nuevamente la infeccion siendo una de estas patologias la periodontitis apical persistente (Villasana A 2002)

El sistema de conductos radiculares representa un micro ambiente especial en el cual presiones selectivas conducen al establecimiento de un grupo restringido de microorganismos de la microbiota bucal Las interrelaciones entre especies y el suplemento nutricional son factores determinantes del desarrollo de la infeccion y del crecimiento microbiano dentro del espacio pulpar En consecuencia aquellos microorganismos que se establecen son

los que pueden utilizar y competir mejor por los nutrientes disponibles dentro de la pulpa necrótica lo que va a determinar las fases iniciales de la colonización bacteriana (Soares I y Goldberg F 2002) (Villasana A 2002) Por consiguiente la flora microbiana final estará determinada por los sustratos presentes las relaciones bacterianas y las condiciones ambientales que se dan en estos tejidos profundos (Nair P *et al* 2005)(Ferreira M 2006)

Hace más de 4 décadas Kakehashi *et al* reportaron que las bacterias y sus productos eran considerados como los agentes etiológicos primarios de la necrosis pulpar y de las lesiones periapicales Ellos observaron que no se desarrolló periodontitis apical en ratas gnotobióticas (libres de gérmenes) cuando expusieron las pulpas de los molares a la cavidad oral en comparación con las ratas controles con microflora oral convencional donde sí hubo desarrollo de lesiones periapicales (Soares y Goldberg 2002) (Aguilar T 2004) (Caviedes B J Meneses J P 2006) (Díaz Alejandra 2008)

Los microorganismos representan los agentes causales más comunes de las enfermedades pulpares y de los tejidos perirradiculares por lo que los autores hacen énfasis en el conocimiento y entendimiento de estos agentes patógenos para un mejor manejo de la enfermedad (Ingle y Bakland 2004)

La mayoría de las bacterias en una infección pulpar son anaerobias estrictas y por lo general se aíslan de cinco o más especies de bacterias de conductos radiculares El número de unidades formadoras de colonias suele ser de 10^2 a 10^8

El sistema de conductos es un habitat selectivo que permite el crecimiento de determinadas especies de bacterias en preferencia de otras. El líquido histico y los productos de degradacion de la pulpa necrotica brindan nutrimentos ricos en polipeptidos y aminoácidos que adicionado a la baja tension de oxigeno y a los productos secundarios de las bacterias determinaran cuales predominaran (Ingle y Bakland 2004). Se produce un ecosistema polimicrobiano que selecciona con el tiempo bacterias anaerobias.

Las bacterias reportadas con mas frecuencia en diversos trabajos científicos son *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella oralis*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Peptostreptococcus micros*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium lentum*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces israelii*, *Streptococcus oralis*, *Tannerella forsythensis*, *Bacteroides gracilis*, *Propionibacterium propionicus*, *Treponema denticola*, *Treponema socranski* entre otras. Tambien se han reportado otros microorganismos como *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma salivarium*, *Candida albicans* y en ocasiones virus como *Epstein Barr* y *Citomegalovirus* (Menno R, Guilarde C, Pardi G 2007).

Se han relacionado algunos síntomas y signos clinicos a ciertas especies de bacterias de pigmento negro. Otras como el *E. faecalis* se han relacionado al fracaso de tratamientos (Ingle y Bakland 2004).

Los tejidos periapicales son los tejidos que rodean al diente como el ligamento periodontal, la encia y el hueso alveolar. Se conoce que las

infecciones endodónticas pueden diseminarse a través de los tejidos periapicales dependiendo de la virulencia de los microorganismos la resistencia del huésped y las estructuras anatómicas afectadas (Ingle y Bakland 2004)

Una gran cantidad de estudios e investigaciones indican que las enfermedades perirradiculares son desórdenes de tipo infeccioso. La lista de microorganismos involucrados en las enfermedades perirradiculares aumenta día a día y tienen el potencial de aumentar más en los próximos años gracias a los avances de los métodos moleculares en cuanto a identificación y detección de microorganismos (Ferreira M 2006) (Díaz Alejandra 2008)

A partir de esto las técnicas de Biología Molecular dentro del diagnóstico microbiológico lograron acceder al genoma bacteriano lo que implicó un cambio en la taxonomía de ciertos microorganismos ya conocidos ayudando al descubrimiento de nuevos géneros y especies. Estos hallazgos y modificaciones se asocian a diversos Órdenes y Phylum existentes según la homología que presente su ADN con el ADN de géneros y especies del mismo Orden. Así observamos cambios más significativos en el Orden *Eubacterales* y *Actinomycetales* en la Familia *Coriobacteriaceae* con el descubrimiento de Géneros nuevos como *Cantonella*, *Mogibacterium* y *Cryptobacterium* y en el Orden *Spirochaetales* no solo se han descubierto especies nuevas de treponemas sino también se ha esclarecido el papel que juegan en las infecciones endodónticas considerando su elevada incidencia en las mismas (Merino R, Guilarte C, Pardi G 2007)

La etiología de los problemas de origen pulpar tienen un agente etiológico bacteriano a pesar que los factores físicos o químicos pueden influir las bacterias y sus productos son de extrema relevancia en la inducción de las patologías pulpares y periradiculares. Incluso los hongos y los virus (VIH) han sido aislados de canales radiculares infectados (Baumgartner J C Watts CH Xia T 2000). Sin embargo las bacterias y sus productos son los agentes principales en estas patologías.

Las bacterias también pueden migrar de los tejidos periodontales infectados a través de los canales laterales del diente e infectar la pulpa dental. Winkler en 1956 observó los resultados de 4000 cultivos de canales radiculares. Los *Streptococcus spp* representaban el 61% de los microorganismos aislados (Aguilar T 2004).

Con el mejoramiento de técnicas microbiológicas en la década del 70 se observó el papel de los microorganismos en las patologías pulpares. Sundqvist en 1976 determinó que el 90% de los microorganismos aislados eran anaerobios estrictos (Aguilar T 2004).

Moller en 1981 confirmó el papel de las bacterias en la inducción de la inflamación pulpar al exponer tejido pulpar a la cavidad bucal durante 7 días. Encontró que los dientes fueron contaminados por una flora diversa de microorganismos como *Streptococcus a-hemolíticos*, *Enterococcus coliformes* y anaerobios como *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* y *Peptoestreptococcus* (Pinheiro E. et al 2003)(Aguilar T 2004) (Ferreira M 2006).

Sundqvist y Figdor (2003) señalaron que un microorganismo patógeno endodóntico está definido como aquel capaz de inducir destrucción de tejidos en la periodontitis apical. Los dientes con periodontitis apical se caracterizan por presentar una infección polimicrobiana y mientras algunos microorganismos específicos desempeñan diferentes funciones o dominan los distintos estadios de la infección, no existe evidencia de que existan otros que no se encuentren involucrados en la patogénesis de la periodontitis apical (Aguilar T 2004)(Díaz Alejandra 2008)

En esencia, una infección endodóntica no es más que la infección del conducto radicular del diente, siendo esta el agente etiológico primario de las diferentes formas de enfermedades inflamatorias perirradiculares. Luego que se ha establecido la infección endodóntica, estos microorganismos entran en contacto directo con los tejidos perirradiculares a través del foramen apical o los canales laterales, ocasionando daño a estos tejidos y a la vez suscitando cambios inflamatorios (Díaz, Alejandra 2008)

2.4 ENTEROCOCCUS spp

Los enterococos son bacterias anaerobias facultativas que son patógenos oportunistas de la flora microbiana dentro de los conductos radiculares.

Hasta mediados de 1980, los enterococos no eran considerados como un género bacteriano separado de los *Streptococcus*, a pesar de las características particulares que lo diferenciaban de este género.

Características como su teñido forma y disposición celular así como la ausencia de catalasa, lo ubicaban dentro del mismo

Con la clasificación serológica de Lancefield y el descubrimiento del antígeno del grupo D los *Enterococos* fueron clasificados como *Streptococcus* del grupo D tolerante a la sal Sin embargo el antígeno del grupo D es un ácido lipoteicoico uno de los componentes que se encuentra en casi todas las bacterias Gram positivas y difiere del antígeno de los carbohidratos de la pared celular de los otros estreptococos Fue en 1984 cuando los *Enterococos* obtuvieron un género formal luego de estudios de hibridación ADN ADN o ADN ARN demostrando mayores diferencias en comparación con los *estreptococos* en ese momento se introdujeron dos nuevos géneros *Enterococcus* y *Lactococcus* (Facklam R Sahn D Teixeira L 1998) (Murray B E 1999) (Díaz Alejandra 2008)

Existen 23 especies pertenecientes al género *Enterococcus* y estas a su vez se dividen en 5 grupos basados en su interacción con el manitol el sorbitol y la arginina *Enterococcus faecalis* pertenece al mismo grupo del *Enterococcus faecium* *Enterococcus casseliflavus* *Enterococcus mundtii* y *Enterococcus gallinarum* *E faecalis* responde negativamente a la arabinosa y excepto por algunas variantes atípicas es el único miembro del grupo que utiliza el piruvato y tolera el telurito (Murray B E 1999) (Díaz Alejandra 2008)

Entre otras especies se encuentran *E avium* *E cecorum* *E columbae* *E dispar* *E durans* *E hirae* *E malodoratus* *E pseudovium* *E raffinosus* *E saccharolyticus* y *E sulfureus*

Los *Enterococcus* tienen un hábitat natural muy amplio pudiéndose encontrar en la tierra, comidas, agua, plantas, animales e insectos. En los humanos tienen su hábitat natural en el tracto gastrointestinal causando así una serie de complicaciones como infecciones del tracto urinario, el torrente sanguíneo, endocarditis, en el abdomen, tracto biliar e infecciones en heridas por quemaduras (Murray B E 1999) (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

Dahlén *et al* (2000) determinaron que los *Enterococcus spp* que normalmente se encuentran en el intestino humano también pueden ser encontrados temporalmente en la cavidad oral (Aguilar T 2004)

Los *enterococos* están en el rango de las tres bacterias que son patógenos nosocomiales y algunos son resistentes a los antibióticos disponibles produciendo dificultades terapéuticas (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Murray B E 1999). El 90% de las infecciones por enterococos en humanos son causadas por el *E faecalis* el resto por el *E faecium* (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Gomes B *et. al* 2004)

Dentro de sus características fenotípicas esta bacteria es un coco Gram positivo que puede encontrarse aislado en pareja o formando cadenas cortas. Tiene una alta capacidad de adaptarse a muchos ambientes diferentes: pH, temperaturas, medios hipertónicos e hipotónicos, por lo cual es un excelente candidato a persistir en las infecciones de origen pulmonar. Son anaerobias facultativas, catalasa negativa, presentan crecimiento en caldo con 6.5% NaCl e hidrolizan esculina en presencia de sales biliares al 40%. La mayoría de los *Enterococcus spp* hidrolizan L-pirrolidonyl- β -naftilamida (PYR) y tienen antígeno del grupo D de Lancefield (Murray B E 1999)

Todas las cepas producen leucino-amino-peptidasa (LAP) Pueden presentar hemólisis de tipo α β y γ en agar sangre siendo esta última la más frecuente. Casi todas las cepas de este microorganismo son homofermentativas no producen gas no contienen enzimas citocrómicas y el ácido láctico es el producto final de la fermentación de la glucosa (Herve E B y Porte T L 2007a) (Díaz Alejandra 2008)

El *E. faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D el cual es un ácido lipoteicoico glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática. La pared celular está constituida por una gran cantidad de peptidoglicanos y ácido teicoico (Murray B E 1999) (Díaz Alejandra 2008)

Una característica importante de *E. faecalis* es su habilidad de crecer en medios con pH ácido y alcalino este último normalmente inhibe el crecimiento y supervivencia de muchos otros microorganismos. Con relación a esto McHugh et al (2004) evaluaron el pH necesario para inhibir su crecimiento y el experimento *in vitro* demostró que se necesita un pH mayor de 11.0 para la erradicación de este microorganismo (Murray B E 1999) (Díaz Alejandra 2008)

Nakajo et al en este mismo sentido evaluaron las propiedades bioquímicas de *E. faecalis* que le confieren la resistencia ácido-alcalina comparándola con la de *Streptococcus mutans*. *E. faecalis* mostró una ácido-resistencia similar a *S. mutans* y una mayor alcalino-resistencia. Estos autores sugieren que la resistencia al pH de *E. faecalis* se puede atribuir a la resistencia de la membrana citoplasmática frente a medios ácidos o alcalinos junto con el sistema de transporte de protones vinculado al ATP (Díaz Alejandra 2008)

2 4 1 METODOS DE DETECCION del *Enterococcus faecalis*

El cultivo es el metodo tradicional de aislamiento de microorganismos en este caso sembrando muestras del conducto radicular tanto para organismos anaerobios estrictos como para facultativos Sin embargo muy poco se sabe acerca de los factores especificos de crecimiento que son utilizados por numerosos microorganismos para sobrevivir en cualquier medio ambiente incluyendo el cuerpo humano por lo que no se puede determinar con exactitud si se replican exactamente las condiciones necesarias para su crecimiento

2 4 1 1 MÉTODO CONVENCIONAL

Las pruebas bioquimicas que permiten el diagnóstico de genero son catalasa (negativa) hemolisis (y) NaCl 6 5% (+) bilis esculina (+) y PYR (+) Para el diagnóstico de especie se aconseja determinar en primer lugar acidificación de arabinosa (ya sea el azucar disuelta en caldo o por medio de tabletas comerciales) y tolerancia al telurto (agar telurto al 0 04% o tableta comercial) La determinacion de movilidad en medio MÍO (mo vilidad indol ornitina) y la presencia de pigmento amarillo observado tomando cultivo con torula de una placa de agar sangre son pruebas complementarias para la diferenciación de especies sin relevancia desde el punto de vista de diseminacion de resistencia (Facklam R Sahm D Teixeira L 1998) (Isenberg H 2004) (Herve E B y Porte T L 2007b)

Las principales ventajas de las técnicas tradicionales de cultivo están relacionadas con su naturaleza de amplio rango lo cual hace posible la identificación de una gran cantidad de especies microbianas en una muestra. Además, el cultivo hace posible la determinación de la sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos aislados, su fisiología y patogenicidad (Díaz Alejandra 2008). Sin embargo, las propuestas de identificación basadas en cultivo presentan numerosas limitaciones:

Toma tiempo identificar algunas cepas de microorganismos anaerobios lo cual puede retrasar el tratamiento antimicrobiano.

Presenta una baja sensibilidad particularmente para aquellas cepas de microorganismos anaerobios.

Su especificidad es baja y depende de la experiencia del microbiólogo.

Presenta dependencia estricta en el modo de transporte de la muestra.

Es laborioso y requiere de tiempo.

A pesar de las condiciones dadas en los métodos de cultivo tradicionales para la detección de la microbiota endodóntica, algunos microorganismos no pueden ser cultivados por numerosas razones entre ellas:

La ausencia de nutrientes esenciales o factores de crecimiento en los medios de cultivo artificiales.

La toxicidad del medio de cultivo per se lo cual puede inhibir el crecimiento de algunos microorganismos.

La producción de sustancias inhibitorias del microorganismo solicitado por parte de otros microorganismos presentes en el medio ambiente mixto

La dependencia metabolica de otras especies para el crecimiento

El reposo bacteriano el cual es un estado de baja actividad metabolica que desarrollan algunas bacterias bajo ciertas condiciones de estres como la falta de nutrientes

Una de las ventajas mas importantes del microscopio es que provee una rapida y poco costosa informacion pero las características morfológicas no son comunmente adecuadas para identificar un microorganismo en cuanto a su especie Además de esto el microscopio tiene una sensibilidad y especificidad limitada para detectar microorganismos en muestras clinicas esto se refiere a que se necesita de un numero relativamente grande de células microbianas para que puedan ser observadas bajo el microscopio (Diaz Alejandra 2008)

Por todo esto numerosos investigadores se vieron en la necesidad de ir mas alla en la busqueda y deteccion de microorganismos presentes en las infecciones endodonticas junto con el avance de la ciencia y la tecnologia la identificación de estos microorganismos a través de metodos moleculares se ha hecho un procedimiento mucho mas certero exacto y especifico donde se han podido detectar ademas de las especies prevalentes hasta el momento nuevas especies que también están involucradas en dichas infecciones endodónticas y que

tienen una participación importante en la persistencia de las lesiones perirradiculares (Díaz Alejandra 2008)

2.5 IMPORTANCIA DEL *Enterococcus spp* COMO AGENTE INFECCIOSO EN LA PATOLOGÍA PULPAR

Los *Enterococos spp* también están implicados en las infecciones endodónticas a pesar de ser una pequeña población en la flora inicial de las pulpas necróticas de dientes no tratados (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

Es posible que miembros de una flora bacteriana atípica se encuentren presentes en bajo número en el canal radicular al inicio del tratamiento endodóntico y que poco a poco vayan predominando hasta el final del tratamiento endodóntico debido principalmente a una inadecuada limpieza quimio-mecánica por errores en el sellado del conducto radicular entre citas o el no utilizar aislamiento absoluto con dique de goma

El *E faecalis* es un microorganismo cuyo papel en la patología pulpar es determinante ya que es considerado un agente resistente a medicamentos intraconductos de uso común. Ha demostrado tener baja susceptibilidad al hidróxido de calcio cuando este se usa como medicación intraconducto ya que se ha observado su predominancia luego del tratamiento con hidróxido de calcio debido a su capacidad de colonizar las irregularidades anatómicas del cemento radicular a nivel apical formando parte de una placa bacteriana en irregularidades superficiales entre fibras colágenas y entre células (Aguilar T 2004) (Caviedes B J Meneses J P 2006) (Ferreira M 2006)

E faecalis se encuentra como parte integrante de la microbiota de dientes con pulpa necrótica sin tratar en proporciones muy bajas por lo que algunos investigadores sugieren que su alta incidencia en casos de repeticiones de tratamiento se debe a entrada de microorganismos durante la terapia endodóntica por una técnica de asepsia inadecuada o entre citas debido a un sellado coronario inadecuado (Hancock H *et. al* 2001)

Distintos autores señalan la presencia de *E faecalis* en las infecciones endodónticas bien sean infecciones primarias o infecciones persistentes (Díaz Alejandra 2008)

2 5 1 DIENTES CON INFECCION PRIMARIA

La infección del conducto radicular es un proceso dinámico y distintas especies microbianas dominan los diferentes estadios del mismo. Los factores más importantes que manejan el desarrollo de este proceso son la disponibilidad de nutrición, los niveles de oxígeno molecular y el pH local. Los nutrientes exógenos como los carbohidratos fermentados pueden afectar la ecología microbiana de la porción coronal del conducto radicular expuesto pero las proteínas y glicoproteínas endógenas son los principales nutrientes dentro del conducto radicular (Díaz, Alejandra 2008)

Las infecciones endodónticas primarias o los dientes no tratados endodónticamente con necrosis pulpar se caracterizan por presentar una microbiota mixta o polimicrobiana compuesta principalmente por microorganismos Gram positivos y Gram negativos con predominio de

bacterias anaerobias. Generalmente se pueden encontrar más de tres especies distintas de microorganismos dentro de un conducto radicular (Hancock H *et al* 2001)

Baumgartner y Falkler cultivaron e identificaron los microorganismos que se encontraban presentes en los 5 mm apicales de los conductos radiculares de dientes con caries coronal y en las lesiones periapicales inflamatorias asociadas a estos. Realizaron cultivos aerobios y anaerobios y concluyeron que hay mayor predominio de microorganismos anaerobios en los últimos 5 mm apicales. La presencia de *E. faecalis* se evidenció en 4 de las 10 muestras (40%)

Siqueira y Rocas analizaron una recopilación de estudios que evalúa la microbiota presente en infecciones endodónticas primarias tomando en cuenta la sintomatología presente. Especies de microorganismos como *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Porphyromonas endodontalis*, *Treponema denticola*, *Dialister pneumosintes*, *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* entre otros fueron los que se encontraron en mayor porcentaje en las infecciones endodónticas primarias (Siqueira, I *et al* 2002) (Siqueira J y Rocas I 2004). Cepas de *E. faecalis* también fueron observadas en dichos estudios. Los porcentajes de prevalencia varían desde 30% aproximadamente en infecciones endodónticas asociadas con lesiones perirradiculares asintomáticas hasta 5% aproximadamente en infecciones endodónticas asociadas con periodontitis apical aguda (Díaz Alejandra 2008)

El análisis de la presencia del microorganismo y su prevalencia en los distintos estadios fue realizado mediante el método PCR en casos de

infecciones endodónticas primarias la detección de *E. faecalis* fue de 33% (7 de 21) de los conductos radiculares asociados con lesiones perirradiculares crónicas asintomáticas en 10% (1 de 10) de los conductos con periodontitis apical aguda y en 5% (1 de 19) de las muestras tomadas de abscesos perirradiculares agudos. Estos resultados demuestran que *E. faecalis* estuvo significativamente más asociado con casos asintomáticos que los sintomáticos. En general *E. faecalis* estuvo presente en 18% (9 de 50) de los casos con infección endodóntica primaria (Díaz Alejandra 2008)

2.5.2 DIENTES CON PERIODONTITIS APICAL RESISTENTE

Para que los microorganismos puedan mantener una periodontitis apical y causar una enfermedad post-tratamiento ellos deben además de sobrevivir dentro de los conductos radiculares ya obturados poseer las propiedades patogénicas necesarias para perpetuar la inflamación externa del conducto radicular. En general los microorganismos involucrados en infecciones persistentes implementan una de las tres estrategias para evadir la respuesta inmune: secuestro, evasión celular o evasión humoral. La secuestro constituye una barrera física entre el microorganismo y el hospedero. La evasión celular significa que los microorganismos evaden los mecanismos antibacterianos dependientes de los leucocitos y la evasión humoral significa que la bacteria extracelular evade los anticuerpos y el sistema de complemento del hospedero (Díaz Alejandra 2008)

Los microorganismos persistentes en los conductos radiculares son aquellos que se encuentran en las pulpas necróticas y sobreviven a los procedimientos biomecánicos los cuales pueden estar ubicados en conductos no localizados o áreas no instrumentadas de los conductos. Así mismo las bacterias provenientes de la cavidad bucal pueden colonizar el interior de los conductos radiculares durante el tratamiento por un inadecuado control aseptico o invadir la obturación de los mismos por filtración coronal luego de la terapia endodóntica. En la mayoría de los casos el fracaso del tratamiento endodóntico es el resultado de la persistencia de microorganismos en la porción apical del sistema de conductos radiculares (Aguilar T 2004)(Díaz Alejandra 2008)

Estudios recientes usando técnicas microbiológicas avanzadas para especies anaerobias han demostrado que la composición microbiana del conducto radicular luego de un fracaso de tratamiento de conducto difiere de aquella encontrada en dientes con necrosis pulpar no tratados. La microbiota encontrada en dientes con tratamiento de conductos previo y periodontitis apical se caracteriza por una monoinfección (presencia de 1 o dos especies) con predominio de microorganismos Gram positivos y mayormente especies anaerobias facultativas (Pinheiro E *et al* 2003) (Díaz Alejandra 2008)

Las influencias ambientales que operan en los conductos radiculares durante el tratamiento permiten que ciertos microorganismos sobrevivan y dependiendo de diversos factores induzcan al fracaso del mismo. Para sobrevivir al tratamiento de conductos los microorganismos deben soportar las medidas de desinfección y adaptarse a un ambiente con pocos nutrientes

disponibles Algunos de los rasgos fisiológicos requeridos por el microorganismo para entrar y establecerse por primera vez son similares a los de los microorganismos que habitan una pulpa necrótica en un conducto no tratado como por ejemplo la habilidad para encontrar nutrientes competir con otros microorganismos y evadir las defensas iniciales del hospedero (Díaz Alejandra 2008) Por lo tanto las pocas especies que tienen esta capacidad pueden estar involucradas en el fracaso del tratamiento de conductos (Pinheiro E *et al* 2003)(Aguilar T 2004)

Molander *et al* (2003) señalan que los microorganismos anaerobios facultativos son menos sensibles a las terapias antimicrobianas que los microorganismos anaerobios estrictos y gracias a esto persisten con mayor frecuencia en el conducto radicular luego de procedimientos endodónticos inadecuados Estos microorganismos pueden sobrevivir en una fase inactiva con una actividad metabólica baja por un periodo determinado de tiempo y factores como la filtración coronal durante o después del tratamiento de conducto pudiesen cambiar las condiciones nutricionales y desencadenar el crecimiento bacteriano (Pinheiro E *et al* 2003) (Díaz Alejandra 2008)

Muchos estudios han revelado el papel del *E faecalis* como agente etiológico en el fracaso de los tratamientos endodónticos Su prevalencia varía entre 29 a un 70% en dientes ya tratados con lesiones periapicales siendo el microorganismo más frecuentemente aislado Evade los procedimientos intracanales antimicrobianos así como también tiene la capacidad de sobrevivir a la privación de los nutrientes en el canal radicular ya sellado Se ha observado que es capaz de invadir los tubulos dentinarios lo que le

permite resistir al tratamiento quimio-mecánico intracanal (Caviedes B J Meneses J P 2006) (Diaz Alejandra 2008)

La habilidad de *E faecalis* de causar enfermedades periapicales y fracasos crónicos en un diente tratado endodónticamente puede deberse a la habilidad de invadir los tubulos dentinarios y mantenerse viable dentro de ellos. Así lo comprueba Love (2001) quien trata de identificar el posible mecanismo que explique como *E faecalis* puede sobrevivir y crecer dentro de los tubulos dentinarios y a la vez reinfectar un conducto radicular obturado. Este autor colocó muestras del microorganismo en un caldo de infusión cerebro corazón que contenía distintas cantidades de suero humano por un periodo de 56 días. La habilidad del microorganismo de penetrar en los tubulos dentinarios y de adherirse al colágeno tipo I presente en la dentina fue evaluado mediante la invasión dentinaria. Este autor señala que los *Enterococos spp* poseen numerosos factores de virulencia que lo ayudan a que pueda ocurrir esto incluyendo la adherencia a las células del hospedero, la expresión de proteínas para asegurar su supervivencia celular como resultado de una fuente de nutrientes alterada, la habilidad de competir con otras células bacterianas y alterar la respuesta del hospedero y el medio ambiente (Diaz Alejandra 2008). Los resultados de este estudio afirman que las células de *E faecalis* se mantienen viables y mantienen su capacidad de invadir tubulos dentinarios y adherirse al colágeno en presencia de suero humano. Este mecanismo puede explicar porque las células de *E faecalis* dentro de los tubulos dentinarios actúan como patógenos en fracasos de dientes tratados endodónticamente (Diaz, Alejandra 2008).

