



**“*Enterococcus faecalis* como indicador de contaminación de las limas K
de instrumentación de endodoncia en una clínica dental universitaria” –
Prueba piloto**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de Microbióloga
Industrial**

Silvana Fiorella Gómez Sánchez: ID 00020041226

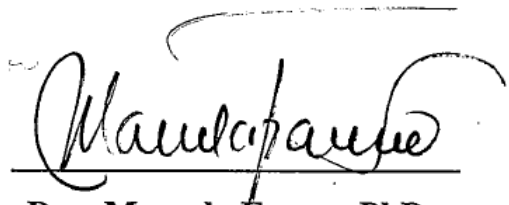
Viviana Alexandra Segura Morales: ID 00020037930

**Hugo Díez, PhD – Dpto de Microbiología
Director**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ
1610**



**“*Enterococcus faecalis* como indicador de contaminación de las limas K
de instrumentación de endodoncia en una clínica dental universitaria” –
Prueba piloto**



Dra. Marcela Franco, PhD

Directora

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ
1610**



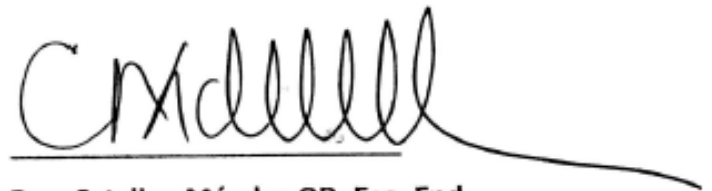
**“*Enterococcus faecalis* como indicador de contaminación de limas K de instrumentación de endodoncia en una clínica dental universitaria” –
Prueba piloto**



Dr Hugo Díez O, PhD

Director trabajo

Facultad de Ciencias



Dra. Catalina Méndez, OD, Esp. End

Par evaluador

Facultad de Odontología

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ
1610**





NOTA DE ADVERTENCIA

ARTICULO 23 DE LA RESOLUCION N° 13 DE JULIO DE 1946

“La Universidad NO se hace responsable por los conceptos emitidos por sus estudiantes en sus Trabajos de Tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica, y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar queremos dar las gracias a Dios por ser ese ser poderoso que nos dio la sabiduría, fortaleza, paciencia y sostén en los momentos difíciles.

Al Doctor Hugo Diez por guiarnos y darnos su apoyo, paciencia y comprensión en el transcurso de este trabajo.

A nuestros padres, quienes fueron las personas que nos brindaron un apoyo y amor incondicional en el proceso de nuestra formación académica.



1. RESUMEN

- 1.1. **Introducción:** Las limas son consideradas un tipo de instrumental crítico en la endodoncia por penetrar los tejidos; razón por la cual se debe garantizar su esterilización para evitar la transmisión de microorganismos entre ellos *E.faecalis*, principal responsable de los fracasos en los tratamientos endodónticos.
- 1.2. **Objetivos:** Determinar el grado de contaminación por *E.faecalis* en las limas K utilizadas en la atención de pacientes que asisten a consulta de endodoncia en la clínica de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana.
- 1.3. **Métodos:** Prueba piloto transversal descriptiva que determinó la presencia de EF en limas K de instrumentación endodóntica mediante aislamientos en Agar Chromocult para *Enterococcus* y posterior identificación y análisis de clonalidad mediante MALDI-TOF. Un total de 51 muestras fueron analizadas tomando de cada lima una muestra en tres momentos diferentes de su uso: posterior al contacto de fluidos con los pacientes, posterior al proceso de desinfección química y previa al proceso de esterilización.
- 1.4. **Resultados:** Los resultados mostraron que las Limas antes de su uso están 100% estériles y después de su uso la eficacia de desinfección es del 82.4%. Un 5.9% de *E.faecalis* fue identificado en las limas durante y después de su uso. Los dendrogramas permiten inferir que las cepas de *E.faecalis* identificadas en limas provienen de clones diferentes a las identificadas en mucosa oral de los pacientes.
- 1.5. **Conclusión:** Las limas pueden contaminarse con *E.faecalis* ya que este es un microorganismo que puede sobrevivir a los proceso de desinfección utilizados.
- 1.6. **Palabras clave:** Fracaso endodóntico, contaminación fecal, Esterilización, *Enterococcus faecalis*.





2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para asegurar que el material de instrumentación endodóntico no sea un vehículo transmisor de diferentes microorganismos hacia la cavidad oral y dientes, deben implementarse estrictos programas de prevención de la contaminación mediante el uso de barreras cuya eficacia garantice una correcta desinfección y esterilización del instrumental a emplearse. El material de instrumentación endodóntico se considera instrumental estéril crítico por tener como características ser reutilizable y entrar en contacto con tejidos y huesos del huésped, penetrando e introduciendo microorganismos si no están adecuadamente estériles como sucede especialmente con las limas de endodoncia.

La especie bacteriana de mayor impacto clínico encontrada con elevada frecuencia en los conductos de dientes endodonciados es el *Enterococcus faecalis* (EF) y su presencia en canales radiculares está directamente relacionada con el fracaso en el tratamiento de endodoncia.^{1,2} Todo instrumento debe ser desinfectado y esterilizado antes de su uso, después de su uso y verificar la eficacia del método de esterilización utilizado.³ Sin embargo, por diversos factores, la aplicación de estas medidas no se realiza ya sea por costos, falta de protocolos estandarizados, elevada confianza hacia el método de esterilización, porque no existen mecanismos de control de los procesos o no hay normas internas que regulen dicha actividad⁴ y la consecuencia es el desconocimiento del grado de contaminación que pueda traer el material, ignorar una de las posibles vías de llegada del EF a nivel dental y el impacto clínico que puede tener la presencia de la bacteria dentro de los tratamientos endodónticos. El presente trabajo, tiene como finalidad dar una perspectiva acerca del grado de contaminación presente por *Enterococcus faecalis* en las limas K de instrumentación de endodoncia en una clínica dental universitaria y sus implicaciones.





3. ESTADO DEL ARTE

3.1. Introducción

La pulpa se forma por tejido conjuntivo de origen mesenquimatoso rico en células inmunológicamente competentes, limitada por paredes rígidas de dentina, esmalte y cemento que garantiza su aislamiento del ambiente séptico de la cavidad bucal; sin embargo estas paredes pueden debilitarse por agentes agresores de naturaleza biológica, química o física, tras lo que la pulpa reaccionará con inflamación de carácter agudo o crónico. Los microorganismos son los principales agentes patógenos a nivel de la cavidad pulpar y el periápice. Las infecciones que se generan en la pulpa están relacionadas con la interacción entre la microbiota, presente en los conductos radiculares y la cámara pulpar tras la infección bacteriana, y la respuesta defensiva del hospedador.

La pulpa y el periápice, son tejidos estériles. Por lo que la presencia de microorganismos determina una enfermedad. Se han reportado cuatro vías de invasión microbiana para colonizar los sistemas de conductos. Una es a través de los túbulos dentinarios de un diente no vital por la dentina cariada, ya que cuando falta cemento o esmalte la dentina queda expuesta y se convierte en una vía para el paso de microorganismos a la pulpa; por medio de los túbulos dentinarios, que son completamente permeables permitiendo así una rápida colonización.

Otra vía de acceso de los microorganismos es por la comunicación directa de la cavidad oral con la pulpa, la cual se da por fracturas dentarias, trauma dentoalveolar o lesiones cariosas que exponen el tejido pulpar.

La vía periodontal, en donde los microorganismos y sus productos pueden ingresar al conducto a través del foramen apical y los conductos laterales.





La última vía reportada para el acceso de los microorganismos es por anacoresis, en la cual se transportan los microorganismos por la sangre o linfa hacia un tejido inflamado, como un diente con pulpitis o necrosis.^{5,6}