La prevalencia del *E faecalis* en infecciones endodónticas persistentes ha sido demostrada a través de numerosos estudios como se mencionó anteriormente. Algunos de estos estudios utilizan métodos de cultivo tradicionales para su detección, variando los porcentajes de prevalencia desde 30% hasta el 70%.

Es importante destacar el estudio realizado por Peciulene *et al*(2000) donde la muestra seleccionada de dientes con lesiones periapicales persistentes fue tomada una primera vez cuando fue retirado el material de obturación presente en el conducto radicular y una segunda muestra tomada después de la preparación e irrigación con NaOCl y EDTA. Del análisis de la primera muestra de los 20 casos con presencia de microorganismos *E faecalis* estuvo presente en 14 dientes (70%) del análisis de la segunda de los 7 casos con presencia de microorganismos *E faecalis* estuvo presente en 5 dientes (71%). Estos autores señalan que más que el tratamiento químico llevado a cabo en los conductos, son verdaderamente importantes para la presencia y desarrollo de *E faecalis* las condiciones ecológicas presentes en conductos radiculares incompletamente obturados (Díaz Alejandra 2008).

Otros estudios, en lugar de utilizar el método de cultivo tradicional, ponen en funcionamiento técnicas moleculares como PCR para la detección e identificación de *E faecalis*, obteniendo rangos de prevalencia que van desde 12.1% a 77%.

Los primeros estudios realizados por Bender y Seltzer, Engstrom y Frostell, Goldman y Pearson reportaron la prevalencia de *E faecalis* en este tipo de patologías persistentes. Este microorganismo ha demostrado su habilidad

para sobrevivir en el sistema de conductos radiculares solo sin el soporte de otras bacterias (Aguilar T 2004)

Kaufman *et al*(2005) compararon la presencia del *E faecalis* en dientes tratados endodónticamente con lesiones periapicales con aquellos dientes que también requieren de retratamiento pero que no presentaban lesiones perirradiculares Este segundo grupo de dientes iba a ser sometido a la repetición del tratamiento de conductos por presentar sospechas de filtración coronal o debido a la presencia de una restauración extensa donde la calidad del tratamiento anterior fuese cuestionable La muestra consistió en 58 dientes en total donde 22 no presentaban lesiones periapicales y 36 si las presentaban Sus resultados señalan que *E faecalis* fue encontrado en 7 de los 58 casos (12.1%) cinco de ellos fueron encontrados en dientes sin lesiones y dos en dientes con lesión apical (Diaz Alejandra 2008)

Estos autores afirman que cuando ciertos factores inadvertidos son controlados existe un número estadísticamente mayor de dientes sin lesiones perirradiculares que albergan a este microorganismo comparandolo con dientes con lesiones perirradiculares Una explicación a esto podría ser que los dientes sin lesiones perirradiculares pueden estar en el proceso de formación de la misma o estas no son perceptibles radiográficamente

Por el contrario autores como Siqueira y Rocas (2004) realizaron un estudio donde investigaron las especies de microorganismos más frecuentemente aisladas de dientes con fracaso de la terapia endodóntica a través de PCR Ellos encontraron que *E faecalis* fue la especie más prevalente detectada en

el 77% de los casos Las otras especies prevalentes fueron *P. alactolyticus*, *D. pneumosintes* y *F. alocis* (Díaz Alejandra 2008)

Así mismo Rocas et al (2004) realizaron un estudio donde investigaron la prevalencia del *E. faecalis* en infecciones endodónticas y su asociación con las diferentes formas de enfermedades perirradiculares. *E. faecalis* fue detectado en 20 de 30 casos de infecciones endodónticas persistentes asociadas con dientes obturados (67%). Cuando se comparó la frecuencia de esta especie en 30 casos de infección persistente con 50 casos de infecciones primarias los análisis estadísticos mostraron que estaba fuertemente asociado con la infección persistente (Díaz Alejandra 2008)

Se han realizado numerosos estudios basados en la comparación de la prevalencia de *E. faecalis* cuando éste es detectado e identificado por métodos de cultivo tradicionales o por técnicas moleculares como PCR así como también su presencia en infecciones endodónticas primarias o persistentes. *E. faecalis* ha sido mayormente asociado a infecciones endodónticas persistentes siendo mayor el número de detección del microorganismo si se utilizan técnicas moleculares (Díaz Alejandra 2008)

Así lo demuestran Gomes et al (2006) quienes investigaron la presencia del *E. faecalis* en 50 dientes con infección endodóntica primaria y 50 dientes con infección endodóntica persistente mediante el cultivo tradicional y análisis por PCR. Los resultados señalan que *E. faecalis* fue detectado mediante cultivo en 2 (4%) de las 50 muestras de dientes con infección primaria y en 21 (42%) de las 50 muestras de dientes con infección persistente. En las infecciones primarias *E. faecalis* estuvo presente como parte de las especies

polimicrobianas constituyendo un pequeño porcentaje de la microbiota total bacteriana. En las infecciones persistentes en 14 de los 21 casos donde se evidencio su presencia se encontró como única especie microbiana. Los resultados por técnicas moleculares (PCR) señalan la presencia de *E faecalis* en 41 (80%) de las 50 muestras en infecciones primarias y 38 (76%) de las 50 muestras en infecciones persistentes (Díaz Alejandra 2008)

E faecalis fue detectado en 23 de 100 muestras por técnicas de cultivo y en 79 de 100 muestras por PCR mostrando la alta sensibilidad de PCR sobre los cultivos tradicionales. Los autores señalan que una de las razones de la detección tan elevada cuando se utilizó PCR fue la filtración coronal. En este estudio la mayoría de los dientes con necrosis pulpar (49 de 50) presentaban filtración coronal por restauraciones defectuosas, caries o dientes no sellados coronalmente. La microfiltración coronal es una de las vías de penetración del *E faecalis* hacia el espacio pulpar si este está presente en otra región de la cavidad bucal (Díaz, Alejandra 2008)

Otro de los métodos moleculares utilizados para la detección del *E faecalis* es el método PCR cuantitativo en tiempo real. Williams et al y Sedgley et al (2006) utilizaron este método y lo compararon con el cultivo tradicional concluyendo que es una prueba con mayor sensibilidad al microorganismo que las técnicas tradicionales (Díaz, Alejandra 2008)

Los resultados de ambos grupos de investigadores señalan prevalencia de *E faecalis* de 10% por cultivo y de 55-80% por PCR cuantitativo en tiempo real. Así mismo corroboran la mayor incidencia de este microorganismo en

dientes con infecciones endodónticas persistentes comparados con dientes con infecciones endodónticas primarias (Díaz Alejandra 2008)

Es importante destacar la investigación de Gomes *et. al* (2006) donde además de evaluar la presencia de *E faecalis* en infecciones endodónticas primarias y persistentes se asocia al microorganismo con signos y síntomas específicos de estas infecciones. Las muestras fueron tomadas de 60 conductos radiculares: 41 con necrosis pulpar (infecciones primarias) y 19 con fracasos endodónticos (infecciones persistentes). Los resultados señalan que *E faecalis* se evidenció en 2 dientes con infección primaria y en 6 dientes con infecciones persistentes (Díaz, Alejandra 2008)

2.6 FACTORES DE VIRULENCIA DEL *E faecalis*

Desde el punto de vista odontológico *E faecalis* ha comenzado a tomar importancia en la literatura endodóntica debido a que esta bacteria es difícil de controlar con los medicamentos que actualmente se utilizan dentro del conducto. La instrumentación mecánica sola o en combinación con agentes de irrigación antimicrobianos ha mostrado ser insuficiente para la completa eliminación de microorganismos.

En la búsqueda del mecanismo de resistencia de *Enterococcus spp* a la terapia endodóntica no quirúrgica se han llevado a cabo diversos estudios los cuales han tratado de comprobar diferentes hipótesis en cuanto a los factores de virulencia del microorganismo.

Un importante estudio realizado en el año 2001 por Love permitió comprobar que la virulencia de este microorganismo se relaciona con su capacidad para invadir los tubulos dentinarios y permanecer viable dentro de los mismos adhiriéndose al colageno tipo I presente en el suero humano (Aguilar T 2004) Fue comprobado igualmente por estos autores que para microorganismos como *S gordonii* y *S mutans* el suero humano actua inhibiendo su capacidad de invadir la dentina no así sobre *E faecalis* donde se mantuvo la invasion aun cuando fue reducida escasamente

El *E faecalis* es un excelente invasor y persiste debido a sus multiples características

Puede crecer a temperaturas de 10 a 45°C

Resiste pH de 9.6 a 11

Crece en 6.5% de NaCl

Sobrevive a 60°C por 30 minutos

Es menos sensible a dosis letales de dodecil sulfato de sodio sales biliares calor etanol hiperosmolandad peroxido de hidrogeno acidez y alcalinidad

El *E faecalis* puede entrar en un estado de viabilidad pero no cultivable (VBNC viable but non- cultivable) que es un estado en el que se adaptan un grupo de bacterias expuestas a ambientes estresantes y resucitan cuando se dan las condiciones favorables (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004) Esto la hace superior a otras bacterias y explica su supervivencia dentro de los canales radiculares

donde los nutrientes son escasos y no pueden escaparse de los medicamentos intraconductos

Estudios *in vitro* demuestran que el *E faecalis* invade tubulos dentinarios habilidad que ni tienen todas las bacterias (Akpata y Blechman 1982 Haapasalo and Ørstavik 1987 Ørstavik and Haapasalo 1990 Love 2001)

Vive dentro sin el soporte de otras bacterias

Es resistente al CaOH₂ quizás debido al mecanismo de una bomba de protones que mantiene un nivel de pH citoplasmático óptimo (Byström *et al* 1985 Haapasalo and Ørstavik 1987 Ørstavik and Haapasalo 1990 Distel *et al* 2002) (Evans *et al* 2002) (Suchitra U Kundabala M 2005) Evans *et al* (2002) estudiaron los mecanismos involucrados en la resistencia de *E faecalis* al hidróxido de calcio y confirmó la supervivencia del microorganismo a dicho medicamento a un pH de 11.1 ya que la bomba de protones tiene la capacidad de acidificar el citoplasma fue un factor crítico en la supervivencia de esta bacteria en altos niveles de pH Así mismo se concluyó que el hipoclorito de sodio (NaOCl) es efectivo para la eliminación del microorganismo según los hallazgos de estos investigadores (Aguilar T 2004)

El *E faecalis* es resistente a una gran variedad de antibióticos ya sea intrínsecamente o por vía adquirida

Esto puede cambiar la flora a favor del *E faecalis*

Para que los enterococos puedan actuar como patógenos primero deben adherirse a los tejidos del hospedero estos pueden hacerlo a través de

ligandos adhesivos específicos a la matriz extracelular de los mismos. Durante el proceso de invasión a los tejidos, los enterococos deben encontrarse en un medio ambiente con potenciales de oxidación-reducción elevados, nutrientes esenciales limitados, leucocitos fagocíticos y otras defensas del hospedero. Todos estos factores ayudan a que se expresen genes que favorecen el crecimiento del microorganismo (Díaz Alejandra 2008).

Así, el *E. faecalis* posee un gran número de factores de virulencia que le permiten la colonización del hospedero y de la matriz extracelular, la competencia con otras bacterias, resistencia en contra de los mecanismos de defensa del hospedero y la producción de cambios patológicos directamente a través de la producción de enzimas tóxicas o indirectamente a través de la inducción de inflamación (Díaz, Alejandra 2008).

2.6.1 SUSTANCIA DE AGREGACIÓN (AS)

Es una adhesina bacteriana codificada por un plásmido que responde a feromonas que media el contacto eficiente entre un donador y un receptor bacteriano, facilitando el intercambio de plásmidos. Se requiere que el donador exprese la sustancia de agregación y que la bacteria receptora exprese una sustancia de unión (BS) en la superficie para que se dé el proceso de la conjugación. En este sentido, tanto el material genético como la resistencia antibiótica pueden ser transferidos de las cepas de *E. faecalis* a otras especies (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004) (Díaz Alejandra 2008). La

AS es una estructura parecida a un pelo en la superficie de la bacteria incorporada a la pared celular y su expresión puede ser inducida por suero

La sustancia de agregación puede servir como determinante de virulencia a *E faecalis* en al menos cuatro formas

Juega un papel importante en la diseminación de los factores de virulencia codificados por plásmidos a través de la conjugación como la citolisina enterocócica y determinadas resistencias antibióticas entre las especies (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz, Alejandra 2008)

Esta sustancia de agregación facilita la adherencia del *E faecalis* a las células epiteliales renales e intestinales y a la colonización de estas superficies (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004) (Díaz Alejandra 2008)

Media la unión a proteínas de la matriz extracelular incluyendo el colágeno tipo I componente orgánico principal de la dentina Su asa 373 tiene similitud con la secuencia de aminoácidos de polipéptidos antígenos I/II de estreptococos orales implicados en el reconocimiento del colágeno asociado en la habilidad de invadir los tubos dentinarios (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Suchitra U Kundabala M 2005)

Juega un papel en la endocarditis por lo que los tejidos dentinales tienen las mismas proteínas El papel de la sustancia de agregación en endocarditis puede tener relevancia en las infecciones endodónticas (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004)

Protege al microorganismo contra los leucocitos polimorfonucleares y de la lisis mediada por macrófagos. El mecanismo para esta protección puede deberse a una modificación de la maduración fagosomal (Díaz Alejandra 2008)

Resistencia a la lisis por parte de los neutrófilos a través de un mecanismo de unión a opsoninas vía complemento (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz Alejandra 2008)

La sustancia de agregación y las citolisinas tienen acciones sinérgicas lo cual aumenta la virulencia. Esto resulta en daño tisular e invasión tisular profunda. Actividad de superantígeno aumentando la estimulación de los linfocitos T produciendo una liberación masiva de citocinas resultando en daño a los tejidos. Producción de TNF β y γ implicados en resorción ósea e IFN incrementa la producción de peróxido de hidrógeno y anión superóxido y óxido nítrico (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004) (Díaz Alejandra 2008)

2.6.2 ADHESINAS O PROTEÍNAS DE SUPERFICIE

El *E. faecalis* presenta en su pared celular numerosas proteínas de superficie cada una cumpliendo una función específica. Las más importantes son la proteína de superficie Esp y la Ace, ambas relacionadas con la formación de biopelículas y con la adherencia del microorganismo a las proteínas de la matriz extracelular y al colágeno tipo I y IV (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz, Alejandra 2008)

Hubble et al en 2003 analizaron la hipótesis de la participación de las proteasas (Spr) de *E faecalis* y de la proteína vinculada al colágeno (Ace) en la adhesión a la dentina por parte de este microorganismo como mecanismo de resistencia al tratamiento de conductos (Aguilar T 2004)

2 6 2 1 PROTEÍNA DE SUPERFICIE ESP

Es una proteína superficial larga de 1873 aminoácidos sin ningún parecido estructural a las otras proteínas de superficie reconocidas

Fue en 1999 cuando Shankar *et al* reportaron la identificación de esta proteína asociada a la pared celular del *E faecalis*. Su nombre *Esp* se deriva de sus siglas en inglés Enterococcal surface protein. Estos autores sugieren que la presencia de la *Esp* pudiera ser la responsable del aumento de la capacidad hidrofóbica y así facilitar las interacciones de este tipo entre moléculas (Díaz, Alejandra 2008)

La proteína *Esp* tiene similitud con la *Bap* (Biofilm associated protein) del *S aureus* pieza fundamental en la formación de biopelículas. Así además de estar asociada en la formación de las biopelículas juega un papel importante en la vinculación de los ligandos con la matriz extracelular o tener una influencia indirecta en la modulación de esta actividad en otras moléculas (Díaz Alejandra 2008)

2 6 2 2 PROTEÍNA DE SUPERFICIE ACE

Es una proteína vinculada al colágeno es una molécula adherida a la matriz extracelular reconocida como un componente microbiano superficial la cual media la adherencia a las proteínas de la matriz extracelular al colágeno tipo I y IV y a la Laminina evidenciado por Nallapareddy *et al* en el 2000 (Hubble *et al* 2003) (Díaz, Alejandra 2008)

2 6 3 FEROMONAS SEXUALES

Las feromonas sexuales son péptidos hidrofóbicos pequeños codificados cromosomalmente a lo largo de 7 u 8 aminoácidos los cuales promueven la transferencia conjugativa de plásmidos de ADN entre las cepas Se describen como feromonas porque ellas obtienen una respuesta específica de unión de las células donadoras transportadoras de plásmidos (Díaz Alejandra 2008) (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004)

Normalmente son secretadas simultáneamente múltiples feromonas por una cepa de *E. faecalis* Adicionalmente a las feromonas cada plásmido receptor de feromonas codifica un péptido secretado que actúa como inhibidor competitivo de su feromona correspondiente (Díaz Alejandra 2008)

Las feromonas sexuales del *E. faecalis* son agentes quimiotácticos de los neutrófilos humanos e induce la producción del superóxido y secreción de enzimas lisosomales Contribuyen a la reabsorción ósea además que activa el sistema de complemento que contribuye a la misma característica de las lesiones periapicales (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

2 6 4 ACIDO LIPOTEICOICO (ALT)

Los acidos lipoteicoicos (ALT) son un grupo de moléculas o polímeros anfipáticos íntimamente relacionados y asociados con la pared celular de bacterias Gram + que están constituidos por una columna central de poliglicerolfosfato unida covalentemente a una porción glicolípídica hidrofóbica (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Diaz Alejandra 2008)

A través de la fracción lipídica la molécula de ALT se une a varias células eucariotas incluyendo plaquetas eritrocitos linfocitos leucocitos polimorfonucleares y células epiteliales (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

La apoptosis es un mecanismo fisiológico de muerte celular y se ha comprobado que el ALT del enterococos produce apoptosis en líneas celulares como los osteoblastos osteoclastos fibroblastos del ligamento periodontal macrófagos y neutrófilos (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

Se ha reportado que los ALT aislados de cepas de *E faecalis* o de otras bacterias Gram positivas pueden estimular a los leucocitos a liberar numerosos mediadores los cuales juegan un papel importante en varias fases de la respuesta inflamatoria. Entre ellos se incluyen la liberación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) la interleucina 1 beta (IL 1 β) la interleucina 6 (IL-6) la interleucina 8 (IL-8) la prostaglandina E2 (PGE2) y la liberación de enzimas lisosomales (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Diaz Alejandra 2008)

También está implicado en el aumento de la permeabilidad vascular relacionado a inflamación aguda así como también en la producción de VEGF (factor de crecimiento vascular) que permite la angiogénesis permeabilidad vascular y edema en macrófagos y células pulpares relacionado a la inflamación crónica (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

Finalmente los ácidos lipoteicoicos son considerados moléculas que ayudan a la virulencia de *E. faecalis* a través de la facilitación de formación agregada y la transferencia de plásmidos (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz Alejandra 2008)

2.6.5 SUPERÓXIDO EXTRACELULAR

Los aniones superóxidos son radicales de oxígeno altamente reactivos relacionados con el daño tisular y celular en una gran variedad de trastornos incluyendo las enfermedades inflamatorias (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz, Alejandra 2008) Producen su efecto destructivo en una variedad de compuestos biológicos como los lípidos proteínas y ácidos nucleicos. Es producido por neutrófilos células fagocíticas y osteoclastos para eliminar los microorganismos sin embargo produce daño a los tejidos en el sitio de la inflamación (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

E. faecalis produce superóxido extracelular sustancial y especies derivadas del oxígeno reactivo como el peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos. Produce daño sobre el ADN de las células eucariotas promoviendo la inestabilidad cromosomal. También se ha correlacionado su producción con

la supervivencia del *E faecalis* en infecciones mixtas y su relacion con endocarditis bacteriana (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Diaz Alejandra 2008)

2 6 6 GELATINASAS

La gelatinasa A MMP-2 y la gelatinasa B MMP 9 son elevadas Es una proteina de la familia de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) producida por celulas inflamatorias celulas epiteliales fibroblastos osteoclastos Juegan un rol importante en el remodelado de los tejidos a traves de la degradacion de la matriz extracelular Sin embargo una actividad anormal esta implicada en la invasion de celulas cancerosas periodontitis y artritis (Hubble T etal 2003) (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) En lesiones periapicales y pulpas inflamadas y tienen un efecto en la degradación de la matriz organica de dentina y resorcion osea (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Suchitra U Kundabal M 2005)

E faecalis produce una gelatinasa extracelular que contiene zinc y fue descrita por primera vez en 1964 Puede hidrolizar gelatina colageno fibrinogeno caseina hemoglobina inulina algunos peptidos relacionados con las feromonas sexuales y otros péptidos bioactivos Su papel esta relacionado como una fuente importante de nutrientes para el crecimiento bacteriano dentro del conducto radicular (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Diaz Alejandra 2008)

2 6 7 HIALURONIDASA

La hialuronidasa es un término general usado para describir enzimas que son capaces de descomponer el sustrato hialuronidato (ácido hialurónico o hialuronano). La hialuronidasa actúa como un ácido hialurónico y es principalmente una enzima degradativa que está asociada con daño tisular como consecuencia de su función. Abastece de nutrientes a los microorganismos debido a que los productos de degradación de los sustratos son los disacáridos los cuales pueden ser transportados y metabolizados intracelularmente por las bacterias (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Suchitra U Kundabala M 2005) (Diaz, Alejandra 2008)

La hialuronidasa es considerada como facilitador de la proliferación bacteriana así como de sus toxinas a través de los tejidos del hospedero. Además de su propio efecto dañino también es capaz de permitir los efectos deletéreos de otras toxinas bacterianas incrementando así la magnitud del daño (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Diaz Alejandra 2008)

Existen estreptococos que pueden cultivarse sólo con ácido hialurónico. Su producción por el *E faecalis* en dentina cariada juega un papel en la destrucción de tejido durante el proceso de la caries así como de su invasión a áreas más profundas como las periapicales (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

2 6 8 CITOLISINA

La hemolisina una enzima toxica codificada por plásmidos es producida por las cepas α -hemolíticas de *E. faecalis* Es capaz de destruir eritrocitos neutrófilos polimorfonucleares y macrófagos matar células bacterianas y reducir el acto de la fagocitosis (Kayaoglu G y Orstavik D 2004) (Díaz Alejandra 2008)

Posee actividad organotoxica la cual destruye completamente el órgano a pesar de que los otros aspectos importantes de la infección esten satisfactoriamente controlados (Suchitra U Kundabal M 2005)

Los blancos de la citolisina son los eritocitos polimorfonucleares y macrófagos además de una gran variedad de G⁺ y no así G⁻ Lo cual ha hipotetizado que el efecto de la citolisina favorecería la colonización de G⁻ produciendo un cambio en la flora bacteriana (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

Se ha asociado la influencia del ambiente en la expresión de los genes de citolisina sobre todo del mecanismo quórum sensing para su expresión Las condiciones anaerobicas aumentan su producción (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