Para tratar estas patologías se realiza una endodoncia, que es el estudio de la morfología, patología pulpar, periapical y restauración de los dientes a través de un tratamiento que incluye la limpieza y preparación mecánica mediante la irrigación química de los canales radiculares del diente finalizando con la obturación o sellamiento tridimensional con materiales inertes con el fin de prevenir infecciones dentro de los conductos para rehabilitar la corona dentaria.² Aunque estos tratamientos tienen un pronóstico favorable existe la posibilidad de fracaso; ya sea porque hay una remoción incompleta del tejido pulpar o por la presencia de microorganismos capaces de sobrevivir en los canales radiculares como el *Enterococcus faecalis*.⁷ Diferentes estudios han mostrado la presencia de EF en los conductos radiculares de dientes endodóticamente tratados y explican su capacidad de sobrevivencia por diversos factores; tales como la capacidad de adherencia del microorganismo sobre la dentina, adaptación a pH alcalino, la termotolerancia, ser un anaerobio facultativo, el ubicarse en espacios radiculares difíciles de instrumentar como istmos, ramificaciones e irregularidades de los canales dentinarios, la formación de biopelículas las cuales son favorecidas por la producción de sustancias agregantes, gelatinasa, y polisacáridos capsulares entre otros que actúan como barreras para tratamientos antimicrobianos.^{8,9,10}

Aunque se desconoce el mecanismo exacto por medio del cual se logra ingresar hasta los canalículos, se considera que es por su tamaño que logra filtrarse e introducirse.¹¹ Las posibles fuentes de contaminación de los canalículos pueden provenir de huéspedes previamente colonizados o del material instrumental externo contaminado con restos





orgánicos, sangre o saliva y los fluidos biológicos que pueden servir de vehículos de transmisión de EF hacia el interior del diente.^{12,13}

3.2. Limas e instrumental de endodoncia

El tratamiento endodóntico busca limpiar, reducir o eliminar microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares a través de una adecuada limpieza y desinfección mediante soluciones irrigantes acompañada de instrumentación con limas y el uso de sellantes para los túbulos dentinarios.^{15,16,17} Para preparar el conducto radicular e ingresar al tejido pulpar se utilizan instrumentos manuales y motorizados que se clasifican en tres grupos: Grupo I, instrumentos manuales como los tipos K y H, grupo II instrumentos de baja velocidad como las fresas Gates- Glidden y grupo III instrumentos motorizados. El principal objetivo de la instrumentación de los conductos es proporcionar un entorno biológico que favorezca la curación y además moldear el conducto de la forma adecuada para el sellado final.¹⁸

Los instrumentos del grupo I con acción manual se conocen como limas, estas ensanchan y cortan los conductos mediante movimientos recíprocos de rotación de entrada y salida. Las limas de mayor utilidad en los tratamientos de conductos son las limas K, H, Flex. La lima K es la más empleada en el tratamiento endodóntico y está fabricada de acero inoxidable en forma de espiral, la cual es usada para contornear la dentina y agrandar los conductos radiculares mediante una acción cortante o abrasiva, también para la limpieza y ensanchamiento de las paredes del conducto radicular, tiene de 22 a 40 estrías. Las limas H o de tipo Hedström tienen forma de conos superpuestos con ángulo de 90°, se usan para alisar el conducto desde la región apical hasta el orificio de entrada. Las limas K- Flex tienen forma de diamante flexible, presentan mayor filo y eficacia cortante,





actúan como barrenador proporcionando una mayor área para la eliminación de residuos.¹⁸ Al principio, estos instrumentos se fabricaban de acero al carbono; pero la esterilización química por medio de yodo, cloro o vapor producían una corrosión considerable. Posteriormente el empleo de acero inoxidable mejoró la calidad de los instrumentos y proporcionó un uso más duradero.¹⁸

3.3. Higiene y esterilización instrumental

El instrumental odontológico y dentro de ellos las limas K son un posible vehículo de transmisión de enfermedades, las cuales se pueden evitar mediante la implementación de barreras; las limas son consideradas un tipo de instrumentación crítica en la endodoncia por penetrar los tejidos, y por lo cual se deben someter a un proceso de esterilización. Para mantener la higiene de estos instrumentos y evitar la contaminación entre los pacientes se utiliza la esterilización el cual es un proceso que intenta disminuir y destruir los microorganismos. Todo instrumento antes y después de ser utilizado, debe ser higienizado adecuadamente; luego de su uso se debe retirar los restos de sangre o saliva existentes, sumergiéndolos en sustancias que remueven químicamente los restos; posteriormente deben ser cepillados con abundante agua y jabón desinfectante antes de ser sometidos al esterilizador o autoclave. Según Canalda y Brau¹⁴, la limpieza realizada con gasa impregnada de alcohol es más efectiva ya que disminuye el tiempo de exposición de las limas en los esterilizadores. Ningún instrumento que presente restos de sangre o de materia orgánica deberá introducirse en el esterilizador, ya que la presencia de estos restos origina que el instrumento se quemé en los bordes del lugar donde se encuentra la sangre, causando la oxidación e inutilización.