El 60% de los aislados de *E. faecalis* son hemolíticos comparado con 17% que no Los diferentes estudios microbiologicos indican que solo un porcentaje pequeño poseen estos genes (Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

2 6 9 AS-48

Es un péptido antibiótico codificado por plásmido originalmente aislado del *E faecalis* s-48. Tiene actividad lítica hacia una gran cantidad de bacterias G⁺ y G⁻. El mecanismo de acción es a través de la electroporación molecular debido a su alta carga positiva y a través de la inducción de la permeabilidad iónica que acompaña al colapso del potencial de la membrana citoplasmática. Las bacteriocinas encontradas están estrechamente relacionadas a este péptido (Kayaoglu G y Orstavik, D 2004) (Suchitra U Kundabala M 2005)

2 6 10 OTRAS BACTERIOCINAS

Tienen una acción inhibitoria contra bacterias G⁺. Entre ellas tenemos

Bc-48

enterocin 226NWC

enterocin 4

enterococcin EFS2

bacterocin 31

bacterocin 2

enterocin EJ97

enterocin 1071A

enterocin 1071B

enterocin SE K4

(Kayaoglu G y Orstavik D 2004)

2 6 11 BIOPELICULA

Otro de los factores de virulencia sugeridos por algunos autores en relacion al *E faecalis* esta relacionado con la formacion de biopeliculas

En los ultimos años el estudio de las bacterias ha llevado a la investigación de las interrelaciones presentes en las comunidades bacterianas denominadas biopeliculas

Su importancia cada dia más relevante radica en que los microorganismos participantes de estas comunidades se convierten en agentes inmunes a la terapia antimicrobiana utilizada durante los tratamientos de endodoncia Su patogenicidad es directamente proporcional a su adaptación al medio ambiente donde este se desarrolla por lo cual no solo sobrevive a la terapia antimicrobiana sino que además invade y se adapta resistiendo inclusive a la instrumentacion mecanica en el tratamiento de Endodoncia (Azuelo M 2009) (Svensater G y Bergenholtz G 2004)

Por lo que a infecciones endodonticas concierne el concepto de biopelicula ha ganado una atencion ilimitada Se ha discutido principalmente dentro del marco de la aparicion de bacterias en las extremidades de las raíces de dientes con pulpas no vitales Se ha pensado que tales agregaciones bacterianas son la causa de las periodontitis apicales resistentes a tratamientos Aunque no han sido descritas con gran detalle condensaciones bacterianas en las paredes de conductos radiculares infectados han sido observadas sugiriendo que el mecanismo para la formación de biopeliculas también existe en los espacios de los conductos radiculares En un estudio

publicado por Nair *et al* (2005) comprobaron a través del microscopio electrónico de barrido la colonización del microorganismo en 46 dientes medicados con hidróxido de calcio y del mismo modo fue evidenciada la presencia de biopelículas bacterianas en la pared de los conductos radiculares medicados con hidróxido de calcio (Svensate G y Bergenholtz G 2004) (Nair *et al* 2005)

De hecho las biopelículas han sido producidas experimentalmente en conductos radiculares de dientes extraídos con mezclas de cultivos de bacterias anaerobias o cultivos puros de *Enterococcus faecalis*. Sin importar si están presentes en la superficie externa de la raíz o dentro de los conductos radiculares es probable que las agregaciones de microorganismos en biopelículas tengan implicaciones clínicas distintivas especialmente desde el punto de vista terapéutico (Svensate G y Bergenholtz G 2004)

Enterococcus faecalis es una bacteria que se organiza fácilmente en una biopelícula. Por lo que el pronóstico de un tratamiento se ve disminuido debido a esta capacidad ya que estos microorganismos desarrollan propiedades diferentes convirtiéndose en tipos más virulentos aumentando su capacidad de resistencia ante agentes antimicrobianos (Azuero M 2009) (Svensater G y Bergenholtz, G 2004)

Se habla también de la importancia de la proteína de unión a colágeno y de la proteasa serica estudiada por Hubble *et al* 2003 que permite la unión del *E faecalis* a la dentina de las paredes internas del conducto en la formación de la biopelícula. Además de los mecanismos de quorum sensing o comunicación bacteriana durante el proceso de maduración de la biopelícula

en la que llaman a colonizadores tardíos produciendo así una estructura arquitectónica compleja de la biopelícula. Esta formación estructural puede ser un mecanismo que permite a este microorganismo resistencia al tratamiento (Hubble 2003)(Svensater G y Bergenholtz G 2004)

Un factor importante a considerar en las infecciones endodónticas y la formación de la biopelícula es el tiempo en lo que la cronicidad de una infección la favorezca. Por lo tanto el control microbiológico se debe realizar lo más rápido posible para evitar en lo posible su organización en biopelículas.

Según el centro de investigación de biopelículas de la Universidad de Ingeniería de Montana el tiempo para la formación de la biopelícula es de aproximadamente 13 horas y su unión se vuelve más irreversible cuando pasan días y meses por lo que dificulta su erradicación al ser más resistentes (Azüero M 2009)

Estos cambios pueden ser diferentes como modificaciones fisiológicas formación de biopelículas respuesta al stress creación de subpoblaciones celulares intercambio de material genético invasión y colonización (Azüero M 2009)

Un simple cambio en el ambiente ecológico como el aumento del pH como en el uso del Hidróxido de Calcio o de agentes antimicrobianos favorecen la activación de la expresión genética a favor de la supervivencia bacteriana.

Lima et al 2001 evaluaron in vitro la sensibilidad de biopelículas de *Enterococcus faecalis* a ciertas medicaciones antimicrobianas tales como clorhexidina (CHX) 2% clindamicina y metronidazol. Se concluyó en esta

investigación que la combinación de metronidazol con clindamicina reduce significativamente las biopelículas formadas de un día mientras la clorhexidina fue el único medicamento capaz de eliminar las biopelículas de 1 a 3 días de formación (Lima K et al 2001) (Inza M G 2004)

Así los microorganismos dentro de una biopelícula desarrollan cuatro mecanismos que son

Una capa protectora de polisacárido pegajosa que le confiere una barrera protectora impidiendo que los irrigantes antimicrobianos penetren y actúen sobre las bacterias

Fase de crecimiento estacionario que les permite crecer y adaptarse lentamente

Heterogeneidad metabólica que les permite organizarse en estructuras con diferentes tipos de metabolismos intracelulares

Diversidad fenotípica de las subpoblaciones bacterianas mucho más resistentes

La aplicación clínica de conocer estas propiedades es que la terapia endodóntica cambia radicalmente al comprender el comportamiento de las bacterias (Azüero M 2009)

Las mismas organizadas en una biopelícula resultarán en una mayor dificultad de erradicación a diferencia de las que no se encuentran organizadas. Así el tratamiento de conductos tendrá mayor éxito si todavía no se han organizado en biopelículas. Resulta controversial si el tratamiento debe ser realizado en una o en múltiples citas (Azüero M 2009)

El microorganismo mas resistente y presente en los fracasos endodónticos es el *Enterococcus faecalis* y cuando no se ha organizado en biopelículas es fácil de erradicar sin embargo una vez formada presenta una gran capacidad de adaptabilidad lo que lo convierte en un agente persistente y difícil de erradicar (Azuero M 2009)

2.7 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DEL *Enterococcus spp*

Este genero bacteriano es intrinsecamente resistente a varios grupos de agentes antimicrobianos (cefalosporinas aminoglucosidos excepto a altas concentraciones clindamicina cotrimoxazol vancomicina bajo nivel en algunas especies) y tiene la capacidad de adquirir genes de resistencia (ampicilina cloranfenicol entromicina tetraciclinas quinolonas glicopeptidos nitrofurantoina y aminoglucosidos -alto nivel) Las especies de mayor relevancia clinica son *E faecalis* y *E faecium* constituyendo entre ambos aproximadamente el 90% de los aislados en el laboratorio clinico *Enterococcus faecalis* es responsable de la mayoria de las infecciones en humanos no obstante el *E faecium* presenta resistencia a antimicrobianos con mayor frecuencia Ademas existen otras especies que presentan resistencia intrinseca a vancomicina pero rara vez son clinicamente significativas (*E gallinarum* y *E casseliflavus*) Por esto resulta fundamental realizar una adecuada identificacion de especie (Herve E B y Porte T L 2007) (Suchitra U Kundabala M 2005)

Se puede utilizar el método de difusión por disco (Kirby Bauer) o determinación de CIM (E-test, microdilución o métodos automatizados) En cepas aisladas de muestras invasoras se deben probar también gentamicina y estreptomina de alto nivel y determinar presencia de beta lactamasa En caso de cepas resistentes a vancomicina se recomienda hacer pruebas de susceptibilidad con linezolid teicoplanina cloranfenicol tetraciclina eritromicina y rifampicina Es importante considerar que frente a cepas con resistencia intermedia a vancomicina el método de difusión por disco no es 100% sensible por lo que se recomienda utilizar agar screening de vancomicina y luego confirmar por un método de CIM (Porte et al 2007b) Para difusión en disco se utiliza la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 para CIM *E faecalis* ATCC 29212 Para control de agar screening de vancomicina se requieren cepas de *E faecalis* ATCC 29212 y 51299 (sensible y resistente respectivamente) *Enterococcus spp* revela una alta resistencia a las cefalosporinas y a la penicilina raramente se encuentra en infecciones primarias y tiende a ser un invasor oportunista que posee la capacidad de sobrevivir en conductos radiculares que no han sido obturados completamente aun en condiciones nutritivas muy limitadas

Una de las primeras investigaciones bacteriológicas en esta área tras la introducción de las técnicas de anaerobiosis fue llevada a cabo por Haapasalo et al en 1983 en la cual fueron evaluados dos casos de infecciones periapicales persistentes Ninguno había respondido a la terapia endodóntica incluyendo antibioterapia (Figueredo 2004)

Enterococcus spp presenta una resistencia innata a la mayoría de los antibióticos mostrando apenas una mínima sensibilidad a algunas de las sustancias mayormente activas

2.8 IMPORTANCIA DE LA IRRIGACIÓN EN LA TERAPIA ENDODÓNTICA

Uno de los objetivos biológicos de la terapia endodóntica es la eliminación de los microorganismos del conducto radicular. Debido a la anatomía compleja del mismo una desinfección efectiva sólo se logra con una adecuada preparación biomecánica junto con la acción de los irrigantes antimicrobianos (Medina K. 2001)(Díaz, Alejandra 2008)

Como se ha mencionado anteriormente el *E faecalis* ha sido asociado a las lesiones periapicales persistentes y gracias a sus características fenotípicas y a la presencia de determinados factores de virulencia este microorganismo es capaz de sobrevivir en medios con pocos o escasos nutrientes así como de invadir espacios o aberraciones anatómicas donde acciones como la preparación biomecánica la colocación de medicación intraconducto o la utilización de irrigantes no son capaces de actuar y eliminarlo (Ferrari P H P Cai S Bombana A C 2005) (Díaz Alejandra 2008)

En la búsqueda de alternativas de tratamiento para la eliminación efectiva de *E faecalis* ha sido evaluada la acción de diversas soluciones antisépticas medicaciones e inclusive materiales de obturación sobre el microorganismo. Del mismo modo ha sido evidenciada la influencia significativa del factor tiempo en la efectividad de estos agentes antimicrobianos sobre *E faecalis*

así como este dependerá del tipo de agente irrigante y la concentración del mismo (Ferrari P H P Cai S Bombana A.C 2005)

La irrigación del sistema de conductos juega un rol importante en la limpieza y desinfección del mismo y es una parte integral del procedimiento de preparación del conducto (Ferrari P H P Cai S Bombana A C 2005)

La solución irrigadora tiene como efecto principal actuar como lubricante y agente de limpieza durante la preparación biomecánica removiendo microorganismos productos asociados de degeneración tisular y restos orgánicos e inorgánicos lo que impide la acumulación de los mismos en el tercio apical garantizando la eliminación de dentina contaminada y la permeabilidad del conducto desde el orificio coronario hasta el agujero apical Ya que es conocido que la acción mecánica de los instrumentos no son capaces de promover una limpieza completa debido a la compleja anatomía interna de los conductos en la cual los instrumentos no logran alcanzar es necesaria la acción química de los irrigadores endodónticos (Sassone L et al 2003) (Ferrari P H P Cai S Bombana A C 2005)

Durante la preparación biomecánica luego de instrumentar las paredes del conducto se forma la capa de desecho que está compuesta de depósitos de partículas orgánicas e inorgánicas de tejido calcificado aunado a diversos elementos orgánicos como tejido pulpar desbrindado procesos odontoblasticos microorganismos y células sanguíneas compactadas al interior de los tubulos dentinarios Esa capa de desecho puede llegar a obturar parte del conducto y ser a su vez una fuente de reinfección del conducto radicular (Ferrari P H P Cai S Bombana A C 2005)

Existe controversia de opiniones en cuanto a la conveniencia de la presencia o ausencia de la capa de desecho en las paredes del sistema de conductos radiculares algunos autores apoyan su presencia debido a que actua como una barrera impidiendo la penetracion de bacterias en los tubulos dentinarios Otros refieren que su remocion reduce la microflora e incrementa la permeabilidad dentinana por lo tanto mejora la penetracion de medicamentos desinfectantes y matenales de obturacion (Ferrari P H P Cai S Bombana A C 2005)

De acuerdo a la mayoria de los autores esta capa debe ser retirada mediante las sustancias irrigadoras La irrigación del conducto radicular tiene una funcion fisica quimica y biologica

2 8 1 OBJETIVOS DE LA IRRIGACIÓN DEL SISTEMA DE CONDUCTOS

1 Arrastre retirando los restos de dentina para evitar el taponamiento del conducto radicular Disolución de agentes organicos e inorgánicos del conducto radicular incluyendo la capa de desecho que se produce en la superficie de la dentina por la accion de los instrumentos y se compacta al interior de los tubulos dentinarios

3 Accion antiseptica o desinfectante

4 Lubricante sirviendo de medio de lubricacion para la instrumentacion del conducto radicular

5 Accion blanqueante debido a la presencia de oxigeno naciente

Es importante también mencionar las propiedades que debe tener una solución irrigadora ideal

- a Ser bactericida o bacteriostático debe actuar contra hongos y esporas
- b Baja toxicidad no debe ser agresivo para los tejidos periradiculares
- c Solvente de tejidos o residuos orgánicos e inorgánicos
- d Baja tensión superficial
- e Otros factores aplicación simple tiempo de vida adecuado fácil almacenaje costo moderado acción rápida y sostenida

A pesar que los irrigantes pueden penetrar dentro de los tubos dentinarios no significa que la concentración de dichos irrigantes sea suficiente para eliminar todo tipo de microorganismo presente y que la preparación biomecánica por sí sola no es capaz de erradicar al 100% la microbiota existente (Díaz Alejandra 2008)

2.8.2 AGENTES DE IRRIGACION UTILIZADOS EN ENDODONCIA

Se han utilizado diversas sustancias para la irrigación del sistema de conducto radicular como son

Soluciones químicamente inactivas Solución salina agua soluciones anestésicas

Soluciones químicamente activas

Enzimas estreptoquinasa estreptodornasa papaina enzymol y tripsina

Ácidos Ácido fosfórico al 50% ácido sulfúrico al 40% ácido cítrico de 6 a 50% ácido láctico al 50% ácido clorhídrico al 30%

Álcalis Hidróxido de sodio hidróxido de potasio hidróxido de calcio en agua (agua de cal) urea hipoclorito de sodio de 0.5% a 5.25%

Agentes quelantes. sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético del 10 al 15% (EDTA) sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con peróxido de urea (RC-Prep) sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con Cetavlon o bromuro de cetil-trimetilamonio (EDTAC) acetato de bisdequalinium (Salvizol)

Agentes oxidantes peróxido de hidrógeno al 3% y peróxido de urea (Gly Oxide)

Agentes antimicrobianos clorhexidina del 0.2 al 2%

Detergentes lauril sulfato sódico (tergentol)

También se han utilizado otras soluciones como Cloramina T al 5% Yodopax al 0.4% Biosept al 0.1% e Hibitane al 0.1%

Ningún irrigante solo ha demostrado ser capaz de disolver material pulpar orgánico predeentina y desmineralizar la porción calcificada orgánica de las paredes del conducto

De todos estos diversos agentes mencionados ninguno ha sido tan eficaz como la solución de hipoclorito de sodio al 5.25%

2 8 2 1 HIPOCLORITO DE SODIO DE 0 5 6% (NaOCl)

El Hipoclorito de sodio (NaOCl) sugenda por Walker en 1936 el cual describe su doble accion de disolucion de los tejidos necroticos atribuidos a su alto pH y su acción antibacteriana relacionado a la formacion de acido de hipoclorito y a los iones de cloramina los cuales producen oxidacion de las enzimas bacterianas conduciendo a la desorganizacion de su metabolismo (Spano J et al 2001) (Sassone L et al 2003)

El NaOCl ha sido utilizado como el irrigante de elección para la limpieza del conducto radicular desde hace varias decadas y en varias concentraciones al 0 5% 1% 2% y 5 25% Las principales ventajas que ha demostrado tener el NaOCl son su habilidad de disolucion de tejidos orgánicos y su propiedad antibacteriana contra la mayoría de los microorganismos (D arcangelo C Varvara G Des Fazio P 1999) (Jaquez, E y Marcano M 2001) (Medina K 2001) (Spano J et al 2001) (Diaz, Alejandra 2008)

Se considera la solucion irrigadora más utilizada en la practica actual por ser la que mas se acerca a las condiciones ideales por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital y ademas de poseer un amplio efecto antibacteriano matando rápidamente bacterias esporas hongos y virus (incluyendo el VIH rotavirus HSV 1 y el virus de la hepatitis A y B) tiene un pH alcalino entre 10 7 y 12 2 es excelente lubricante y blanqueador posee una tension superficial baja, posee una vida media de almacenamiento prolongada y es poco costoso Sin embargo el hipoclorito de sodio resulta un agente irritante para el tejido periapical el sabor es inaceptable por los

pacientes y por sí solo no remueve la capa de desecho ya que solo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina (Jaquez E y Marcano M 2001) (Medina K 2001) (Spangberg L 2004)

Siqueira Junior JF et al en 1998 compararon los efectos antibacterianos producidos por la irrigación con hipoclorito de sodio al 1% 2.5% y 5.25%. Ellos concluyeron que los cambios regulares y el uso de grandes cantidades del irrigante deben mantener la efectividad antibacteriana del NaOCl compensando los efectos de concentración (Siqueira M et al 1998)

En otro de sus estudios evaluaron in vitro la efectividad del NaOCl al 4% usando tres métodos de irrigación en la eliminación del *E. faecalis* del conducto radicular. Los tres métodos fueron los siguientes: a) irrigación con 2ml de NaOCl y agitación con limas manuales; b) irrigación con 2ml de NaOCl y agitación ultrasonica; c) irrigación con NaOCl alternado con peróxido de hidrógeno y el grupo control fue irrigado con solución salina. Sus resultados señalan que no hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales; sin embargo, estos autores afirman que el NaOCl utilizado en cualquiera de estos tres métodos fue significativamente más efectivo que la solución salina al desinfectar los conductos radiculares. A pesar de que está demostrado que el efecto mecánico de la irrigación reduce el número de bacterias en el conducto radicular, los hallazgos de este estudio sugieren que se requiere de una solución irrigante que posea acción antibacteriana para maximizar la desinfección del conducto radicular. De igual forma demuestran que no existe diferencia significativa entre los protocolos de irrigación utilizados. Los efectos observados en este estudio son dependientes del

NaOCl mas que del método de irrigación empleado (Siqueira M et al 1998) (Medina K 2001) (Díaz Alejandra 2008)

Otro grupo de autores como Abdullah *et al* (2005) evaluaron la acción antimicrobiana del NaOCl al 3% en fenotipos diferentes de *E faecalis* como son una biopelícula y una suspensión plántonica. Cada una de las muestras del microorganismo fue expuesta al NaOCl en periodos de tiempo de 1 2 4 8 15 30 y 60 minutos. Los resultados señalan que el NaOCl fue capaz de lograr una reducción bacteriana al 100% cuando estuvo en contacto por 1 minuto con el microorganismo en su forma de suspensión plántonica y en 2 minutos cuando se encontraba formando una biopelícula (Díaz Alejandra 2008)

Estos autores apuntan que es difícil la erradicación de cualquier microorganismo que se encuentre en una biopelícula o en una suspensión plántonica *in vitro* si el agente antimicrobiano a utilizar no posee propiedades de disolución de tejido orgánico. Los mecanismos utilizados para la erradicación de las infecciones por biopelículas de *E faecalis* se basan en la interrupción mecánica de la estructura multicelular gracias a la instrumentación y disolución de los polímeros de la matriz utilizando NaOCl al 3% como protocolo principal de irrigación (Díaz Alejandra 2008) (Medina K 2001)

En este mismo sentido Sena *et al* (2006) evaluaron la efectividad del NaOCl al 2.5% y al 5.25% sobre biopelículas de *E faecalis* así como biopelículas de *S aureus*, *P endodontalis* y *F nucleatum*. Estas biopelículas eran inmersas en la solución irrigadora por 30 segundos y luego por períodos de tiempo de

5 10 15 30 y 60 minutos con y sin agitacion mecanica En sus resultados senalan que se necesitaron 30 segundos de contacto con agitacion mecanica entre la biopelícula de *E. faecalis* y el NaOCl al 5 25% para lograr su erradicacion Por otro lado sin agitacion mecanica el NaOCl al 5 25% actuo sobre este microorganismo en la misma cantidad de tiempo pero a una concentracion de 2 5% tardo 60 minutos en lograr la erradicacion del mismo Afirman que los microorganismos Gram positivos anaerobios facultativos como los enterococos son mas resistentes a la instrumentación y a los agentes antisepticos por lo que se puede esperar su persistencia dentro del conducto radicular luego de una preparacion biomecánica y obturacion inadecuadas (Diaz Alejandra, 2008)

Por su parte Vianna *et al* (2004) y Gomes *et al* (2001) evaluaron la efectividad antimicrobiana del NaOCl en concentraciones de 0 5 1 2 5 4 y 5 25% sobre *E. faecalis* Ambos grupos de investigadores senalan que el tiempo requiendo para la erradicacion total del microorganismo fue inversamente proporcional a la concentracion del mismo asi el NaOCl al 5 25% erradico a *E. faecalis* en 15-30 segundos de contacto y a una concentracion de 0 5% tardó 30 minutos (Diaz Alejandra 2008)

Walton y Rivera (Medina K 2001) recomiendan diluir el hipoclorito de sodio al 5 25% en partes iguales con agua para una solucion de 2 6% Esta es tan eficaz como la solucion a toda su capacidad pero más segura y mas agradable para usar Sin embargo debido a que el hipoclorito de sodio es degradado por la luz, el aire los metales y los contaminantes orgánicos se

cree que la pérdida de estabilidad química de la solución es un factor que puede alterar sus propiedades (Jaquez, E y Marcano M 2001)

El aumento de la temperatura ambiental a la temperatura corporal aumenta la eficacia del NaOCl al igual que el tiempo (NaOCl al 5 25% elimina en 1/2 hora todo el tejido pulpar) el volumen empleado y la cercanía a la construcción apical

En vista de que el hipoclorito de sodio no cumple con dos propiedades como son baja toxicidad y eliminación de la capa de desecho es necesario combinarlo con agentes quelantes u otros agentes irrigantes para poder lograr los objetivos de la irrigación del sistema de conductos (Jaquez E y Marcano M 2001) (Sassone L et al 2003)

Estrela et al 2002 describe el mecanismo de acción del NaOCl el cual está basado en la acción de los iones hidroxilo que le confiere un pH alto similar al mecanismo de acción del hidróxido de calcio Este interfiere con la integridad de la membrana citoplasmática con inhibición enzimática irreversible alteraciones en el metabolismo celular destrucción de los fosfolípidos observada durante la peroxidación lipídica Se forman cloraminas que interfieren con el metabolismo La oxidación promueve inhibición enzimática de la bacteria reemplazando hidrógeno con clorina La inactivación enzimática se observa por el reacción de los grupos amino (NH_2) con clorina y por la oxidación irreversible de grupos sulfidrilos de las enzimas de las bacteria (cisteína) La degradación del tejido se da por la reacción de saponificación cuando el hipoclorito de sodio destruye los ácidos grasos y lípidos reclutando en jabón y glicerol

2.8.2.2 GLUCONATO DE CLOREXIDINA (CHX)

El gluconato de clorhexidina fue desarrollada en la década de 1940 en Inglaterra y se comercializó en 1954 como antiséptico para heridas de piel. El CHX en odontología inicialmente se empleó para desinfectar la boca a partir de 1970 gracias a los estudios realizados por Loe y Schiott se popularizó como enjuague bucal capaz de inhibir la neoformación de placa y el desarrollo de la gingivitis (Balandrano F 2007)