La esterilización por vapor es el método más utilizado para esterilizar los instrumentos dentales reutilizables; ya que genera una excelente letalidad microbiana, rentabilidad,





ausencia de residuos tóxicos y capacidad de ser efectivamente controlado y supervisado físicamente.¹³

Las limas son instrumentos reutilizables y aunque pueden ser esterilizadas por diferentes métodos microbiológicos la American Dental Association (ADA) propone esterilizar las limas K a 150°C/150min aunque este método puede disminuir la capacidad de corte del instrumento.¹⁹ Sin embargo por norma universal, este tipo de instrumentos se pueden esterilizar al calor con autoclave ya sea por calor húmedo, vapor o presión con un tiempo de 20 minutos a 121°C a 1 atm de presión. Por calor seco indirecto los instrumentos deben permanecer durante 30 minutos a 180°C o 1 hora a 160°C. Una desventaja del procedimiento de esterilización de las limas es que se pueden afectar las características mecánicas del instrumento; se ha observado que el uso de autoclaves que tienen incorporada la bomba de vacío disminuye la capacidad de corte de las limas, además el uso de calor seco para la esterilización provoca un aumento en la longevidad de la lima.¹⁴

Los procesos de esterilización deben ser controlados y monitoreados mediante: monitores mecánicos, medición y registro de tiempo, temperatura, presión al momento de uso, indicadores químicos, cintas que cambian de color luego de la exposición al ambiente de esterilización apropiado. El uso de las cintas como indicador químico es importante; ya que mediante este se pueden evidenciar los fallos durante el proceso de esterilización en el cambio de color, lo que significa que no estuvo expuesto a un ambiente apropiado de esterilización.²⁰

Para la desinfección se utiliza el hipoclorito de sodio; el cual es una sustancia irrigadora que desinfecta y tiene una elevada capacidad de humectación, poder de limpieza, capacidad antimicrobiana, acción de solvencia y tolerancia del tejido. Además facilita la





acción del instrumento endodóntico, controlando una posible infección retirando restos de sangre, materia orgánica como los restos pulpares, e inorgánica como los detritos y raspas dentinarias de la cavidad pulpar.²¹

3.4. Enterococos y el fracaso endodóntico

En la actualidad, el tratamiento endodóntico tiene una alta tasa de éxito, dado a los numerosos avances en cuanto a técnicas y métodos de limpieza y desinfección, así como el desarrollo de nuevos instrumentos a base de níquel y titanio.

Sin embargo, debido a que las enfermedades pulpares y periapicales son producidas por los microorganismos y revisten importancia dentro de las enfermedades endodónticas, es la indicación principal para realizar el tratamiento de conductos y adicionalmente, es la secuela más común de un tratamiento inadecuado o de un fracaso endodóntico. Varios autores reportan que la presencia de periodontitis apical previa, influye en los resultados disminuyendo la tasa de éxito del tratamiento endodóntico, alguna de las causas son la filtración coronal y apical, errores operatorios y de procedimiento. Es posible asumir que los factores que afectan hoy en día los resultados de los tratamientos de conductos son más restauradores y periodontales que de origen endodóntico.²²

La diversidad de microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados es un problema de carácter clínico que conlleva al fracaso de algunos tratamientos dada su alta resistencia a través de la formación de biopelículas como es el caso de *Enterococcus faecalis*. La microbiota presente en la cavidad bucal establece una relación con el hospedero conocida como Anfibiosis; la cual es una cooperación mutualista y se le puede considerar como benéfica; pero esto puede conllevar a que el hospedero sufra algún tipo de daño causando enfermedad. Según Estrela²¹, las bacterias poseen la mayor





importancia entre los agentes patogénicos, ya que se encuentran presentes en algunas enfermedades como la enfermedad periodontal, caries y entre otras patologías pulpares y periapicales por lo que estas requieren un tratamiento odontológico.