En 1975 Baker y Cols ya consideraban viable el uso de la clorhexidina como irrigante en endodoncia. En 1982 Delany y Cols concluyeron que la clorhexidina es un agente antibacteriano efectivo al utilizarse como irrigante durante la terapia endodóntica (Balandrano F 2007)

El gluconato de clorhexidina (CHX) es un compuesto catiónico antibacteriano que posee un grupo biguanida y un radical clorofenil y se utiliza como irrigante endodóntico al 0.12% o 2%. Posee excelentes propiedades antibacterianas como el NaOCl al 5.25% e incluso tiene mejor efecto residual que el NaOCl a las 24 horas pero no tiene la capacidad de disolver tejido pulpar (Vahdaty A, et al 1993)(Buck J et al 2001)(Estrela et al 2003) (Sassone L et al 2003)

Su mecanismo de acción es el resultado de la absorción de la CHX dentro de la pared celular de los microorganismos produciendo filtración de los componentes intracelulares también daña las barreras de permeabilidad en la pared celular originando trastornos metabólicos de las bacterias. La

cantidad de absorción de la CHX depende de la concentración utilizada otra de sus acciones consiste en la precipitación proteica en el citoplasma bacteriano inactivando sus procesos reproductivos y vitales (Balandrano F 2007)

El CHX ha sido recomendado para la irrigación del conducto radicular de dientes infectados debido a su acción antimicrobiana y a su absorción por parte de los tejidos dentanos duros con una liberación gradual y prolongada a niveles terapéuticos llamado frecuentemente efecto residual o sustantividad (Vahdaty A et al 1993) (D arcangelo C Varvara G Des Fazio P 1999) (Diaz Alejandra 2008) Debido a las propiedades catiónicas de la clorhexidina esta se une a la hidroxiapatita del esmalte dental a la película de la superficie de diente a proteínas salivares a bacterias y a polisacáridos extracelulares de origen bacteriano El CHX es absorbida gradualmente es liberada durante más de 24 horas por eso se cree que reduce la colonización bacteriana en la superficie de los dientes Weber *et al* 2003 encontraron *in vitro* que posee un amplio espectro antibacteriano residual hasta por 168 horas posteriores a su aplicación

La CHX por su baja toxicidad es recomendada como irrigante en pacientes alérgicos al hipoclorito e igualmente puede ser utilizada en dientes con ápices abiertos o inmaduros o en dientes con perforaciones (Vahdaty A et al 1993) (D arcangelo et al 1999) (Spangberg L 2004)

Debido a que la CHX carece de efecto disolvente de tejido debemos tener presente que al usarla es necesario utilizar otros métodos para completar la limpieza de los conductos como por ejemplo combinarla con agentes

quelantes u otras soluciones irrigadoras instrumental rotatorio o vibracion ultrasonica (Vahdaty A et el 1993)(Sassone L et al 2003) (Spangberg L 2004)

En un estudio realizado por White y col en 1997 acerca del efecto residual de la clorhexidina sobre la dentina a dos concentraciones distintas luego de instrumentar e irrigar conductos de dientes monorradiculares recién extraídos obtuvieron resultados excelentes en cuanto a la inhibición de crecimiento bacteriano hasta 72 horas con la concentración de 0.12% y por mas de 72 horas con la concentración al 2.0% lo que confirma que puede ser utilizada como irrigante en la terapia endodontica y mas aun utilizada como medicamento intraconducto entre citas para controlar la infeccion

En un estudio realizado por Kurkuvilla J R et al 1998 encontraron que al alternar el uso de 1.5 ml de NaOCl al 2.5% con 1.5 ml de CHX al 0.2% resultó en una gran reducción de la flora microbiana (84.6%) cuando se comparo con el uso individual del NaOCl al 2.5%(59.4%) o el CHX al 0.2%(70%) (Kuruvilla J Kamath P 1998)

En un estudio realizado por Dametto *et al* (2005) se evaluo la actividad antimicrobiana del gel de CHX al 2% sobre *E faecalis* comparandolo con otros irrigantes como la CHX liquida al 2% y el NaOCl al 5.25%. Para evaluar la accion antibacteriana de dichos irrigantes se tomaron tres muestras microbiologicas una muestra inicial antes de la preparacion biomecanica una muestra intermedia inmediatamente despues de la preparacion y una muestra final 7 dias después de la misma. Los resultados señalan que al momento de la muestra intermedia no hubo diferencias significativas en cuanto al irrigante

utilizado y el número de colonias detectadas de *E faecalis* sin embargo a los 7 días de la preparación biomecánica ambos tipos de CHX mostraron la menor cantidad de colonias formadas muy por encima del NaOCl. Estos autores también apuntan que la CHX, tanto en presentación líquida como en gel es absorbida por el esmalte y la dentina luego de 7 días de la instrumentación e irrigación de los conductos radiculares y a pesar de que el NaOCl fue igualmente efectivo en la exposición inicial este no presenta la propiedad de sustantividad (Díaz, Alejandra 2008)

Por otra parte fue demostrada en un estudio publicado en 2003 por Oncag et al la efectividad superior del digluconato de clorhexidina al 2% sobre el hipoclorito de sodio al 5 25% en periodos de tiempo iguales contra *E faecalis* así como sus mayores efectos residuales y menor toxicidad (Oncag et al 2003)(Aguilar T 2004)

En este mismo sentido Vianna et al Sena et al y Gomes et al (¿?) realizaron un estudio donde evalúan la efectividad antimicrobiana de la CHX al 0 2% 1% y 2% en líquido y gel sobre *E faecalis*. Ambos coinciden en afirmar que el tiempo requiero para la erradicación total del microorganismo fue inversamente proporcional a la concentración del mismo así el gel de CHX al 2% detuvo el crecimiento del microorganismo al minuto y el líquido de CHX al 2 % necesitó solo 15-30 segundos de contacto para su erradicación (Vianna M et al 2004) (Díaz, Alejandra 2008)

Estrela et al 2003 describe su mecanismo de acción y su efecto antibacteriano debido a su naturaleza catiónica promueve conexión con los compuestos aniónicos de la superficie de las bacterias (grupos fosfatos del

ácido teicóico de las G⁺ y el lipopolisacárido de las G⁻) La alteración de la permeabilidad citoplasmática promueve precipitación de las proteínas citoplasmáticas alteración del balance osmótico metabolismo crecimiento división celular etc

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en la Clínica Integral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Panamá y en la Clínica Odontológica de la Policlínica Presidente Remón de la Caja del Seguro Social. Las pruebas microbiológicas se realizaron en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá y en el laboratorio de Microbiología del Laboratorio Central de Salud Pública del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud.

3.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA

El universo del estudio lo componen los pacientes adultos que acuden a la Clínica Integral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Panamá y a la Policlínica Presidente Remon de la Caja del Seguro Social con dientes que presentaban patologías pulpares.

Se eligieron 100 pacientes al azar a los cuales se les realizaron las pruebas para detectar la presencia del *Enterococcus spp* en el conducto radicular de dientes con patología pulpar.

De las 100 muestras se utilizaron las muestras positivas de *Enterococcus spp* para las pruebas de eficacia antimicrobiana de las sustancias irrigadoras y sensibilidad antibiótica.

3 3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes de cualquier sexo

Pacientes de 18-75 años sin afección sistémica

Pacientes con dientes con patología pulpar

Pacientes con o sin sintomatología clínica

Pacientes con o sin lesión periapical

Dientes que permitan un adecuado aislamiento absoluto

Cualquier tipo de diente de la arcada (anterior o posterior superior o inferior)

3 4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes con endodoncia

Pacientes que hayan tomado antibióticos antes del tratamiento

Dientes que no permitan aislamiento absoluto

3 5 METODOLOGIA

Esta investigación se dividió en dos etapas

3 5 1 Detección de cepas de *Enterococcus spp*

- Cultivo de muestras de conductos radiculares** Se eligieron al azar 100 pacientes que acudían a la Caja del Seguro Social y a la Clínica Integral de la Facultad de Odontología para realizarse un tratamiento de Endodoncia. Podían estar incluidos pacientes de cualquier edad, sexo, raza con

sintomatología sin sintomatología y cualquier diagnóstico pulpar Se excluyen a los pacientes con problemas sistémicos y que hubieran recibido terapia antibiótica 3 meses antes

- Identificación por Vitek una vez cultivadas las bacterias se procedía a la identificación de la especie por medio del Sistema Vitek BioMérieux® y además se hacían las pruebas de sensibilidad a los antibióticos por el mismo sistema

3.5.2 Prueba de eficacia antimicrobiana de las sustancias irrigadoras

- **Sustancias utilizadas** Las sustancias utilizadas para los test de exposición directa y difusión por disco son el gluconato de clorhexidina y el hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones y en diferentes tiempos. Como control negativo se utilizó el agua destilada
- Para esta prueba se utilizaron el test de exposición directa y el test de difusión por disco
- En el cuadro I se presentan las sustancias irrigadoras utilizadas

CUADRO I

Irrigadores endodónticos utilizados en la investigación

1 Hipoclorito de Sodio Al 2.5% y 5.25%	Blancox® BRINSA S.A.
2 Gluconato de clorhexidina al 0.12%®	Clorhexil® Laboratorios Stein
3 Gluconato de clorhexidina al 0.2%®	Pero kin® Laboratorios KIN S.A.
4 Gluconato de clorhexidina al 2%	Consepsis® Ultradent Products Inc

3 6 TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se utilizo una encuesta clinica con datos generales y especificos del paciente y se detallaron las características de la enfermedad pulpar presente tomando en cuenta todos los hallazgos necesanos para su diagnostico Cada encuesta clinica tenia un codigo de identificacion coincidiendo con la muestra clinica

3 6 1 PROCEDIMIENTOS PREVIOS A LA COLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se tomaron 100 muestras de lesiones pulpares a pacientes segun los criterios de inclusion y exclusion de este estudio

Se utilizaron metodos asepticos estrictos para el cual a cada diente se le realizo aislamiento absoluto y desinfeccion antes de tomar la muestra

La desinfección del campo operatorio y el diente se realizo con un algodón embebido con hipoclorito de sodio al 5 25%

Se hizo la apertura del conducto utilizando fresas esteriles sin irrigacion y se procedio a tomar la muestra

3 6 2 COLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

La muestra se tomo con una lima No 15 o 20 estéril Se rasparon las paredes a lo largo del conducto

Si el conducto estaba seco se podia mojar con agua destilada estéril y luego tomar la muestra

La muestra se cultivaba en agar Bili Esculina inmediatamente en el laboratorio a 37°C por 48 horas

- Los tubos del agar eran sellados con tapa enroscable y rotulados debidamente.

3.6.3. TOMA DE LA MUESTRA

Se toma la muestra clínica como parte del procedimiento de endodoncia de acuerdo a los criterios de inclusión del estudio y previo consentimiento del paciente.

Figura 1

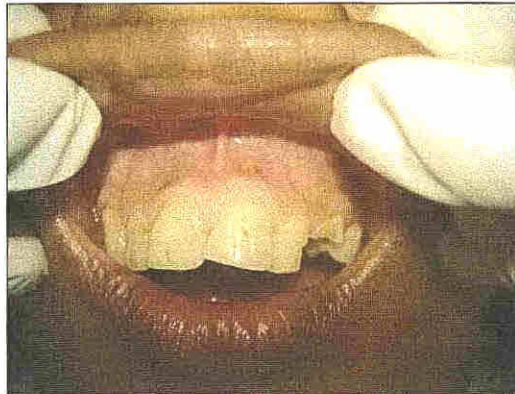


Fig. 1. Diagnóstico y revisión del área a tomar

El medio utilizado es el agar Bili Esculina donde se colocó la muestra tomada. Este medio nos permite realizar una identificación previa más directa de la presencia del *Enterococcus spp.* ya que es un medio selectivo de esta bacteria, identificando inmediatamente su posible presencia dentro del conducto. Se mantienen todos los protocolos de bioseguridad.

Figura 2



Fig.2. Equipo y materiales utilizados en la toma de la muestra

El diente es aislado del medio bucal como parte del protocolo del tratamiento de endodoncia y para evitar la contaminación de la muestra con flora del medio oral. Se realiza el aislamiento absoluto con dique de goma en el cual se abre un orificio para que solo quede expuesto el diente que se va a tratar.

El dique se sostiene con una grapa.

Figura 3

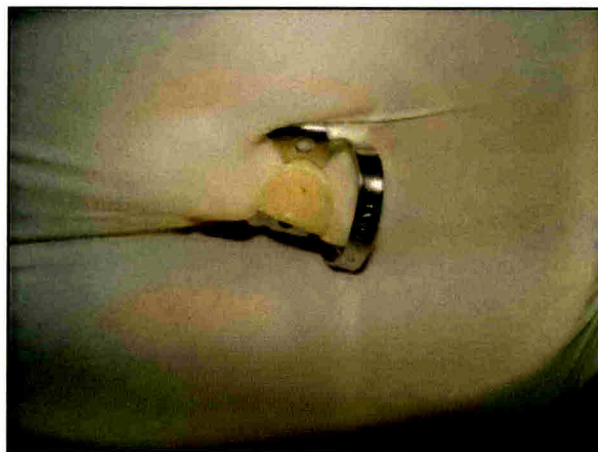


Fig. 3. Aislamiento absoluto del diente

El diente es desinfectado con hipoclorito de sodio para eliminar cualquier bacteria que no está dentro del conducto y que pueda contaminar la muestra.

Figura 4

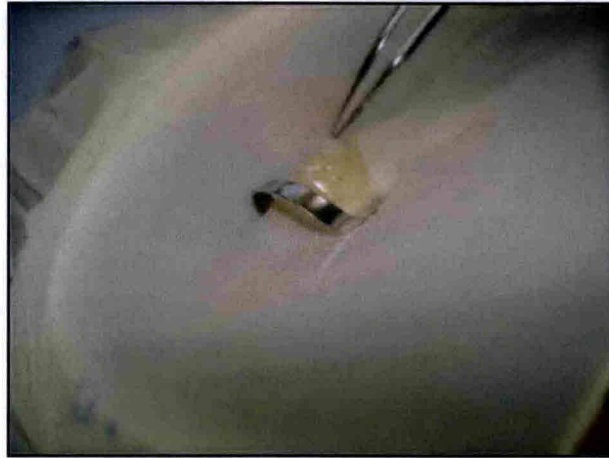


Fig. 4. Desinfección preliminar al acceso
Se abre el acceso al conducto radicular con fresas estériles.

Figura 5



Fig. 5: Acceso al conducto radicular

Una vez abierto el acceso, se procedió a la toma de la muestra con lima No. 15 raspando el conducto desde el ápice hacia la corona.

Figura 6



Fig. 6: Toma de la muestra con lima no. 15

La muestra tomada con la lima es llevada al agar biliesculina donde se deposita rayando con la lima y la muestra el agar, se cierra y se rotula.

Figura 7



Fig. 7: Colocación de la muestra en el agar biliesculina

3.7 CARACTERIZACIÓN DE LAS COLONIAS

De las muestras tomadas, se observó el cambio de color del medio agar Bili Esculina para determinar la posible presencia de *Enterococcus spp.*

Figura 8

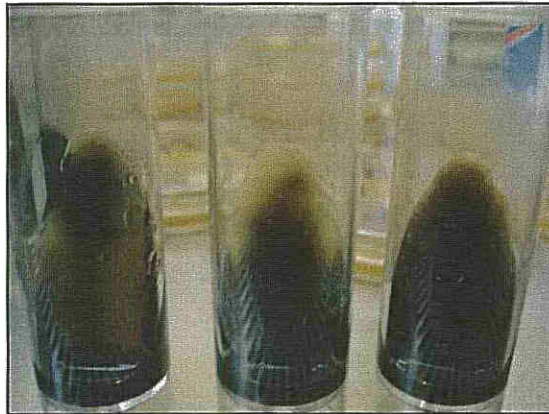


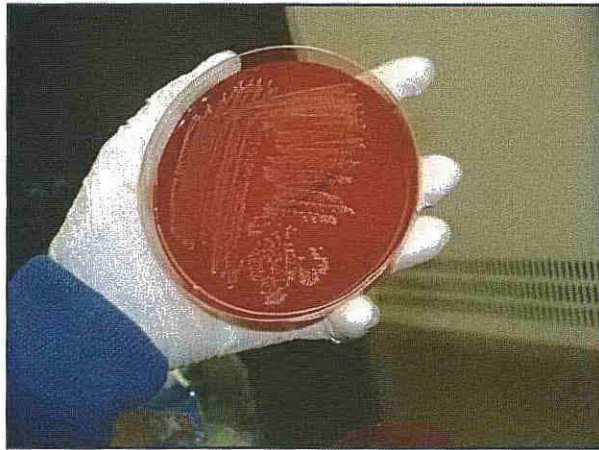
Fig. 8: Agar biliesculina

Luego se realizaron pases para confeccionar cultivos puros en agar sangre a 37°C por 48 horas.

Aquí se observaron las siguientes características:

- Tamaño y forma de las colonias.
- Tipo de hemólisis del medio

Figura 9

Fig. 9: Agar sangre con cepas de *Enterococcus spp.*

Se realizaron tinciones de Gram para observar la morfología microbiana presente al microscopio de luz, pruebas de catalasa y siembra en medio manitol sal para confirmar su posible presencia.

Figura 10

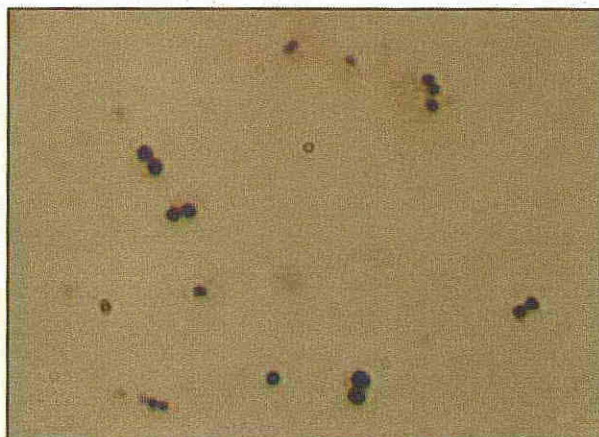


Fig. 10. Tinción de Gram. 100X

3.8 IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE ENTEROCOCOS

Se utilizó la prueba de fermentación de azúcares por medio del VITEK (BioMierux), para identificar las especies de *Enterococcus spp.* y descartar la posible presencia de otras especies de estreptococos. Se utilizaron controles positivos de cepas ya conocidas para asegurar la calidad de los resultados. Además se realizó la prueba para la sensibilidad a diferentes antibióticos.

Figura 11



Fig. 11. Identificación por Vitek y sensibilidad antibiótica

Una vez identificadas las cepas de *Enterococcus spp.*, se procedió a guardarlas en medio de caldo de tripticasa soya con glicerina a -20°C .

3.8 PRUEBAS DE EFICACIA ANTIMICROBIANA DE DIFERENTES SOLUCIONES IRRIGADORAS IN VITRO

3.9.1 TEST DE EXPOSICIÓN DIRECTA

1. Se conformaron cultivos en agar sangre 24 horas antes de la prueba.

Figura 12

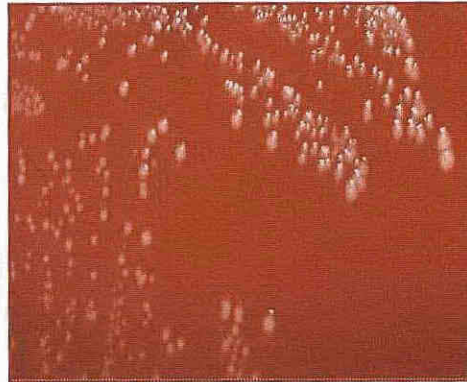


Fig. 12. Agar sangre

2. De cultivos puros, se inocularon las cepas en medios BHI por 24 horas a 37°C.

Figura 13

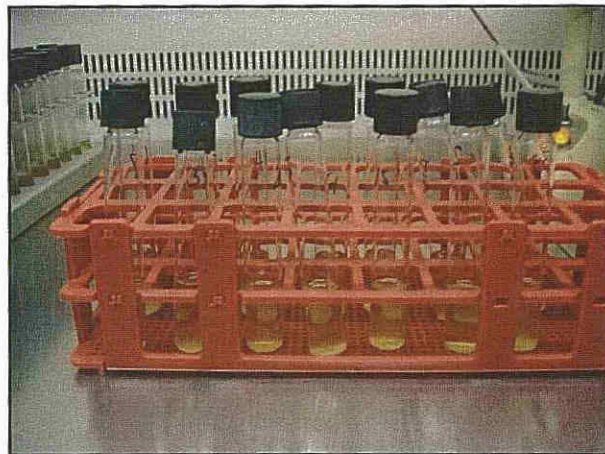


Fig. 13. Cultivos de *Enterococcus spp.* en medio BHI

3. Se realizó una suspensión en 5ml de solución salina ajustando la suspensión equivalente al estándar 1 Mc Farland, que equivale a 3×10^8 cel/mL.

Figura 14



Fig. 14. Densimat para el ajuste de la escala Mc Farland

4. Se infectaron por 5 minutos puntas de papel No. 50 dentro de los tubos con la suspensión.

Figura 15

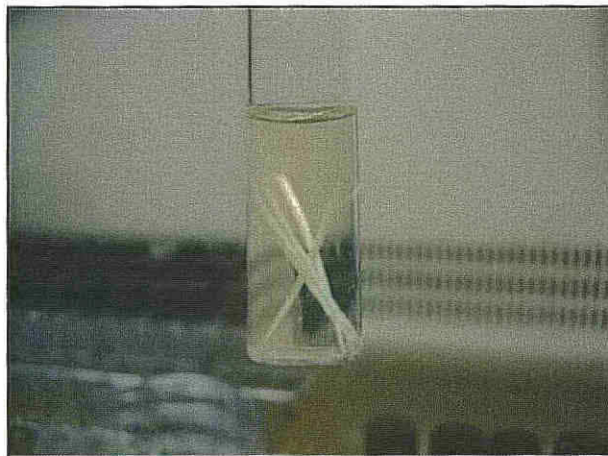


Fig. 15. Puntas de papel No. 50 dentro de la suspensión bacteriana.

5. Se colocaron las puntas en diferentes platos petri y se cubren con las sustancias irrigadoras en las diferentes concentraciones y por diferentes tiempos de 5, 15 y 30 minutos (NaOCl al 5.25%, NaOCl al

2.5%, CHX al 0.12%, CHX al 0.2%, CHX al 2% y agua destilada estéril como control).

Figura 16



Fig. 16. Prueba de eficacia antimicrobiana de irrigantes de uso endodóntico

6. Luego de los diferentes tiempos (5, 15, 30 minutos para el NaOCl y la CHX), se colocan las puntas en 10mL de caldo Leten por 48 horas a 37°C.

Figura 17



Fig. 17. Caldo Leten por 48 horas

7. Luego de 48 horas en el caldo leten, se inoculan 0.1mL de este caldo en 5ml de BHI por 48horas a 37°C.

Figura 18



Fig. 18. Caldo BHI por 48 horas

8. Se observa la turbidez y se realizan tinciones de Gram y cultivo para confirmar la eliminación de los *Enterococcus spp.*

Figura 19

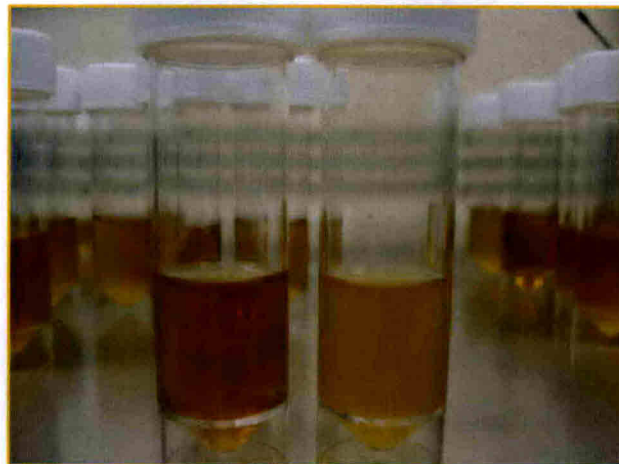


Fig. 19. Observación de la turbidez

Figura 20



Fig. 20. Cultivo en Agar sangre para confirmar presencia de *Enterococcus spp.* de los tubos con BHI que presentaban turbidez.

3.9.2 PRUEBA DE DIFUSIÓN POR DISCO

1. Se conformaron cultivos en agar sangre 24 horas antes de la prueba.
2. De cultivos puros, se inocularon las cepas en medios BHI por 24 horas a 37°C.
3. Se realizó una suspensión en 5ml de solución salina ajustando la suspensión equivalente al estándar 1 Mc Farland, que equivale a 3×10^8 cel/mL.
4. Se inocularon 0.1ml de la suspensión bacteriana en platos con agar Müller Hinton para cada sustancia.
5. Se colocaron los discos estériles de 9mm en las sustancias desinfectantes (NaOCl al 5.25%, NaOCl al 2.5%, CHX al 0.12%, CHX al 0.2% y agua destilada) por un minuto.

6. Se dejó por una hora a temperatura ambiente y luego se incubaron a 37°C por 48 horas
7. Se midió el diámetro de los halos de inhibición en milímetros (mm).

Figura 21

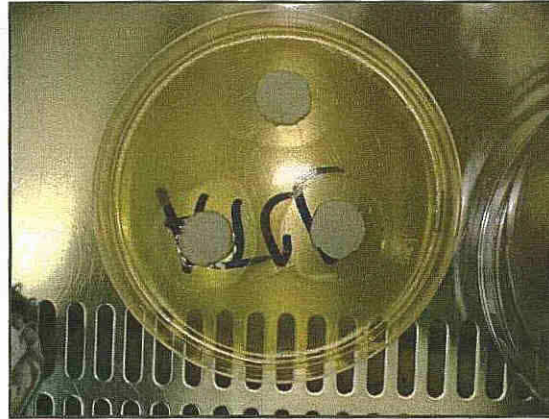


Fig. 21. Prueba de difusión por disco. Halo de inhibición.

3.9 PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA. SISTEMA AUTOMATIZADO VITEK

Esta prueba utilizó el método automatizado de Vitek, bioMérieux® en el cual se realizaron suspensiones de cultivos puros donde se sometió a diferentes antibióticos.

PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN POR EL SISTEMA VITEK Biomeriúx

1. A cada muestra se les realiza la prueba de la catalasa y se observa el tipo de hemólisis del cultivo puro.
2. Se realiza una suspensión bacteriana al estandar 0.5 de Mc Farland. Se utilizó el Vitek Colorimeter para confirmarlo.

Figura 22



Fig. 22 Vitek Colorimeter

3. Se toman 200ul de la suspensión y se colocan en 1.8ml de solución salina estéril.

Figura 23

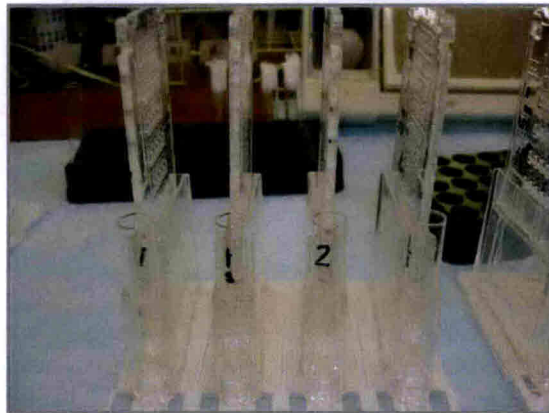


Fig. 23. Preparación de las tarjetas GPI y GPS de VITEK

4. Se preparan las tarjetas GPI de identificación y la de GPS de las pruebas de sensibilidad.

- 5 Se colocan los tubos en la gradilla para que las suspensiones bacterianas sean absorbidas por las tarjetas
- 6 Las tarjetas son introducidas dentro del sistema Vitek para las pruebas

3 11PRUEBA DE DIFUSIÓN EN DISCO SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

- 1 Se conformaron cultivos en agar sangre 24 horas antes de la prueba
- 2 De cultivos puros se inocularon las cepas en medios BHI por 24 horas a 37°C
- 3 Se realizo una suspension en 5ml de solucion salina ajustando la suspension equivalente al estandar 1 Mc Farland que equivale a 3×10^8 cel/mL
- 4 Se inocularon 0.1ml de la suspension bacteriana en platos con agar Muller Hinton para cada sustancia
- 5 Se colocaron los discos esteriles para Amoxicilina Amoxicilina con ácido clavulanico y Entromicina (bioMéneux®)
- 6 Se colocaron 3 discos en cada plato
- 7 Se dejó por una hora a temperatura ambiente y luego se incubaron a 37°C por 48 horas
- 8 Se midió el diametro de los halos de inhibicion en milímetros (mm)

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

En la Tabla I se presentan los resultados de la detección e identificación de los *Enterococcus spp*. Del total de 100 muestras tomadas de pacientes con patologías pulpares se identificaron 13 muestras positivas con *Enterococcus spp*.

TABLA I
Detección e identificación de *Enterococcus spp* de conductos radiculares con patología pulpar

No	MUESTRA	VITEK Identificación	VITEK *Sensibilidad antibiótica
1	001	<i>E faecalis</i>	S RT
2	002	<i>E faecalis</i>	S
3	005	<i>E faecalis</i>	S, RT, IV
4	015	<i>E faecium</i>	S
5	020	<i>E faecalis</i>	S
6	031	<i>E faecium</i>	S
7	033	<i>E faecium</i>	S, RT IV
8	041	<i>E faecalis</i>	S
9	042	<i>E faecalis</i>	S
10	048	<i>E faecium</i>	S, RT
11	061	<i>E faecalis</i>	S
12	071	<i>E faecalis</i>	S
13	088	<i>E faecium</i>	S
CONTROL	ATCC	<i>E faecalis</i>	S

TABLA I El 13% de las muestras fueron identificadas como *Enterococcus spp*

Antibióticos evaluados. Ampicilina, Ciprofloxacina, Gentamicina-500, nitrofuratoína, Penicilina G, Estreptomina 2000, Tetraciclina, Vancomicina, Clindamicina, Eritromicina.
 RT Resistencia a la Tetraciclina
 S Sensible a Ampicilina, Ciprofloxacina, Gentamicina-500, nitrofuratoína, Penicilina G, Estreptomina 2000, Clindamicina, Eritromicina
 IV Intermedio a Vancomicina

De las trece muestras positivas para *Enterococcus spp*, 8 muestras fueron identificadas como *E faecalis* y 5 fueron identificadas como *E faecium*.

En los resultados de la sensibilidad antimicrobiana a los antibioticos cuatro cepas dos *E faecalis* y dos *E faecium* resultaron ser resistentes a la Tetraciclina y dos con sensibilidad intermedia a la Vancomicina una de *E faecalis* y la otra de *E faecium*

Para la determinación de la efectividad antimicrobiana de los *Enterococcus spp* a los irrigantes endodonticos se utilizaron dos tipos de test el test de exposición directa y el test de difusion por disco Obteniendo así los siguientes resultados

4.1 TEST DE EXPOSICION DIRECTA

Los parametros de medicion de los resultados son cualitativos tomando en cuenta la turbidez del medio en la cual si presenta turbidez se sospecha que el antimicrobiano no elimino la bacteria lo cual se confirmaba con un cultivo en agar sangre y la presencia de cocos G+ en la tinción de Gram

La turbidez del medio representa la presencia de bacterias en el mismo y se identifica como + y a la ausencia de turbidez como la ausencia de bacterias en el medio y se identifica como -

En la TABLA II se observan los resultados de las diferentes sustancias irrigadoras sobre el *E faecalis* durante un periodo de tiempo de 5 minutos

TABLA II
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodonticos sobre el *E faecalis* durante un periodo de 5 minutos

No Muestra	Tiempo de exposicion 5 MINUTOS				
	CHX			NaOCl	
	0.12%	0.2%	2%	2.5%	5.25%
001	+	+	+		+
002	+	+			+
005		+		+	+
020	+	+		+	+
041				+	+
042	+	+			+
061	+	+		+	
071	+	+		+	+
ATCC	+	+		+	+

Presencia de turbidez: +

Ausencia de turbidez:

Cepa control *E faecalis* ATCC

CHX Clorhexidina

NaOCl Hipoclorito de sodio

Los resultados muestran lo siguiente

Con la CHX al 0.12% solo elimino a 2 cepas de 8 lo que representa un 25% del total de las muestras positivas para *E faecalis*

La CHX al 0.2% elimino solo a una cepa de las ocho lo que representa un 12.5% de las muestras

Igualmente para el NaOCl al 2.5% se elimino sólo una de ocho un 12.5% de las muestras

Con la NaOCl al 5.25% se eliminan 3 de 8 que representa un 37.5% de las muestras

Con la CHX al 2% se logran eliminar 7 de 8 cepas lo que representa un 87.5% de las muestras

Para la cepa control ATCC solo la CHX al 2% logro eliminarlo a los cinco minutos

De los cinco irrigantes solo la CHX al 2% fue efectivo en la accion antimicrobiana del *E faecalis* en un tiempo de cinco minutos

En el TABLA III se observan los resultados de las diferentes sustancias sobre el *E faecalis* durante un periodo de tiempo de 15 minutos

TABLA III
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodonticos sobre el *E faecalis* durante un periodo de 15 minutos

Tiempo de exposición 15 minutos					
No Muestra	CHX			NaOCl	
	0 12/	0.2/	2/	2 5/	5 25/
001					
002	+	+		+	+
005		+		+	+
020	+	+		+	
041				+	+
042	+	+			+
061	+	+		+	
071	+	+		+	+
ATCC	+	+		+	+

Presencia de turbidez +
Ausencia de turbidez
Cepa control *E. faecalis* ATCC

CHX Clorhexidina
NaOCl Hipocloritode sodio

Los resultados muestran lo siguiente

Con la CHX al 0 2% un 25% (2 de 8) de las cepas de *E faecalis* fueron eliminadas

Con la CHX al 0 12% un 37 5% (3 de 8) de las cepas de *E faecalis* fueron eliminadas

Con la CHX al 2% elimino un 100% de las cepas(N=8)

Con el NaOCl al 5 25% un 37 5% (3 de 8) de las cepas de *E faecalis* fueron eliminadas

Con el NaOCl al 2.5% un 25% (2 de 8) de las cepas de *E faecalis* fueron eliminados

Para la cepa control ATCC solo la CHX al 2% logró eliminarlo a los quince minutos

De los cinco irrigantes la CHX al 2% fue efectivo en la acción antimicrobiana contra el *E faecalis* en un tiempo de quince minutos

En la TABLA IV se observan los resultados de las diferentes sustancias sobre el *E faecalis* durante un periodo de tiempo de 30 minutos

TABLA IV
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodónticos sobre el *E faecalis* durante un periodo de 30 minutos

Tiempo de exposición 30 minutos					
TIEMPO	CHX			NaOCl	
No Muestra	0.12%	0.2%	2%	2.5%	5.25%
001					
002	+	+		+	+
005	+	+		+	+
020	+	+		+	
041				+	
042	+	+		+	+
061	+	+		+	
071	+	+		+	+
ATCC	+	+		+	

Presencia de turbidez. +

Ausencia de turbidez

Cepa control. *E. faecalis* ATCC

CHX. Clorhexidina

NaOCl Hipoclorito de sodio

Los resultados muestran lo siguiente

Con la CHX al 0.12% un 25% de las muestras (2 de 8) fueron eliminadas

Con la CHX al 0.2% elimino un 25% (2 de 8) de las muestras

Con la CHX al 2% se elimino un 100% de las cepas (N=8)

Con el NaOCl al 2.5% solo un 12.5% (1 de 8) de las muestras fueron eliminadas

Con el NaOCl al 5.25% un 50% (4 de 8) fueron eliminadas

La cepa control ATCC fue eliminada tanto con el NaOCl al 5.25% como por la CHX al 2% a los 30 minutos

De los cinco irrigantes la CHX al 2% fue el mas efectivo en la accion antimicrobiana contra el *E faecalis* en un tiempo de treinta minutos seguido por el NaOCl al 5.25%

La Clorhexidina al 0.12% como al 0.2% tuvieron una eficacia antimicrobiana similar en los diferentes tiempos expuestos

La CHX al 2% fue el mas efectivo en la eliminacion del *E faecalis* eliminando las cepas casi en un 100%. Esta diferencia en los resultados son estadisticamente significativos $p < 0.05$

La eficacia antimicrobiana del NaOCl al 5.25% fue superior a la del 2.5% en la eliminación del *E faecalis* aunque no fue estadisticamente significativa $P < 0.005$

En la TABLA V se observan los resultados de las diferentes sustancias irrigadoras sobre el *E faecium* en un periodo de tiempo de 5 minutos

TABLA V
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodonticos sobre el *E faecium* durante un periodo de 5 minutos

No Muestra	Tiempo de exposicion 5 MINUTOS				
	CHX			NaOCl	
	0 12/	0.2%	2/	2 5/	5 25/
015	+	+		+	+
031	+	+		+	+
033	+			+	+
048	+	+		+	+
088	+	+			+

Presencia de turbidez. +
Ausencia de turbidez.

CHX Clorhexidina
NaOCl Hipocloritode sodio

Los resultados mostraron lo siguiente

A los cinco minutos con la CHX al 0 12% no logra eliminar ninguna de las cepas de *E faecium*

Con la CHX al 0 2% un 20% (1 de 5) de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Con el NaOCl al 2 5% un 20% (1 de 5) de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Con el NaOCl al 5 25% no logra eliminar ninguna de las cepas de *E faecium*

Solo la CHX al 2% logra eliminar las cepas de *E faecium* en un 100% (N=5)

En la TABLA VI se observan los resultados de las diferentes sustancias irrigadoras sobre el *E faecium* en un periodo de tiempo de 15 minutos

TABLA VI
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodónticos sobre el *E faecium* durante un periodo de 15 minutos

No Muestra	Tiempo de exposición 15 MINUTOS				
	CHX			NaOCl	
	0 12%	0.2 %	2 /	2 5%	5 25 /
015	+	+		+	+
031	+	+		+	+
033	+				
048	+	+		+	+
088	+	+			

Presencia de turbidez: +
Ausencia de turbidez:

CHX: Clorhexidina
NaOCl: Hipoclorito de sodio

Los resultados muestran lo siguiente

Con el CHX al 0 12% no elimina ninguna de las cepas de *E faecium*

Con el CHX al 0 2 un 20% (1 de 5) de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Con el NaOCl al 2 5% un 40% (2 de 5) de las cepas de *E faecium* fueron eliminadas

Con el NaOCl al 5 25% un 40% (2 de 5) de las cepas de *E faecium* fueron eliminadas

Solo el CHX al 2% elimina el 100% (N=5) de las muestras de *E faecium*

En la TABLA VII se observan los resultados de las diferentes sustancias irrigadoras sobre el *E faecium* en un periodo de tiempo de 30 minutos

TABLA VII
Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodonticos sobre el *E faecium* durante un periodo de 30 minutos

Tiempo de exposición 30 minutos					
TIEMPO	CHX			NaOCl	
No Muestra	0 12%	0.2%	2/	2 5/	5 25/
015	+	+		+	+
031	+	+		+	+
033	+			+	
048	+	+		+	+
088	+				+

Presencia de turbidez +

Ausencia de turbidez

CHX Clorhexidina

NaOCl Hipoclorito de sodio

Los resultados muestran lo siguiente

Con el CHX al 0 12% ninguna de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Con el CHX al 0 2% un 40% (2 de 5) de las cepas de *E faecium* fueron eliminados

Con el NaOCl al 2 5% un 20% (1 de 5) de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Con el NaOCl al 5 25% un 20%(1 de 5) de las cepas de *E faecium* fue eliminada

Sólo el CHX al 2% elimina el 100% (N=5) de las cepas de *E faecium*

La clorhexidina al 0 12% resulto ineficaz durante todos los tiempos de exposición en la eliminacion del *E faecium*

Se observó una efectividad antimicrobiana baja con la CHX al 0 2%

La CHX al 2% es el antimicrobiano más efectivo en la eliminación del *E faecium* Y esta diferencia de valores es estadísticamente significativo ($p < 0.05$)

No hubo diferencias estadísticamente significativas en la eficacia antimicrobiana ni en los tiempos de exposición del NaOCl al 5.25% comparado con la concentración de 2.5% ($p < 0.05$)

4.2 PRUEBA DE DIFUSIÓN CON DISCOS DE LOS IRRIGANTES DE USO ENDODÓNTICO

En la TABLA VIII se observan los resultados obtenidos del test de difusión por disco en la que las sustancias probadas formarían un halo de inhibición del área de acción antimicrobiana. Este halo se midió el diámetro en milímetros (mm)

TABLA VIII
Promedio del tamaño del halo de inhibición de los irrigadores endodónticos sobre el *E faecalis*

ANTIMICROBIANO	HALO EN mm								X	MIN	MAX	SD	VARIANZA
	MUESTRA <i>Enterococcus faecalis</i>												
	001	002	005	020	041	042	061	071					
NaOCl	11	9	13	17	14	16	12	14	13	9	17	2.42	6.5
5.25%	12	13	17	19	14	17	14	17	15	12	19	2.42	6.5

ANTIMICROBIANO	HALO EN mm								X	MIN	MAX	SD	VARIANZA
	MUESTRA <i>Enterococcus faecalis</i>												
	001	002	005	020	041	042	061	071					
CHX	20	21	20	19	18	19	17	18	19	17	21	1.3	1.5
0.12%	18	18	18	18	17	18	15	16	17	15	18	1.19	1.25
2%	27	27	25	27	26	27	22	25	26	22	27	1.77	2.75

X Promedio

SD Desviación estándar

MIN Halo de menor tamaño

MAX Halo de mayor tamaño

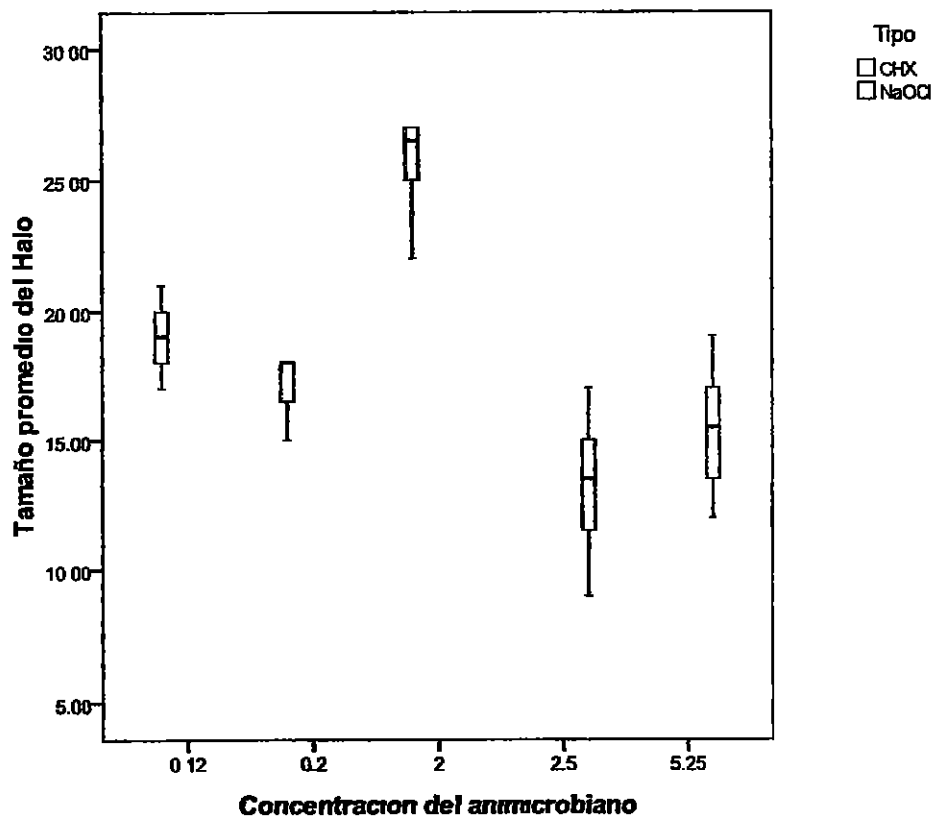
El *E faecalis* fue más sensible a la CHX al 2% obteniendo el halo más grande cuyo promedio fue de 26mm

La CHX al 0.12% y al 0.2% tuvieron un promedio de 19 y 17mm respectivamente

El NaOCl al 5.25% fue más efectivo que el NaOCl al 2.5% en cuanto al promedio del tamaño del halo de inhibición que fue de 15mm y 13mm respectivamente

Grafica 1

Diagrama de caja de los promedios del tamaño de halo de inhibición de la CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl al 2.5% y 5.25% sobre el *E faecalis*



Gráfica 1 La diferencia en los resultados con la CHX al 2% fueron estadísticamente significativos comparados con los otros irrigantes $p < 0.05$

TABLA IX
Promedio del tamaño del halo de inhibición de los irrigadores endodónticos
E. faecium

ANTIMICROBIANO	HALO EN mm <i>Enterococcus faecium</i>									
NaOCl	015	031	033	048	088	X	MIN	MAX	SD	VARIANZA
2.5%	12	9	12	12	12	11	9	12	1.4	1.6
5.25%	17	13	16	13	13	14	13	17	2	3.2

ANTIMICROBIANO	HALO EN mm <i>Enterococcus faecium</i>									
CHX	015	031	033	048	088	X	MIN	MAX	SD	VARIANZA
0.12%	25	23	22	23	18	22	18	25	2.5	5.4
0.2%	21	21	18	20	17	19	17	21	1.8	2.8
2%	29	30	27	29	30	29	27	30	1.2	1.2

X Promedio

SD Desviación estándar

MIN Halo de menor tamaño

MAX Halo de mayor tamaño

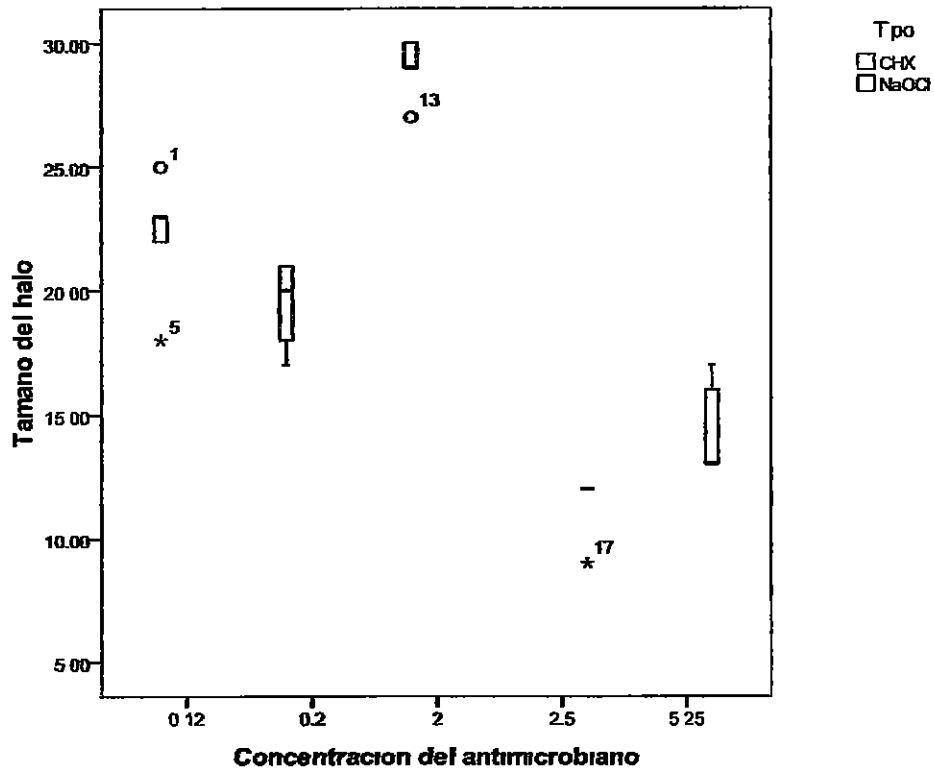
El *E. faecium* se comportó similar frente a los irrigantes siendo igualmente más sensible a la CHX al 2% obteniendo el halo más grande cuyo promedio fue de 29mm

La CHX al 0.12% y al 0.2% tuvieron un promedio de 22 y 19mm respectivamente

El NaOCl al 5.25% fue más efectivo que el NaOCl al 2.5% en cuanto al promedio del tamaño del halo de inhibición que fue de 14 mm y 11 mm respectivamente

Gráfica 2

Diagrama de caja de los promedios del tamaño de halo de inhibición de la CHX al 0.12%, 0.2% y 2% y NaOCl Al 2.5% y 5.25% sobre el *E. faecium*



Gráfica 2 La diferencia en los resultados con la CHX al 2% fueron estadísticamente significativos comparados con los otros irrigantes $p < 0.05$

TABLA X

PROMEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN DE LOS IRRIGADORES ENDODONTICOS SOBRE EL *E faecalis* *E faecium* y *E faecalis* ATCC

	IRRIGANTES ENDODONTICOS				
	NaOCl		CHX		
CONCENTRACIONES	2.5%	5.25%	0.12%	0.2%	2%
<i>Enterococcus spp</i>	HALO EN mm (PROMEDIOS)				
<i>E faecalis</i>	13	15	19	17	26
<i>E faecium</i>	11	14	22	19	29
ATCC	15	16	24	24	27

Estos resultados muestran el promedio del tamaño del halo de inhibición de las diferentes sustancias irrigadoras sobre los *Enterococcus spp*

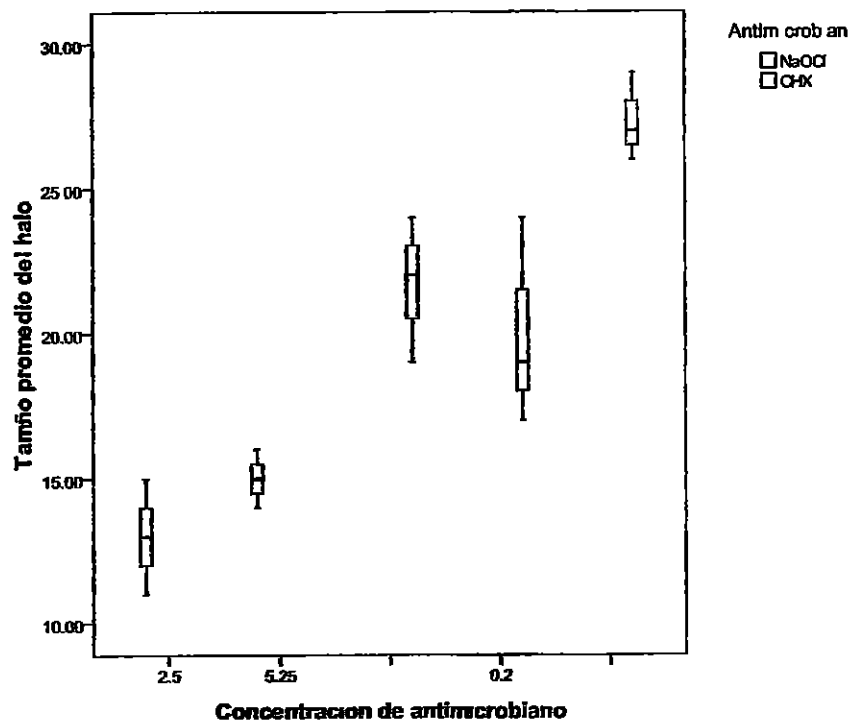
El mayor halo de inhibición fue obtenido con la CHX al 2% tanto para el *E faecalis* el *E faecium* y la cepa control ATCC

El promedio del halo de inhibición con la CHX al 0.12% y al 0.2% fue menor variando de un rango de 17mm a 24mm

Para el NaOCl al 2.55 y 5.25% el promedio de los tamaños de los halos fueron mucho menores que con la CHX al 0.12% Y 0.2%

Gráfica 3

Diagrama de Caja del promedio de halos de inhibición de CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl al 2.5% y 5.25% sobre el *E. faecalis*, *E. faecium* y *E. faecalis* ATCC (cepa control)



Gráfica 3 La diferencia en los resultados con la CHX al 2% fueron estadísticamente significativos comparados con los otros irrigantes $p < 0.05$

Figura. 24



Fig. 24. Test de difusión por disco. Halos de inhibición de CHX al 0.12%, 0.2% y 2%.