Los *Enterococcus* son bacterias clasificadas como cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, que se asocian en cadenas cortas o parejas, inmóviles y no esporulados, con un tamaño que oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros.

Se ha reportado que los *Enterococcus* se caracterizan por causar infecciones oportunistas en heridas y tejidos blandos, además de provocar endocarditis bacteriana en algunos casos. Estos microorganismos pueden crecer *in vitro* a temperaturas entre 10°C y 45°C en medios con esculina, que es hidrolizada en presencia de sales biliares.²³ Se pueden encontrar aproximadamente 30 especies de *Enterococcus*, de las cuales *Enterococcus faecalis* (EF) ha sido de gran importancia ya que se han reportado numerosos casos en el área odontológica; el factor principal está asociado al fracaso en el tratamiento endodóntico. Se ha observado que este microorganismo es más prevalente en periodontitis apicales, y a su vez también es más frecuente en infecciones persistentes o secundarias a diferencia de las infecciones primarias; también se ha comprobado que EF sobrevive a la instrumentación mecánica, colonizando los túbulos dentinarios con una profundidad de 300 a 400 micrómetros en un lapso de tres a cuatro semanas, por lo que puede causar enfermedad.¹⁴

EF puede crecer y sobrevivir en microambientes tóxicos, especialmente en altas concentraciones de sales y temperaturas extremas lo que le confiere la capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico y en los cuales los nutrientes son limitados. Este microorganismo también sobrevive y se prolifera en ambientes alcalinos, cercanos a un





pH de 12 que es generado por el hidróxido de calcio cuando el conducto radicular es obturado; también tiene la capacidad de formar biopelículas que le generan resistencia a la acción de los antimicrobianos ya que poseen un mecanismo de resistencia que está controlado por genes codificados en plásmidos o por transposones. Los factores de virulencia en este tipo de microorganismo tienen un rol importante en la colonización del conducto radicular, ya que es un medio que tiene pocos nutrientes. ^{23,24}

El mecanismo de llegada a la cavidad oral y penetración en los conductos radiculares no se conoce actualmente; puede considerarse que la presencia en la mucosa puede ser debido a un mal lavado de manos o por el consumo de alimentos contaminados con agua residual que no tuvieron un lavado adecuado. Generalmente EF es aislado de la mucosa oral, lengua, bolsas periodontales, conductos radiculares y en personas con altos índices de caries; principalmente se ha observado que la lengua y el surco gingival es el reservorio, en donde los microorganismos llegan al conducto radicular obturado, exhibiendo signos de periodontitis apical crónica en un 23 a 70%. ²⁵

La reutilización del material, las diferencias entre los métodos de esterilización y el no seguimiento microbiológico a dichos métodos pueden originar una contaminación cruzada que es la transmisión de diversos agentes infecciosos que se da por contacto directo o indirecto con el instrumental odontológico, riesgo que se aumenta tanto por las condiciones ambientales que se presentan en procesos odontológicos como por las concentraciones de saliva y sangre que favorecen la proliferación de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos, entre ellos el EF. ²⁶





En el tratamiento de endodoncia, la manera de prevenir una contaminación cruzada entre pacientes es eliminando los residuos de sangre y otros fluidos que han sido obtenidos durante la utilización de los instrumentos. Para generar una protección total en los procedimientos odontológicos se deben tener en cuenta algunos programas los cuales garantizan la bioseguridad al paciente; estos se basan en ciertas medidas en las barreras protectoras, lavado y cuidado de las manos, utilización del instrumental cortante, limpieza, desinfección y esterilización del material recuperable, limpieza de superficies contaminadas, recogida de residuos y ropa contaminada, y vacunación frente a la hepatitis B; esto con el fin de brindar seguridad tanto al paciente como al personal y reducir al máximo la posibilidad de contagio. ³

3.5. Evaluación clonal de la fuente de infección

La identificación de microorganismos en el laboratorio se puede realizar utilizando la técnica de diagnóstico conocida como MALDI-TOF MS que permite la identificación de microorganismos mediante el análisis de proteínas ribosomales.²⁷ Esta técnica se basa en un mecanismo de ionización con una solución de un compuesto que absorbe energía orgánica conocida como matrix, el cual cristaliza y genera lisis a los microorganismos vegetativos. Esta cristalización se irradia mediante un rayo láser UV con una longitud de onda 337nm, se debe realizar en corto tiempo para evitar daños a la muestra con el matrix. El haz de láser es enfocado en la superficie de la muestra cristalizada, y un atenuador de haz ajusta la irradiación.