Figura 25

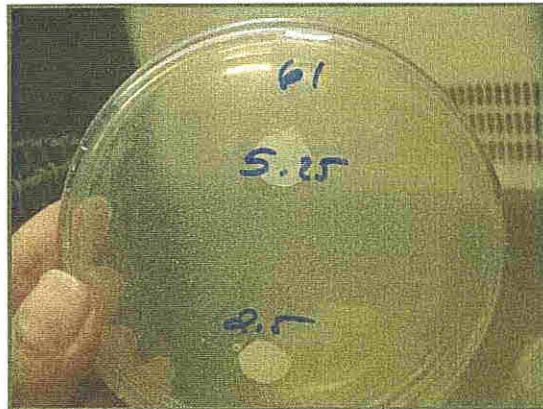


Fig. 25. Test de difusión por disco. Halo de inhibición NaOCl al 2.5% y 5.25%.

**4 2 1 RESULTADOS SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA ANTIBIÓTICOS DE
USO COMUN EN LA ODONTOLOGIA
TAMAÑO DEL HALO EN mm**

**TABLA XI
Sensibilidad antimicrobiana
Prueba de difusion por disco sobre antibióticos de uso comun**

<i>E faecalis</i>		ANTIBIOTICO		RESULTADO	ANTIBIÓTICO	RESULTADO
MUESTRA	AMX	AMC	S/R	E	S/R/I	
1	33	33	S	23	S	
2	37	31	S	22	I	
5	39	37	S	22	I	
20	37	33	S	22	I	
41	33	33	S	21	I	
42	31	29	S	17	R	
61	29	47	S	17	I	
71	31	31	S	15	I	
ATCC	39	35	S	19	I	
<i>E faecium</i>		ANTIBIOTICO		RESULTADO	ANTIBIÓTICO	RESULTADO
MUESTRA	AMX	AMC	S/R	E	S/R/I	
15	37	37	S	21	I	
31	35	35	S	13	R	
33	33	29	S	21	I	
48	33	31	S	27	S	

AMX.AMOXICILINA. 25ug

AMC AMOXICILINA /ACIDO CLAVULÁNICO- 20+10ug

E ERITROMICINA. 15ug

S Sensible

I Intermedia

R Resistente

INTERPRETACIÓN

Amoxicilina /acido clavulánico Resistente ≤ 19 Sensible ≥ 20

Entromicina Resistente ≤ 13 Intermedia. 14-22 Sensible ≥ 13

De las trece muestras todas fueron sensibles a la Amoxicilina y a la Amoxicilina /acido clavulánico La CLSI no propone la Amoxicilina en sus cuadros de recomendación y la amoxicilina /ácido clavulánico no se

recomienda para *Enterococcus* en el cuadro basico asi es que se utilizaron los parametros para *Staphylococcus aureus*

En cuanto a la Ertomicina la mayoria de las cepas resultaron son una sensibilidad intermedia dos cepas resistentes y dos cepas sensibles

TABLA XII
Eficacia de los antibioticos de uso comun sobre el *E faecium*
Metodo de dfusion por disco

<i>E Faecium</i>					
MUESTRA	TAMAÑO HALO mm		X	SD	VARIANZA
	MIN	MAX			
AMX	31	37	33.8	4.16	2.2
AMC	31	37	32.6	8.64	3.2
E	13	27	19.8	21.76	5.2

TABLA XIII
Eficacia de los antibioticos de uso comun sobre el *E faecalis*
Metodo de dfusion por disco

<i>E faecalis</i>					
MUESTRA	TAMAÑO HALO mm		X	SD	VARIANZA
	MIN	MAX			
AMX	29	39	33.75	3.5	10.9
AMC	29	47	34.25	5.5	26.62
E	15	22	19.8	3.04	8.11

Tanto para el *E faecalis* como para el *E faecium* la susceptibilidad antimicrobiana a la amoxicilina fue similar al de la amoxicilina y acido clavulanico

La Ertomicina resulto menos eficaz en la sensibilidad antimicrobiana

5 DISCUSSION

El *Enterococcus spp* es una bacteria que coloniza los conductos radiculares formando oportunamente parte de esa microbiota en las infecciones pulpares. En muchas ocasiones es uno de los agentes etiologicos que produce lesiones infecciosas persistentes dentro de los conductos radiculares y por lo tanto del fracaso del tratamiento de endodoncia.

Diversas investigaciones han tratado de establecer y comprobar el mecanismo de resistencia del *E faecalis* en todo lo concerniente con la terapia endodontica a pesar de ello el mecanismo exacto de supervivencia sigue siendo incierto.

La preocupacion por este microorganismo se debe a que este es capaz de sobrevivir a los ambientes más difíciles en ausencia incluso de ciertos nutrientes y soportar la acción antimicrobiana de los irrigadores de uso endodontico. Además posee la capacidad de invadir los tubulos dentinarios impidiendo que los irrigadores los eliminen, resiste al hidroxido de calcio como medicamento intraconducto sobreviviendo en pH tanto ácido como alcalino (resiste hasta un pH 11). Quizas esta característica se deba a la resistencia de su membrana citoplasmatica y a la acción a la bomba de protones. Es un microorganismo anaerobio facultativo con una tasa metabólica baja. Molander *et al* señalan que estos microorganismos son mas resistentes a las terapias antimicrobianas que los microorganismos anaerobios estrictos y gracias a esto persisten con mayor frecuencia en el sistema de conductos radiculares luego de procedimientos endodonticos inadecuados. Estos microorganismos pueden sobrevivir en una fase inactiva y factores como la filtración coronal durante o después del tratamiento de

conducto pudiesen cambiar las condiciones nutricionales y desencadenar el crecimiento bacteriano. Ello también pudiera explicar la alta frecuencia con la que se encontró a *E. faecalis* en los dientes que presentaban fracaso en el tratamiento endodóntico. También contribuyen la presencia de factores de virulencia como la sustancia de agregación y las proteínas de superficie. Y se ha documentado la capacidad de *E. faecalis* de formar biopelículas, lo cual aumenta su resistencia a los protocolos de irrigación (Díaz Alejandra 2008). Portenier *et al* señalan que existen tres hipótesis que pueden explicar la resistencia de estas biopelículas de *E. faecalis* a los irrigadores. La primera hipótesis se refiere a la reducción o baja penetración del irrigador a través de la misma; la segunda se basa en los posibles cambios en el medio ambiente químico de la biopelícula y la tercera todavía en discusión, pero sugiere que las sub-poblaciones de bacterias dentro de la biopelícula adquieren capacidad fenotípica diferente (Díaz, Alejandra 2008).

En nuestro estudio se reportó que en 13 de los 100 conductos radiculares muestreados se encontró *Enterococcus spp* en 8 conductos radiculares se identificaron *Enterococcus faecalis* y en los cinco restantes *Enterococcus faecium* confirmando así su presencia en las infecciones primarias de origen pulpar. La literatura reporta que el *E. faecalis* se encuentra dentro de los conductos radiculares con patología pulpar de un 5 a un 20% y los obtenidos por este estudio se encuentran dentro de ese rango. Nuestros resultados coinciden además con aquellos de Siqueira *et al* (2002) y Pirani *et al* (2008).

quienes reportaron una prevalencia de un 8% en infecciones primarias (Pirani *et al* 2008)(Pardi *et al* 2009)

La mayoría de los conductos radiculares con *Enterococcus spp* eran piezas dentales con canes coronales grandes expuestas a medio oral lo cual supone que es la vía de entrada de la bacteria instalándose oportunamente dentro de los conductos radiculares y formando parte de la polimicrobiota

Es importante destacar que las infecciones endodónticas primarias o los dientes no tratados endodónticamente con necrosis pulpar se caracterizan por presentar una microbiota mixta compuesta principalmente por microorganismos anaerobios estrictos tanto Gram negativos como Gram positivos. Generalmente se pueden encontrar más de tres especies distintas de microorganismos dentro de un conducto radicular infectado (Pardi *et al* 2009)

Tomando como referencia lo expresado en el párrafo anterior sería lógico suponer que la baja proporción de casos en los cuales se detectó a *Enterococcus spp* en casos de dientes con patología pulpar sin tratamiento endodóntico pueda deberse en buena parte a que se presenten situaciones de antagonismo microbiano dentro del conducto radicular generadas bien sea por la competencia entre especies por los nutrientes del medio o por la producción de sustancias producidas por parte de los microorganismos anaerobios estrictos (bacteriocinas) que inhiban el crecimiento del *Enterococcus spp* en el sistema de conductos radiculares o que impidan su permanencia en el mismo (Pardi *et al* 2009)

De esta forma suponemos también que su prevalencia es mucho mayor en caso de reinfecciones ya que al eliminar la flora competente el *Enterococcus spp* tiene la oportunidad de desarrollarse y colonizar al tener mejores condiciones de sobrevivir en este nuevo ambiente. Por lo que en muchas ocasiones como en este estudio se encuentra en forma de mono infección.

La pregunta es ¿que papel juega la presencia del *Enterococcus faecium* dentro del conducto radicular en infecciones primarias? ¿persiste al igual que *E faecalis*? Se menciona poco en la literatura y según nuestros resultados se comporta igual que *E faecalis* frente a los irrigadores endodónticos. En ninguno de los estudios revisados se le da relevancia a esta bacteria en las patologías pulpares como hemos demostrado en este estudio por lo que no justificamos que permanezca relegado a un segundo plano en las investigaciones.

IRRIGANTES ENDODÓNTICOS

La infección endodóntica es polimicrobiana y no todos los medicamentos son igualmente efectivos en todos los microorganismos en el conducto radicular infectado (Radeva *et al* 2007).

En el caso del hipoclorito de sodio este ha sido utilizado como el irrigante de elección para la limpieza del conducto radicular desde hace varias décadas y en concentraciones que varían desde el 0.5% 1% 2% y 5.25% siendo la del 2.5% la más utilizada. Las principales ventajas que ha demostrado tener el NaOCl son su habilidad de disolución de tejidos orgánicos y su propiedad

antibacteriana contra la mayoría de los microorganismos (Díaz Alejandra 2008)

La efectividad del NaOCl ha sido confirmada en varios estudios siendo el mayor irrigante endodóntico. Reacciona con las proteínas del tejido orgánico para dar un compuesto llamado cloramina que es un agente antibacterial importante. Destruye los patógenos adheridos al biofilm y en la dentina dentro de los tubos dentinarios (Radeva *et al* 2007)

Varios investigadores están de acuerdo en que las soluciones con una concentración más alta de hipoclorito de sodio son más efectivas que las soluciones con concentraciones más bajas (Balandrano F 2007) (Radeva *et al* 2007). Esto también queda evidenciado en los trabajos de Clegg y Coles (2006) en que se determinó que a mayor concentración de NaOCl mejor es su eficacia antibacteriana siendo el de 6% el único capaz de remover físicamente la capa de biofilm y sin volver viables las bacterias.

El NaOCl al 5% resulta además mejor que el de 2.5% disolviendo más rápido los tejidos pulpares necróticos. (Carson y Coles 2005) (Spano y Coles 2001). Sin embargo tanto Siqueira y Coles (2000) como Baumgartner y Cuenin (1992) encontraron que la concentración de la solución de hipoclorito de sodio no es tan importante como el cambio constante de la solución y su uso en cantidades significativas (Balandrano F 2007).

La acción bactericida y de disolución de tejidos del hipoclorito de sodio puede ser modificada por tres factores: concentración, temperatura y pH de la solución. Según Sirtes *et al* 2005 la temperatura es un factor importante ya que si ésta aumenta la acción del hipoclorito de sodio se incrementa de

manera significativa. En su investigación concluyeron que la solución de hipoclorito de sodio al 1% a 45°C es tan efectiva como la solución al 5.25% a 20°C (Balandrano F 2007)

Nuestros resultados muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas en la eficacia antimicrobiana del NaOCl al 5.25% comparado con el NaOCl al 2.5% ($p < 0.05$)

Algunos autores estudiaron el tiempo requerido para eliminar el *E. faecalis* utilizando el NaOCl en diferentes concentraciones. Entre ellos tenemos los estudios de Vianna *et al* y Gomes *et al* quienes señalan que el tiempo requerido para la erradicación total del microorganismo fue inversamente proporcional a la concentración del mismo; así, el NaOCl al 5.25% erradica a *E. faecalis* en 15-30 segundos de contacto y a una concentración de 0.5% tardó 30 minutos. Sena *et al* coincide con ellos sólo que en su estudio el NaOCl al 2.5% tardó 60 minutos en erradicarlo (Díaz Alejandra 2008). En nuestro estudio el tiempo de 30 minutos logró eliminar solo un 50% de las cepas de *E. faecalis* con el NaOCl al 5.25% y solo una cepa de cinco de *E. faecium*. Lo cual demuestra que los microorganismos Gram positivos anaerobios facultativos como los *Enterococos spp* son más resistentes a los agentes antimicrobianos como el NaOCl de uso común en Endodoncia por lo que se puede esperar su persistencia dentro del conducto radicular luego de una preparación biomecánica y obturación inadecuadas (Díaz Alejandra 2008)

Estrela *et al* (2008) concluyeron que no sólo el NaOCl tienen una baja habilidad en la eliminación del *E. faecalis*. Esto coincide en parte con

nuestros resultados en la que el NaOCl tuvo una baja efectividad antimicrobiana sobre los *Enterococcus spp* sobre todo para eliminar el *E faecium* segun el test de exposicion directa comparado con la CHX al 2% En cuanto al test de difusion por disco los halos de inhibición del NaOCl tanto al 5.25% como al 2.5% fueron pequeños en comparación con la CHX al 0.12% y 0.2% sin embargo no fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$)

Muchos autores hablan de la efectividad antimicrobiana del CHX frente al *E faecalis* Yan *et al* señalan que la CHX ha sido empleada como medicacion intraconducto gracias a su propiedad de sustantividad la cual se da por la liberacion de moleculas cargadas positivamente provenientes de la dentina tratada con CHX Estas moleculas liberadas se adhieren a la bacteria interfiriendo así con su adhesion a la dentina y causando dano en la membrana celular (Diaz Alejandra 2008)

Dametto *et al* demostro tambien esta propiedad la cual mejora las propiedades antimicrobianas de la CHX al mantener su acción antibacteriana luego de 7 dias proporcionando una mejor erradicacion del microorganismo muy superior al NaOCl al 5.25% (Diaz, Alejandra 2008)

La CHX es un potente antiséptico se utiliza como irrigante final pero no como el unico porque no disuelve tejido necrótico a diferencia del NaOCl que sí lo hace Su pH óptimo es de 5.5 a 7 y la concentracion al 2% es la mas utilizada (Radeva *et al* 2007)

La actividad antibacteriana de esta solucion comprende un amplio espectro de microorganismos incluyendo *E faecalis* (Almyroudi *et al* 2000 Gomes *et*

al 2001 Lima et al 2003 Lin et al 2003 Sassone et al 2003 Schäfer E Bössmann K 2005) sin embargo para lograr el efecto letal la concentracion debe ser cuando menos al 1% preferentemente al 2% (Balandrano F 2007) Esto coincide con nuestros resultados en la que la CHX al 2% fue el unico capaz de erradicar todas las bacterias tanto de *E faecalis* como de *E faecium* en el test de exposicion directa y en el test de difusion por disco donde se obtuvieron los halos mas grandes Estos resultados fueron estadisticamente significativos segun la prueba de Duncan $p < 0.05$

En cuanto a la CHX al 0.12% como al 0.2% tuvieron la misma efectividad sobre el *E faecalis* eliminando a los 30 minutos el 25% (2 de 8) de las cepas Sobre el *E faecium* sólo la CHX al 0.2% logro eliminar a los 30 minutos el 40% (2 de 5) de las cepas En estos resultados no hubo diferencias estadisticamente significativas en cuanto al uso del CHX al 0.12% y 0.2% ($p < 0.05$)

Sena et al evaluaron la efectividad antimicrobiana de la CHX al 0.2% 1% y 2% en liquido y gel sobre *E faecalis* Determinaron que el tiempo requiendo para la erradicacion total del microorganismo fue inversamente proporcional a la concentracion del mismo así el gel de CHX al 2% detuvo el crecimiento del microorganismo al minuto y el liquido de CHX al 2% necesitó solo 15.30 segundos de contacto para su erradicacion (Diaz Alejandra 2008)

Vianna et al y Gomes et al coinciden en cuanto al tiempo de contacto que se requiere entre la CHX y *E faecalis* para su erradicacion coincidiendo en 30 segundos para su eliminación (Díaz, Alejandra 2008)

En nuestro estudio no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los tiempos de exposición a los diferentes irrigadores

En el test de difusión por disco los resultados de las diferentes sustancias antimicrobianas mostraron tamaños de halos mas grandes con la CHX en las diferentes concentraciones de 0.12% ($X_{E\text{ faecalis}}=19\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=22\text{mm}$) y 0.2% ($X_{E\text{ faecalis}}=17\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=14\text{mm}$) comparados con los promedios de los halos del NaOCl al 5.25% ($X_{E\text{ faecalis}}=15\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=14\text{mm}$) y al 2.5% ($X_{E\text{ faecalis}}=13\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=11\text{mm}$) Sin embargo en la prueba de Duncan no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la NaOCl al 5.25% y la CHX al 0.12% y al 0.2% ($p<0.05$)

Se esperaba que la CHX al 0.2% ($X_{E\text{ faecalis}}=17\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=19\text{mm}$) tuviera un halo mas grande que la CHX al 0.12% ($X_{E\text{ faecalis}}=19\text{mm}$ y $X_{E\text{ faecium}}=22\text{mm}$) pero como se utilizo en gel su difusión fue menor dando halos de menor tamaño Sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la CHX al 0.12% y al 0.2% ($p<0.05$)

Se podria decir que la CHX al 2% en el test de difusión por disco para el *E faecalis* *E faecium* y la cepa control *E faecalis* ATCC resulto en una eficacia mayor de acuerdo al promedio del tamaño del halo que fue de $X=26\text{mm}$ comparado con el halo de $X=15\text{mm}$ del NaOCl al 5.25% Segun la prueba de Duncan existen diferencias estadísticamente significativas entre estos dos irrigantes $P<0.05$

Resulta difícil establecer comparaciones entre ambas metodologias ya que ambas siendo diferentes presentan resultados diferentes Sin embargo

ambas coincidieron en que la CHX al 2% es el antimicrobiano más efectivo en la eliminación de los *Enterococcus spp*

El éxito del tratamiento de endodoncia está estrechamente asociado al control de la microbiota. Sin embargo, no se ha encontrado hasta el momento un antimicrobiano ideal. Por lo que se deben combinar las características de cada uno para combatir la infección.

SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

La sensibilidad a los antibióticos no son considerados como parte del procedimiento de rutina en la terapia endodóntica. Se considera que al eliminar la infección dentro del conducto radicular la infección va remitiendo. Además, el efecto de los antibióticos sistémicos sobre las bacterias que habitan dentro del conducto radicular parece ser escaso por la baja penetración. Sin embargo, en las infecciones endodónticas se han combinado el uso de antibióticos con las medicaciones intraconducto como el hidróxido de calcio y con los cementos selladores para aumentar el espectro antimicrobiano de los mismos (Díaz, Alejandra 2008).

A pesar de esto resulta importante conocer la sensibilidad antibiótica de los *Enterococcus spp* sobre todo de los antibióticos de uso común en Odontología.

Algunos investigadores como Pinheiro *et al* realizaron un estudio donde se evaluó la sensibilidad de *E. faecalis* aislado de conductos radiculares con lesiones periapicales frente a diversos antimicrobianos entre los cuales se encuentran bencil-penicilina, amoxicilina, ácido clavulánico, eritromicina.

azitromicina vancomicina cloranfenicol tetraciclina doxiciclina ciprofloxacina y moxifloxacina Ellos obtuvieron como resultado que cepas aisladas de *E faecalis* fueron completamente sensibles in vitro a la amoxicilina amoxicilina con acido clavulanico vancomicina y moxifloxacina Una menor cantidad de estos microorganismos fueron sensibles al cloranfenicol tetraciclina doxiciclina o ciprofloxacina La eritromicina y la azitromicina fueron los antibióticos menos efectivos (Diaz Alejandra 2008)

E faecalis tiene resistencia intrínseca a algunos antibioticos entre ellos la Tetraciclina pero en nuestro estudio de sensibilidad por Vitek se identificaron cepas con sensibilidad intermedia a la Vancomicina y cepas resistentes a la Tetraciclina dos cepas de *E faecalis* y dos de *E faecium* Por lo que es importante recordar que el *E faecalis* puede adquirir genes de resistencia a traves de la transferencia por plasmidos o transposones (Suchitra U Kundabala M 2005)

En la prueba de difusion por disco hubo sensibilidad a la amoxicilina y a la amoxicilina mas acido clavulánico no así con la Eritromicina que dio una sensibilidad intermedia en la mayoría de las cepas A pesar de que la Amoxicilina y Amoxicilina/acido clavulanico no son los antibioticos recomendados por la CLSI se realizó la prueba con estos antibioticos ya que son los de primera linea en infecciones pulpares

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- 1 Los irrigadores de uso endodóntico como el NaOCl y la CHX resultaron eficaces en la eliminación *in vitro* del *Enterococcus spp*
- 2 La CHX al 2% eliminó en un 100% las bacterias obtenidas de los conductos radiculares tanto con el test de exposición directa como el de difusión por disco
- 3 La CHX al 0.12% y al 0.2 fueron eficaces pero con una acción antimicrobiana menor que la del 2%
- 4 El NaOCl al 2.5% y al 5.25% tuvo una eficacia antimicrobiana menor a la del CHX al 2% estadísticamente no significativas comparados con la CHX al 0.12% y al 0.2%
- 5 *Enterococcus spp* se demostró en los conductos con patologías pulpares hallazgo importante al considerar los irrigadores de uso endodóntico en la infección primaria y en las reinfecciones
- 6 La CHX actuó a los 5 minutos de aplicado seguido del NaOCl al 5.25% a los 30 minutos
- 7 Los antibióticos para erradicar al *Enterococcus spp* fueron la Amoxicilina Amoxicilina/ácido clavulánico y la Clindamicina
- 8 *Enterococcus spp* fue resistente a la Tetracilina y a la Ertromicina

RECOMENDACIONES

- 1 **Evaluar con ambientes reales la efectividad antimicrobiana de los irrigadores estableciendo condiciones lo mas parecido posible a los conductos radiculares dentales con infecciones pulpares**
- 2 **Recomiendo utilizar de manera intercalada CHX al 2% con el NaOCl al 5 25% por su capacidad de disolver tejidos organicos dentro del conducto lo que favorece su limpieza inicial**
- 3 **Evitar el uso de cementos o medicamentos como los que estan a base de CaOH₂ que favorezcan la reproducción del *Enterococcus spp* dentro del conducto**
- 4 **Utilizar el dique de goma para evitar la contaminacion con el medio oral**
- 5 **Tomar muestras microbiologicas en piezas dentales con infecciones recurrentes lesiones periapicales entre otros**
- 6 **Cuando sea posible tomar una muestra antes de sellar para evaluar si se ha eliminado la infección del conducto**
- 7 **Al evaluar la acción de los antimicrobianos tomar en cuenta la ubicacion del microorganismo (si esta ubicado en la superficie del conducto radicular dentro de los tubulos dentinarios o en las capas mas profundas)**

8 Sugiero como guía de irrigacion utilizar el NaOCl al 5 25% y al final de la irrigacion hacerlo con CHX al 2% Si hay que dejar medicación puede ser CHX al 2% y no mezclar sustancias

9 Dejar medicación de CHX al 2% en caso de conductos radiculares que tuvieron exposicion pulpar al medio oral o con caries extensas

10 Se recomiendan pruebas de sensibilidad antibiotica en los casos de resistencia a tratamientos

11 Recomendar los siguientes parametros

Utilizar hipoclorito de sodio al 5 25% con las precauciones debidas

Utilizar entre citas una medicación a base de clorhexidina al 2%

Utilizar clorhexidina al 2% como irrigacion final de cada cita luego de varias irrigaciones con hipoclorito de sodio al 5 25%

12 Se recomienda que si utiliza dos soluciones nunca deberan mezclarse su uso debe ser por etapas bien definidas como es eliminar la solucion anterior antes de utilizar la siguiente ya sea irrigando con agua destilada y secando con alcohol al 95%

13 En cuanto a pacientes alergicos a la penicilina no seria recomendable utilizar Entromicina ya que los resultados fueron de una sensibilidad intermedia se sugenna mejor la utilización de Clindamicina ya que el *Enterococcus spp* resulto sensible a este antibiótico

BIBLIOGRAFIA

AGUILAR T (2004) *Aspectos Microbiologicos de la Penodontitis Apical Cronica Persistente Disponible en*
http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_41.htm Consultado el 14 de julio de 2007

ALVAREZ J L AGUILAR M CANALES P E REYES E (2006) *Irrigantes Efectos sobre el tejido dental y Periapical Consultado el 20 de julio de 2008 Disponible en*
http://javeriana.edu.co/Facultades/Odontologia/posgrados/acadendo/art_revision/revision_2006/i_a_revision40.html

AZUERO MARIA MERCEDES (2009) *La Biopelícula un enemigo microscópico Canal Abierto Revista de la Sociedad de Endodoncia de Chile No 19 Disponible en* <http://www.socendochile.cl/19.pdf> Consultado el 26 de julio de 2009

BALANDRANO PINAL FRANCISCO (2007) *Soluciones para irrigación en Endodoncia Hipoclorito de sodio y Gluconato de clorhexidina Revista CCDCR Vol 3 No 1 Abril Disponible en* www.colegiodontistas.org Consultado el 20 de agosto de 2009

BALTO H (2002) *An Assessment of Microbial Coronal Leakage of Temporary Filling Materials in Endodontically Treated Teeth J Endod 28(11) 762-764*

BAUMGARTNER J C WATTS CH XIA T (2000) *Occurrence of Candida albicans in infections of Endodontic Origin J Endod 26(12) 695-698*

BUCK J CAI P ELEAZER, R STAAT H HURTS H (2001) *Detoxification of endotoxin by endodontic irrigants and calcium hydroxide J Endod 27(5) 325-327*

CAVIEDES B J MENESES J P (2006) *Problematika del conducto abierto a la Cavidad Oral Academia Javeriana de Endodoncia Disponible en*
http://www.javeriana.edu.co/academiapaggendodoncia/i_a_revision22.html
 Consultado el 20 de marzo de 2008

D ARCANDELO C VARVARA G DE FAZIO P (1999) *An evaluation of the action of different root canal irrigants on facultative aerobic-anaerobic obligate anaerobic and microaerophilic bacteria J Endod 25(5) 351-3*

- DÍAZ ALEJANDRA (2008) Aspectos relevantes de *Enterococcus faecalis* y su participación en las infecciones de origen endodóntico Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_55.htm Consultado el 15 de julio de 2009
- DISTEL J HATTON J GILLESPIE M (2002) Biofilm formation in medicated root canals *J Endod* 28(10) 689-93
- ESTRELA C ESTRELA C.R.A. BARBIN EL SPANO J.C.E. MARCHESAN M.A. PECORA J.D. (2002) Mechanism of action of sodium hypochlorite *Braz Dent J* 13(2) 113-7
- ESTRELA C RIBEIRO R.G. ESTRELA C.R.A. PECORA J.D. SOUSA NETO M.D. (2003) Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods *Braz Dent J* 14(1) 58-62
- ESTRELA CARLOS SILVA JULIO ALMEIDA ALENCAR ANA HELENA GONÇALVES DE LELES CLAUDIO RODRIGUES DECURCIO DANIEL ALMEIDA (2008) Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: a systematic review *J Appl Oral Sci* 16(6) 364-368 Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-77572008000600002&lng=en doi: 10.1590/S1678-77572008000600002 Consultado en 10 de septiembre de 2009
- FERRARI P.H.P. CAI S. BOMBANA A.C. (2005) Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections *IntEndodJ* 38(6)372-380
- FERREIRA M. (2006) Medicación Intraconducto Empleada en la Terapia Endodóntica de Dientes con Necrosis Pulpar Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_47.htm Consultado julio 2008
- FACKLAM R. SAHM D. TEIXEIRA L. (1998) Manual of Clinical Microbiology *Enterococci* Chapter 18 7th Edition ASM Press Washington D.C.
- GOMES B.P.F.A. PEDROSO J.A. JACINTO R.C. VIANNA M.E. FERRAZ, C.C.R. ZAIA, A.A. SOUZA FILHO F.J. (2004) In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers *Braz Dent J* 15(1) 30-35
- GUNDEL SVENSATER Y GUNNAR BERGENHOLTZ (2004) Biopelículas en las infecciones endodónticas. *Endodontic Topics* 19 24-36

HANCOK H SIGUDSSON A, TROPE M MOISEIWITSCH J (2001) Bacteria isolated unsuccessful endodontic treatment in a North American population *O Surg O Patho O Radio O Endod* 91(5) 579-586

HERVE E B y PORTE T L a (2007) *Enterococcus* sp Parte I *Rev chil infectol* [online] vol 24 no 4 p 311-312 Disponible en <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000400009&lng=es&nrm=iso> ISSN 0716-1018 Consultados julio 2007

HERVE E B y PORTE T L b (2007) *Enterococcus* sp Parte II *Rev chil infectol* [online] vol 24 no 4 p 311-312 Disponible en <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182007000400009&lng=es&nrm=iso> ISSN 0716-1018 Consultados julio 2007

HUBBLE T S HATTON J F NALLAPAREDDY S R MURRAY B E GILLESPIE M J (2003) Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein Ace on adhesion to dentin *Oral Microbiology & Immunology* 18(2) 121-126

INGLE J BAKLAND L (2004) *Endodoncia* 5a ed Mc Graw Hill Interamericana Mexico Capítulo 3 pags 63-93

Inza M G (2004) Medicación Intradentaria Intermedia en Tratamientos de Conductos Consultado en Julio de 2008 Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_38.htm

ISENBERG HENRY 2004 *Clinical Microbiology Procedures Handbook* 2a ed ASM press

JAQUEZ E Y MARCANO M (2001) Una Visión Actualizada del Uso del Hipoclorito de Sodio en Endodoncia Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_18.htm Consultado el 11 de abril de 2007

KAYA OGLU GÜVEN ORSTAVIK DAG (2004) Virulence factors of *Enterococcus faecalis* relationship to endodontic disease *Crit Rev Oral Biol Med* 15(5) 308-320

KURUVILLA J R KAMATH P (1998) Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined endodontic irrigants *J Endod* 24(7) 472-476

LIMA K FAVA L SIQUEIRA J (2001) Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications *J Endod* 2001 27(10) 616-9

LIEBANA UREÑA J (2002) *Microbiología Oral* 2ª ed McGraw Hill Interamericana 677 pags

LÓPEZ MARCOS JF (2004) Etiología clasificación y patogenia de la patología pulpar y periapical *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004 9 Suppl S52-62

MEDINA K (2001) Visión Actualizada de la Irrigación en Endodoncia Mas Alla del Hipoclorito de Sodio Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadooid/odontoinvitado_19.htm Consultado el 23 de abril de 2007

MERINO R GUILARTE C PARDI G (2007) Actualización taxonomica de la microbiota implicada en infecciones endodónticas Revisión bibliográfica *Acta odontol venez* v 45 n 3 Caracas sep Disponible en http://www.scielo.org/ve/scielo.php?pid=S000163652007000300033&script=sci_arttext Consultado en julio 20 de 2009

MURRAY BE (1990) The life and times of the *Enterococcus* *Clin Microbiol Rev* 3(1) 46-65

MURRAY PATRICK et al (1999) *Manual of Clinical Microbiology* 7a ed American Society of Microbiology 1173 pags

NAIR PN HENRY S CANO V VERA J (2005) Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after one-visit endodontic treatment *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 99 (2) 231-252

ONCAG O HOSGOR M HILMIOGLU S ZEKIOGLU O ERONAT C BURHANOGLU D (2003) Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants *Int Endod J* 2003 36(6) 423-32

PARDI G GUILARTE C CARDOZO E I BRICENO E N (2009) Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico VOLUMEN 47 N° 1 Disponible en http://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/enterococcus_faecalis_dientes_fracaso_tratamiento_endodontico.asp Consultado el 31 de agosto de 2009

PINHEIRO ET GOMES BP FERRAZ, C SOUSA E L TEIXEIRA F B SOUZA-FILHO F J (2003) Microorganisms from canals of root filled teeth with periapical lesions *Int Endod J* 36(1) 1 11

PIRANI CHIARA, BERTACCI ANGELICA CAVRINI FRANCESCA FOSCHI FEDERICO ACQUAVIVA GIOVANNI LUCA PRATI CARLO SAMBRI VITTORIO (2008) Recovery of *Enterococcus faecalis* in root canal lumen of patients with primary and secondary endodontic lesions *New Microbiologica* 31 235-240

RADEVA E INDJOV B VACHEVA R (2007) In vitro study of the effectiveness of intracanal irrigants of *Candida albicans* *Journal of IMAB Annual Proceeding (Scientific Papers) book 2*

SASSONE L M FIDEL R A S FIDEL S R DIAS M HIRATA J R (2003) Antimicrobial Activity of Different Concentrations of NaOCl and Chlorhexidine Using a Contact Test *Braz Dent J* 14(2) 99 102

SANCHEZ VERONICA, CASTILLO S AURENIS Y LEIBUNDGUT C ÁMBAR NAVA SUSANA PÉREZ MARIA E SANCHEZ P MARIHUG DEL P SAYAGO YURITZA (2008) Evaluacion de la efectividad antimicrobiana del uso conjunto de puntas de hidróxido de calcio y clorhexidina al 2% e hidróxido en la desinfección de conductos durante el retratamiento endodóntico Disponible en http://www.odontologiaonline.com/verarticulo/Evaluacion_de_la_efectividad_antimicrobiana_del_uso_conjunto_de_puntas_de_hidroxido_de_calcio_y_clorhexidina_al_2%25_e_hidroxido_en_la_desinfeccion_de_conductos_durante_el_retratamiento_endodontico.html Consultado el 28 de septiembre de 2009

SIQUEIRA M BATIST M FRAGA R UZEDA M (1998) Antibacterial effects of endodontic irrigants on black pigmented Gram negative anaerobes and facultative bacteria *J Endod* 23(6) 414

SIQUEIRA I ROÇAS H LOPES J (2002) Patterns of microbial colonization in primary root canal infections *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology & Endodontics J* 93(2) 174 – 178

SIQUEIRA J ROCAS I (2004) Polymerase chain reaction–based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97 85 94

SMADI L MAHAFZAH A KHRAISAT A. (2008) An *In vitro* Evaluation of the Antimicrobial Activity of Nine Root Canal Sealers *J Contemp Dent Pract* July (9)5 060-067

SPÄNGBERG L (2004) Controversies in Endodontics *Crit Rev Oral Biol Med* 15(2) 99 114

SPÅNGBERG L. 2004 *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* Vol 97 No 1 January

SOARES I Y GOLDBERG F (2002) *Endodoncia Técnicas y Fundamentos* (1ª ed) Editorial Medica Panamericana (pp 16 17) Buenos Aires Argentina

SPANO JC BARBIN EL SANTOS TC GUIMARAES LF PECORA JD (2001) Solvent action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid *Braz Dent J* 12 154-157

SUCHITRA U KUNDABALA. M (2005) *Enterococcus faecalis* An Endodontic Pathogen *ENDODONTOLOGY* Disponible en <http://medind.nic.in/eaat06/i2/eaat06i2p11.pdf> Consultado el 9 de septiembre de 2009

VAHDATY A PITT FORD TR WILSON RF (1993) Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules *in vitro* *Endod Dental Traumatol* 1993 9 243-248

VIANNA M GOMES B BERBER V ZAIA A FERRAZ DE SOUZA FILHO F (2004) *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 97 79-84

VILLASANA, A. (2002) Patología Pulpar y su Diagnóstico Disponible en http://www.carlosboveda.com/Odontologosfolder/odontoinvitadoold/odontoinvitado_24.htm Consultado el 5 de febrero 2008

WALTIMO T SIREN E TORKKO H OLSEN I HAAPASALO M (1997) Fungi in therapy resistant apical periodontitis *Int Endod J* Mar 30(2) 96-101

WALTIMO T SEN B MEURMAN J ORSTAVIK D HAAPASALO M (2003) Yeast In Apical Periodontitis *Critical Rev Oral Biol Med* 14(2) 128 137

WALTON TORABINEJAD (1997) *Endodoncia Principios y Practica* 2ª ed McGraw-Hill Interamericana 601 pags

Anexos

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS CLINICOS

INSTITUCION _____ MUESTRA No _____

Nombre _____ Cedula _____

Edad _____

Direccion _____

- 1 Diagnóstico _____
- 2 Radiografía inicial del estudio _____
- 3 Hallazgos radiograficos _____
- 4 Historia de dolor _____
- 5 Terapéutica utilizada. _____
- 6 Características clínicas de la pieza dental
 - Fractura de corona _____
 - Extensión de la caries _____
- 7 Característica del conducto _____
- 8 Presencia de lesión periapical _____

HOJA DE RESULTADOS

- 1 Cultivo Agar Biliesculina. _____
- 2 Pruebas VITEK.
- 3 Resultados de las diferentes sustancias
 - Clorhexidina
 - 0.12% _____
 - 0.2% _____
 - Hipoclorito de Sodio
 - 2.5% _____
 - 5.25% _____

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO

Yo _____ con cédula de identidad personal _____, doy mi consentimiento para que se tome una muestra del conducto que sera analizada en el estudio

Eficacia antimicrobiana de los irrigadores endodónticos y la terapia antibiotica sobre el *Enterococcus spp* in vitro de pacientes con patología pulpar en Panama que ha de realizarse en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Odontologia de la Universidad de Panamá
Las muestras y los datos clínicos obtenidos se mantendrán en total anonimato ya que todas las personas involucradas en la investigacion guardaran estricta confidencialidad de los resultados obtenidos

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL CHX AL 0 125 0 2% Y 2% Y EL NaOCl AL 2 55 Y 5 25% SOBRE EL *E faecalis*

Se utilizó el programa SPSS para el análisis estadístico con ANOVA y las pruebas de diferencias se realizó con la prueba de Tuckey y Duncan para un nivel de significancia del 95% siendo la $p < 0.05$

1 TEST DE DIFUSION POR DISCO

Se realizó una prueba de comparación de promedios para muestras independientes para comparar los promedios de los tamaños del Halo de inhibición para las concentraciones de antimicrobianos al 2 5% y 5 25% de NaOCl obteniendo los siguientes resultados

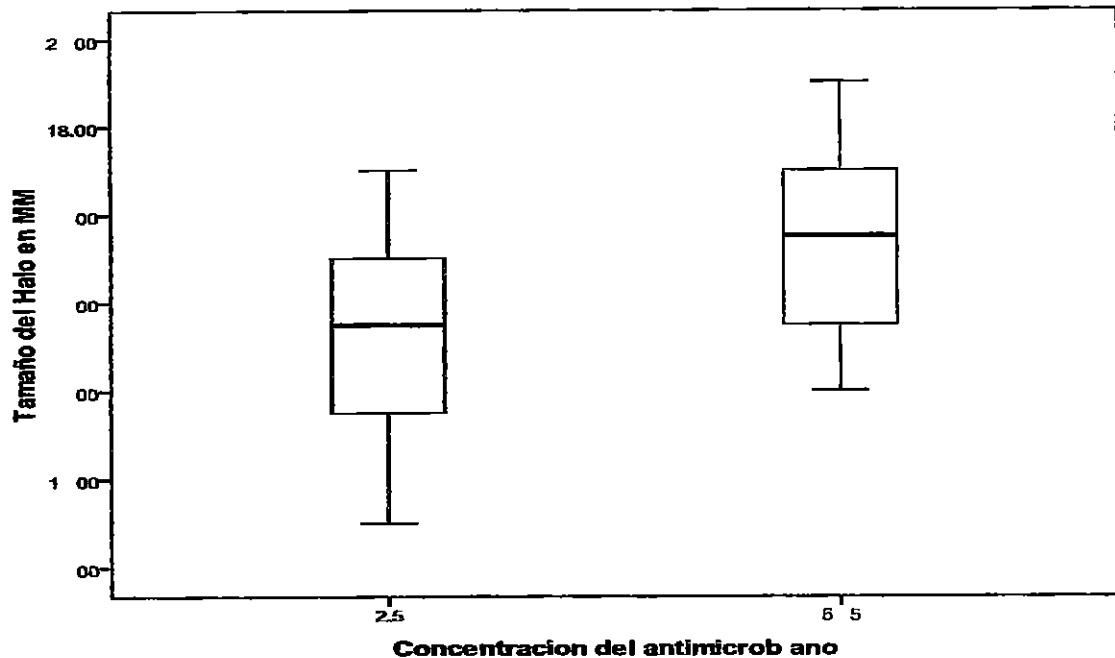
Tabla 1 Estadísticos descriptivos para el tamaño del Halo de inhibición a las concentraciones de antimicrobiano del NaOCl al 2 5% y 5 25%

E. faecalis

Concentración de antimicrobiano	N	Mean	Std Deviation	Variancia	Minimum	Maximum
2 5%	8	13 2500	2 60494	6 786	9 00	17 00
5 25 %	8	15 3750	2 44584	5 982	12 00	19 00
Total	16	14 3125	2 67628	7 162	9 00	19 00

Donde se observa un mayor promedio para la concentración de 5 25% el gráfico de caja nos muestra una leve diferencia en los promedios de los tamaños de los halos de inhibición

Gráfica 1 Diagrama de caja del tamaño del halo de inhibición a las concentraciones de antimicrobiano de 2 5% y 5 25% de NaOCl *E faecalis*



Para determinar que no existe diferencia entre los promedios del tamaño del halo de inhibición del NaOCl al 2.5% y al 5.25% se realizó una prueba de promedios para muestras independientes con los siguientes resultados

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-Test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
halo	Equal variances assumed	.041	.832	-1.822	14	.115	-2.12500	1.26332	-4.83456	.58456
	Equal variances not assumed			-1.822	13.945	.115	-2.12500	1.26332	-4.83456	.58456

Como el valor de la significancia es mayor a 5% significancia $p = 0.115$ aceptamos la hipótesis que no existe diferencia entre los promedios del tamaño de los halos de inhibición del NaOCl al 5.25% comparado con el NaOCl al 2.5%

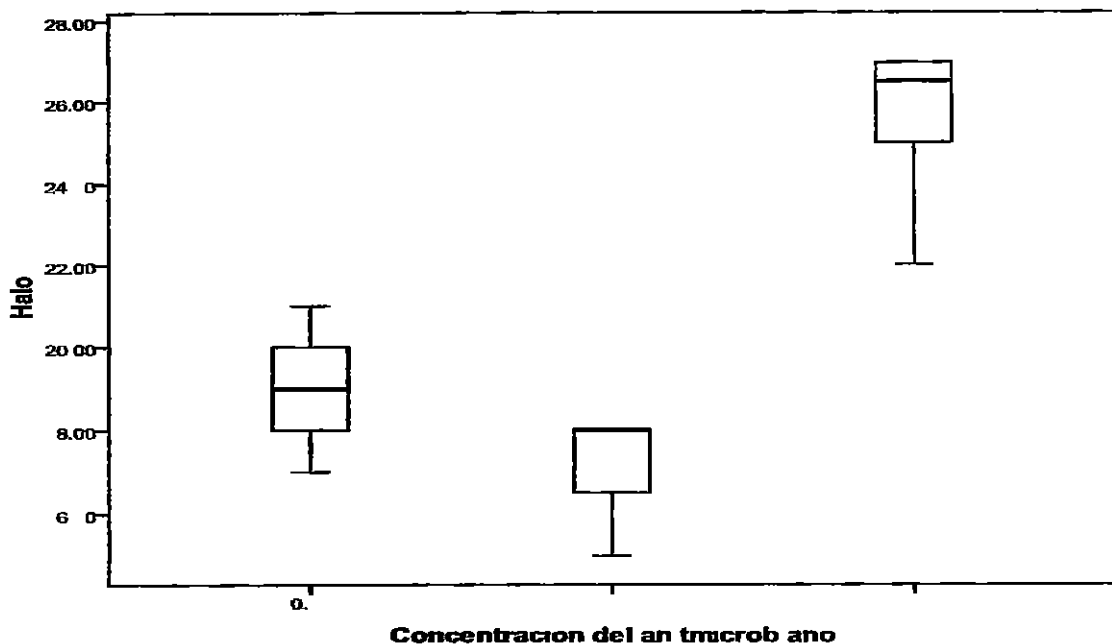
Tabla 2 Estadísticos descriptivos del tamaño de los halos de inhibición en concentraciones de CHX al 0.12% 0.2% y 2% sobre el *E. faecalis*

Antimicrobiano	N	Mean	Std Deviation	Variance	Minimum	Maximum
0.12%	8	19.0000	1.30931	1.714	17.00	21.00
0.2%	8	17.2500	1.16496	1.357	15.00	18.00
2%	8	25.7500	1.75255	3.071	22.00	27.00
Total	24	20.6667	3.98548	15.884	15.00	27.00

En la tabla anterior vemos que el promedio del tamaño del halo de inhibición de la CHX al 2% es diferente a las otras dos concentraciones al 0.12% y al 0.2% aunque no se observa mucha diferencia promedio en la variabilidad.

En la grafica 2 vemos la comparación de los promedios por medio del gráfico de caja.