La interacción entre dos fotones del láser absorbe la energía del haz, desencadenando una sublimación de la matrix en estado gaseoso.²⁸ Una vez ionizadas las proteínas de la muestra se examinan por un analizador de masas, el cual revela la información característica acerca de la composición de la muestra, esto depende de la relación masa y





carga, las cuales generan un movimiento de iones cargados desde la muestra a través del tiempo de vuelo para ser llevado a un tubo detector. Luego de la detección de las proteínas por el espectrofotómetro de masas, se produce una huella espectral que es única para cada microorganismo que se analiza. La identificación del microorganismo se determina automáticamente usando el software Biotyper, el cual es una plataforma que compara con una biblioteca de espectros principal codificado. ²⁸

La evaluación clonal se evalúa mediante el uso de diagramas que permiten observar las similitudes y la evolución, representando de una manera más exacta su filogenia ²⁹; para esto se utilizan los dendrogramas los cuales son diagramas ramificados, en los que se representan las posibles conexiones genealógicas, las similitudes y la historia evolutiva entre grupos de organismos. Para la construcción del dendrograma se delimita el grupo de interés mediante las relaciones o similitudes de la muestra taxonómica. ³⁰

Dentro de los dendrogramas está el fenograma que se construye a partir de distancias entre taxones, estos reflejan la similitud global entre un grupo de especies. Entre mayor sea el número de caracteres usados para la construcción del fenograma, mayor será la concordancia de este y su filogenia. ³¹





4. OBJETIVOS

4.1. *Objetivo General*

4.2. Determinar el grado de contaminación por *Enterococcus faecalis* en las limas utilizadas en la atención de pacientes que asisten a consulta de endodoncia en la clínica de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana.

4.3. *Objetivos específicos:*

4.3.1. Analizar el grado de contaminación de las limas de instrumentación después del proceso de desinfección y esterilización.

4.3.2. Aislar e identificar *E. faecalis* presente en las limas de instrumentación en la Unidad de Endodoncia de la Clínica odontológica de la Pontificia Universidad Javeriana antes y después de su uso en pacientes sometidos a tratamiento endodóntico.

4.3.3. Aislar e identificar *E. faecalis* presente en cavidad oral de un grupo de pacientes que asiste a Consulta de endodoncia en la Clínica odontológica de la Pontificia Universidad Javeriana.

4.3.4. Relacionar filogenéticamente las cepas de *E. faecalis* aisladas en cavidad oral de los pacientes contra las aisladas en las limas de instrumentación.





5. METODOLOGÍA

5.1. ESTUDIO

- 5.1.1. *TIPO DE ESTUDIO*: Estudio in vitro, transversal, exploratorio tipo piloto inicial, descriptivo.
- 5.1.2. *DISEÑO*: Descripción presencia / ausencia de EF.
- 5.1.3. *POBLACIÓN ESTUDIO*: Un grupo de 17 adultos mayores que asistieron a consulta de Endodoncia entre el 1 de febrero al 1 de mayo del año 2016 se le tomó bajo consentimiento informado para cultivo microbiológico una muestra de hisopado de cavidad oral así como de las limas de instrumentación usadas para el proceso Dentsply Maillefer® lima tipo K de retratamiento y que previamente fueron desinfectadas por métodos químicos y posteriormente esterilizadas mediante autoclave a 121°C durante 15 minutos.
- 5.1.4. *CRITERIOS DE INCLUSIÓN*: Ser mayor de edad, ser sometido a un proceso endodóntico, firmar consentimiento informado.
- 5.1.5. *CRITERIOS DE EXCLUSIÓN*: Menor de edad, no firmar consentimiento informado, asistir para consultas diferentes a endodoncia, tener una patología oral infecciosa de base, estar en un tratamiento con antibiótico al momento de toma de muestra.
- 5.1.6. *TAMAÑO DE LA MUESTRA*: Seleccionado por conveniencia, prueba piloto de 17 muestras biológicas (hisopado cavidad oral) y 51 muestras inertes (de cada lima se tomaron muestras en tres momentos de su utilización: En un primer momento se tomaron muestras después de haber sido utilizadas en el paciente; un segundo momento corresponde después del lavado con agua y jabón; después





del lavado anterior se dejaron secar y se tomaron muestras en un tercer momento antes de introducirlas al autoclave).