Grafica 2 Diagrama de caja del promedio de halo de inhibición en las concentraciones de CHX 0.12% 0.2% y 2% *E. faecalis*



Para comprobar la diferencia entre los promedios de las diferentes concentraciones de CHX, se aplico un analisis de varianza para comprobar que la varacion se debia a la concentracion de CHX utilizado

Tabla 3 Analisis de varianza para el promedio del tamaño de halo de inhibicion para la concentracion de CHX 0 2% 0 12% y 2% sobre el *E faecalis*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig
Between Groups	322.333	2	161.167	78.709	.000
Within Groups	43.000	21	2.048		
Total	365.333	23			

A un nivel de significancia del 5% concluimos que existe diferencia entre los promedios de los tamaños del halo de inhibición entre las concentraciones de CHX ($p < 0.05$) Ahora bien para comprobar cuales promedios son diferentes se aplicó una prueba de comparación de promedios (prueba de Tukey y Duncan) obteniendo lo siguiente

Tabla 4 Prueba de comparación múltiples de promedios del tamaño de los halos de inhibición para las diferentes concentraciones de CHX 0 12% 0.2% y 2% sobre el *E faecalis*

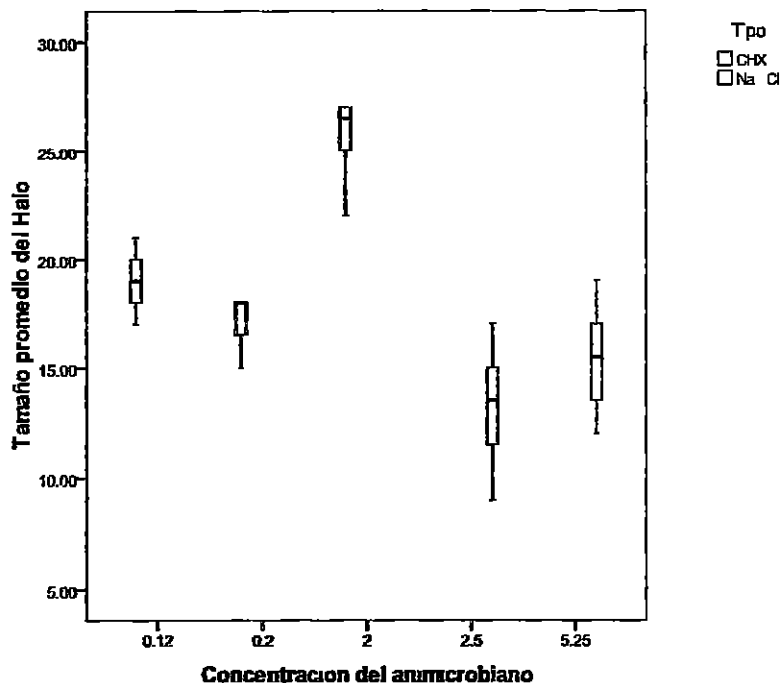
	ANTI MICR OBIA NO	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD	0.2	8	17.2500		
	0.12	8	19.0000		
	2	8		25.7500	
	Sig		.058	.000	
Duncan	0.2	8	17.2500		
	0.12	8		19.0000	
	2	8			25.7500
	Sig		.000	.000	.000

La prueba de promedios concluye que los promedios de los tamanos de los halos de inhibición a las concentraciones de CHX al 0.2% y al 0.12% resultaron estadísticamente iguales no así la CHX al 2% el cual resulto estadísticamente diferente comparado con las concentraciones anteriores

Finalmente al comparar los promedio del tamaño del halo en los dos tipos de antimicrobianos en un modelo de bloques al azar donde consideramos los bloques los tipos de antimicrobiano y las diferentes concentraciones como los tratamientos y la variable dependiente el tamaño del halo en promedio

Al realizar esta prueba encontramos diferencias significativas entre los promedios de las concentraciones de los dos antimicrobianos. Pero en particular el que resulto significativamente diferente a todos los demas fue al 2% de CHX ($p < 0.05$) como lo vemos en la Gráfica de caja siguiente

Grafica 3 Diagrama de caja de los promedios del tamaño de halo de inhibición de la CHX al 0.12%, 0.2% y 2% y NaOCl Al 2.5% y 5.25% sobre el *E. faecalis*



2 TEST DE EXPOSICION DIRECTA *E faecalis*

Tabla 5 Análisis de varianza del numero de tubos sin turbidez en los dos tipos de antimicrobianos (CHX en las concentraciones de 0 12% 0 2% y 2 % y el NaOCl al 2 5% y al 5 25%) *E faecalis*

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig
Model	236 067 ^a	7	33 724	38 912	000
tiempo	1 733	2	867	1 000	410
concentracion	65 556	3	21 852	25 214	000
Tipo	000	0			
Error	6 933	8	867		
Total	243 000	15			

a R Squared = 971 (Adjusted R Squared = 947)

A un nivel de significancia del 5% concluimos que no existe diferencia significativa entre los tiempos de exposicion al antimicrobiano ni tampoco entre los tipos de antimicrobianos no así entre las concentraciones porque la prueba de comparación múltiple nos indica que la concentracion de 2% de CHX es estadísticamente diferente a todas las demas concentraciones

Tabla 6 Prueba de comparación múltiple de Duncan para el numero de tubos sin turbidez Eficacia antimicrobiana sobre el *E faecalis*

Concentracion	N	Subset	
		1	2
0 2	3	1 6667	
2 5	3	2 0000	
0 12	3	2 3333	
5 25	3	2 6667	
2 00	3		7 6667
Sig		690	1 000

Vemos que a la concentracion de CHX al 2% se tiene en promedio casi 8 tubos sin turbidez todo esto a un nivel de significancia del 5% No así los demas irrigadores en que no hay diferencia significativa entre el numero de tubos sin turbidez expuestos con CHX al 0 12% 0 2% y NaOCl al 2 5% y 5 25%

ANALISIS ESTADISTICO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL CHX AL 0.125 0.2% Y 2% Y EL NaOCl AL 2.55 Y 5.25% SOBRE EL *E faecium*

1 TEST DE EXPOSICION DIRECTA.

Tabla 7

Analisis de varianza de la eficacia antimicrobiana del CHX al 0.12% 0.2% y 2% y NaOCl a 2.5% y 5.25% sobre el *E faecium* en los tiempos de 5, 15 y 30 minutos de exposicion

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Model	89.600 ^a	7	12.800	42.667	.000
tiempo	.933	2	.467	1.556	.269
concentracion	40.389	3	13.463	44.877	.000
Tipo	.000	0			
Error	2.400	8	.300		
Total	92.000	15			

a. R Squared = .974 (Adjusted R Squared = .951)

Vemos a un nivel de significancia del 5% que existe diferencia estadisticamente significativa sobre las concentraciones de los antimicrobianos, no así sobre los tiempos de exposición.

Tabla 8 Prueba de comparacion multiple de promedios del numero de tubos sin turbidez luego de la exposici3n a CHX al 0 12% 0 2% y 2% y NaOCl a 2 5% y 5 25% sobre el E faecium en los tiempos de 5 15 y 30 minutos

Concentraci on	N	Subset	
		1	2
0 12	3	0000	
5 25	3	1 0000	
0 2	3	1 3333	
2 5	3	1 3333	
2 0	3		5 0000
Sig		095	1 000

Vemos que con la CHX al 2% el numero promedio de tubos con ausencia de turbidez es de 5 el cual es estadisticamente diferente a todos las demas concentraciones de CHX No hubo diferencias estadisticamente significativas en el promedio del numero tubos sin turbidez con la CHX al 0 12% al 0 2% y el NaOCl al 2 5% y al 5 25%

2 TEST DE DIFUSI3N POR DISCO

A un nivel de significancia del 5% se encontro que existe diferencia significativa entre los tama1os de los halos de inhibicion utilizando las concentraciones de CHX al 2% comparado con los demas irrigadores CHX al 0 12% 0 2% y NaOCl al 2 5% y 5 25% Ver tabla 9

Tabla 9 Análisis de varianza del tamaño de halo de inhibición con los antimicrobianos CHX 0.12%, 0.2% y 2% y NaOCl en las concentraciones de 2.5% y 5.25% sobre el *E. faecium*

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Model	10237.600 ^a	5	2047.520	598.690	.000
Antimicrobiano	.000	0			
Concentración	266.233	3	88.744	25.949	.000
Error	68.400	20	3.420		
Total	10306.000	25			

a R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .992)

Para determinar cual concentración es diferente se realizó una prueba de Tukey de comparación múltiple de promedios obteniendo los siguientes resultados

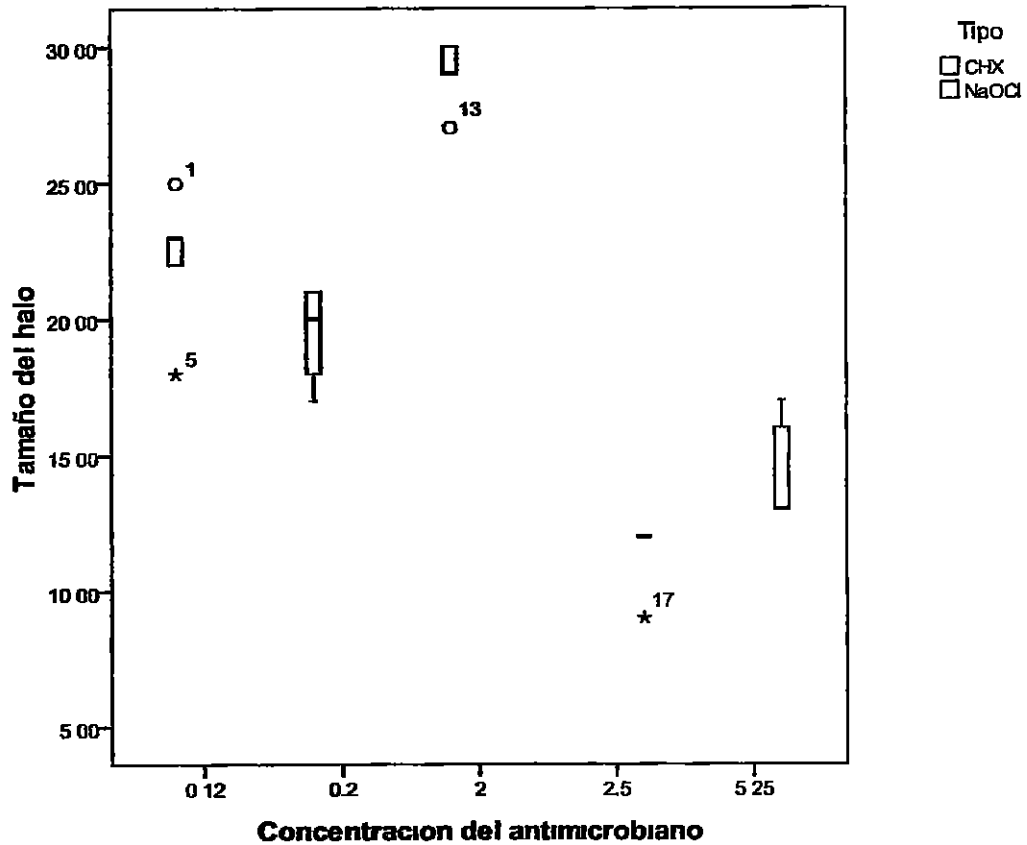
Tabla 10 Prueba de comparación de promedios de Tukey *E. faecium*

Concentración de antimicrobiano	N	Subset		
		1	2	3
2.5	5	11.4000		
5.25	5	14.4000		
0.2	5		19.4000	
0.12	5		22.2000	
2	5			29.0000
Sig.		.116	.158	.1000

La prueba de Tukey muestra que las concentraciones de NaOCl al 2.5 y 5.25% producen promedios de tamaño de halos iguales lo mismo se obtiene para las concentraciones de CHX al 0.2% y 0.12% los cuales producen promedios de tamaños de halos de 19.4mm y 22.2 mm por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado la concentración de CHX al 2% sí produce diferencia significativa en cuanto al

promedio del tamaño del halo de inhibición siendo de 29 mm resultando en una mayor efectividad antimicrobiana

Gráfica 4 Diagrama de caja del promedio del tamaño del halo de inhibición en los diferentes concentraciones de antimicrobianos sobre el *E faecium*



ANALISIS ESTADISTICO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS DIFERENTES IRRIGADORES ENDODONTICOS CHX al 0.12%, 0.2% y 2.5% y NaOCl al 2.5% y 5.25% SOBRE EL *E faecalis*, *E faecium* y *E faecalis* ATCC(cepa control) TEST DE DIFUSION POR DISCO

Tabla 11 Analisis de varianza del promedio del tamaño del halo de inhibición en las bacterias *E faecalis*, *E faecium* y *E faecalis* ATCC utilizando el CHX al 0.12%, 0.2% y 2.5% y NaOCl al 2.5% y 5.25%

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Model	6058.467 ^a	7	865.495	260.953	.000
Bacterias	26.800	2	13.400	4.040	.061
concentracion antimicrobiano	94.667	3	31.556	9.514	.005
Error	26.533	8	3.317		
Total	6085.000	15			

a R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .992)

A un nivel de significancia del 5% vemos que no existe diferencia entre el efecto antimicrobiano sobre los diferentes *Enterococcus spp*

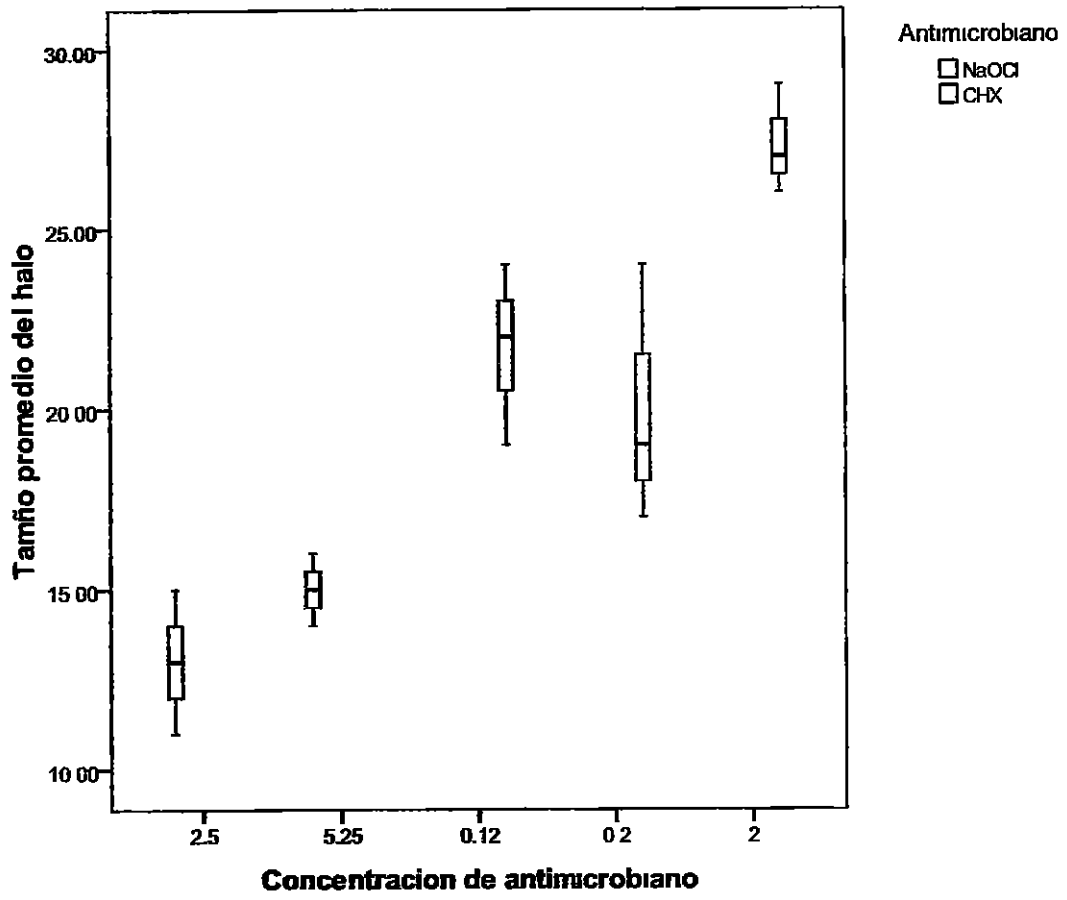
En la tabla 12 se observa los resultados de la prueba de Tukey de comparación múltiple donde vemos que el promedio del tamaño del halo a la concentración de 2% de CHX es significativamente diferente en comparación con las demás concentraciones de CHX. No se observan diferencias estadísticamente significativas sobre el promedio de los halos entre la CHX al 0.12%, 0.2% y el NaOCl al 2.5% y al 5.25%

Tabla 12 Resultados de la prueba de comparacion de promedios de Tukey para el tamaño del halo del inhibición de CHX al 0 12% 0 2% y 25 y NaOCl al 2 5% y 5 25%

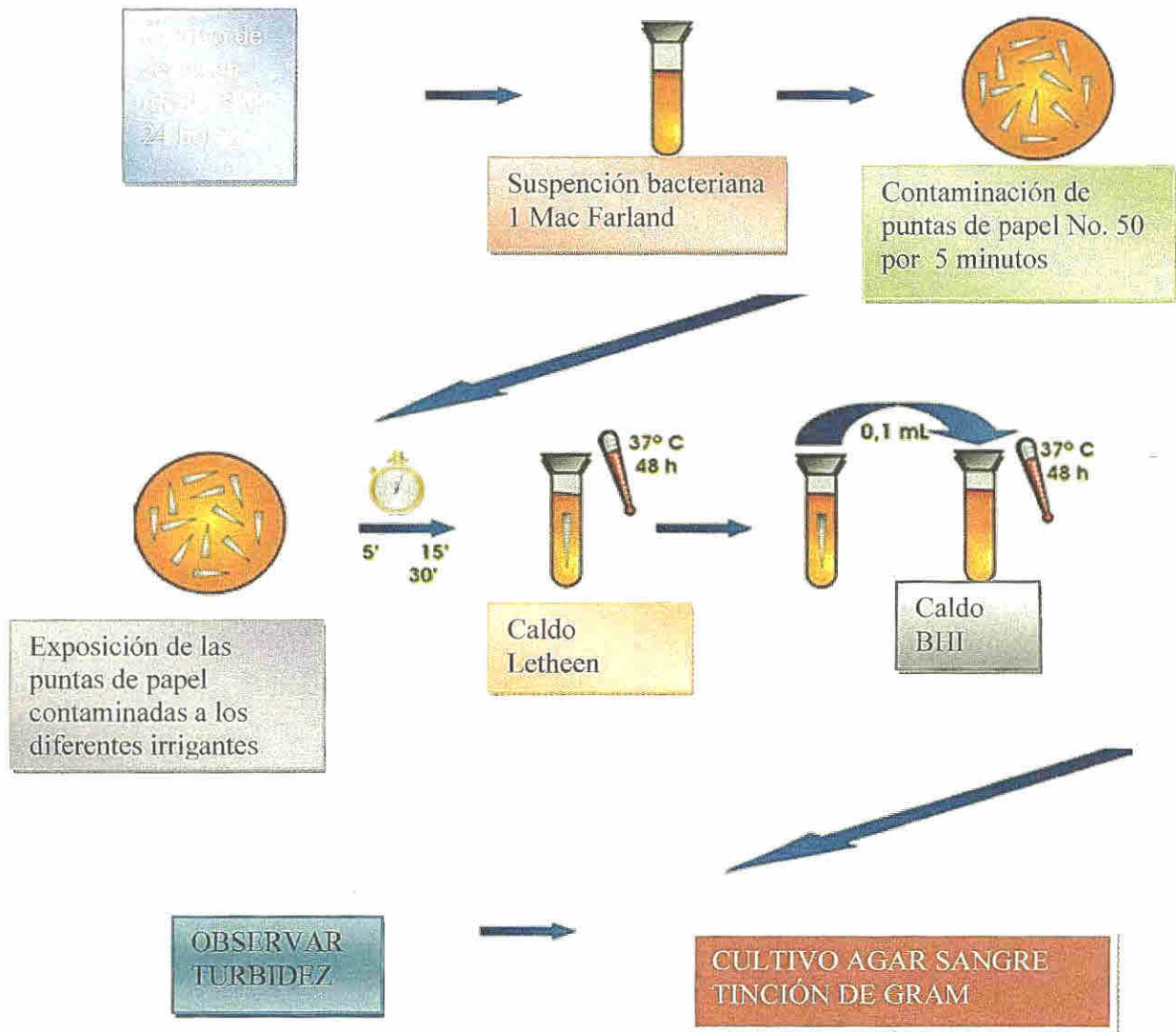
concentracion	N	Subset			
		1	2	3	4
2 5	3	13 0000			
5 25	3	15 0000	15 0000		
0 2	3		20 0000	20 0000	
0 12	3			21 6667	
2	3				27 3333
Sig		674	057	792	1 000

Vemos que a un concentracion de 2% es significativamente diferente en comparacion con las concentraciones de 2 5 5 25 0 2y 0 12% Ver grafica 5

Grafica 5 Diagrama de Caja del promedio de halos de inhibicion de CHX al 0 12% 0 2% y 25 y NaOCl al 2 5% y 5 25% SOBRE EL *E faecalis* *E faecium* y *E faecalis* ATCC(cepa control)

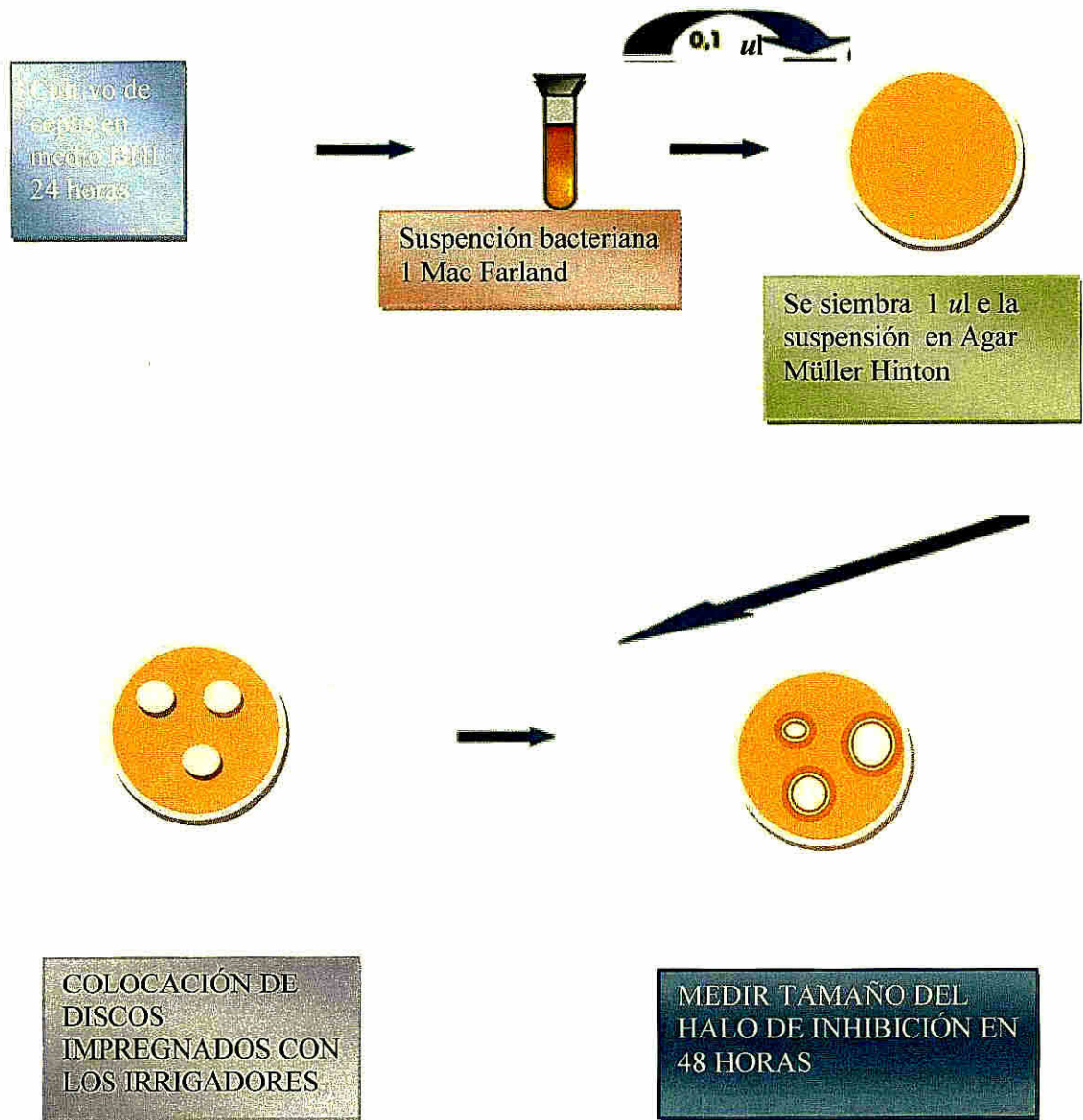


FLUJOGRAMA TECNICA DE EXPOSICIÓN DIRECTA



Referencia del Dr. Carlos Estrela

FLUJOGRAMA TECNICA DE DIFUSIÓN POR DISCO



Referencia del Dr. Carlos Estrela.