5.1.7. *CONFLICTO DE INTERESES*: Los investigadores manifiestan no tener conflicto de intereses y el trabajo tiene el aval del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana.

5.2. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS

5.2.1. TOMA DE MUESTRA

5.2.1.1. *Muestras de las limas de instrumentación:*

5.2.1.1.1. Para cumplir con el segundo objetivo específico se tomaron muestras de las limas de instrumentación en los tres momentos descritos. Las muestras se tomaron mediante hisopo estéril (SDS., 2015). Los hisopos se sembraron inicialmente en caldo BHI, Agar sangre y Agar Chromocult Enterococci para su proceso de identificación.

5.2.1.2. *Muestra de cavidad oral a pacientes:*

5.2.1.2.1. Para cumplir con el tercer objetivo específico se recolectaron muestras de cavidad oral utilizando 2 hisopos estériles para barrido de tejidos blandos por cada paciente, antes de que se realice el tratamiento odontológico. Con el primer hisopo se tomó una muestra de surco yugal y encías; con el segundo, de mejillas, paladar y lengua.³² Los hisopos se sembraron inicialmente en caldo BHI, Agar sangre y Agar Chromocult Enterococci para su proceso de identificación.





5.2.2. EFICACIA DEL MÉTODO DE DESINFECCIÓN-ESTERILIZACIÓN:

Para el cumplimiento del primer objetivo específico se analizaron los resultados de crecimiento bacteriano en los cultivos de las limas comparándolos con los dos momentos relacionados con esterilidad y desinfección: Al iniciar el proceso – momento A al destapar la lima estéril, momento C después de uso en el paciente y haber efectuado lavado químico. Se analizó el tipo de microorganismo haciendo énfasis en EF. ¹³

5.2.2.1. Las limas K empleadas vienen comercialmente esterilizadas por vapor a 134°C durante 18 minutos en autoclave al vacío de acuerdo a la Norma de referencia EN 13060 y EN285, validados en la norma ISO 17665-1.

Almacenadas en un empaque de esterilización en un ambiente limpio y seco. ³³

5.2.2.2. El protocolo de lavado químico después de su uso se basó en la limpieza con detergente tri-enzimático durante 5 minutos, siguiendo con una desinfección con glutaraldehído al 2% por 30 minutos y finalmente una esterilización en autoclave al vapor a 121°C con 1atm de presión durante 15 minutos.

5.2.3. IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA PRESUNTIVA: Para el segundo y tercer objetivo se identificó EF en cavidad oral y en las limas. Las muestras fueron inoculadas en medio líquido de BHI y posteriormente incubadas a 24 horas a 37°C; de allí se pasó a Agar Chromocult Enterococci para una segunda incubación de 24-48 horas a 37°C.





De los cultivos que presentaron colonias compatibles con *Enterococcus* fueron identificadas por medio de MALDI TOF MS siguiendo las instrucciones del fabricante y el análisis de espectros se realizó en software BioExplorer 1.0 usando como cepa control positivo EF ATCC 29212 y como control negativo *Enterococcus faecium*.³⁴

5.2.4. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LAS CEPAS DE EF:

Para el cumplimiento del cuarto objetivo específico se realizó la técnica con MALDI-TOF MS, la cual consiste en la identificación de microorganismos por medio del análisis de proteínas ribosomales a través de un espectro de luz UV que permite determinar la composición de la muestra a analizar y con un software Biotyper se compara con una biblioteca de espectros para la identificación de los microorganismos.²⁸

Para todas las cepas que resultaron ser positivas para *EF* se efectuó un dendrograma que permitió observar las similitudes y las conexiones entre EF de cada muestra.





6. RESULTADOS

6.1. Tabla general de resultados.

La tabla 1 ilustra los microorganismos identificados tanto en mucosa oral como en las limas K en cada uno de los pacientes. Los resultados se desglosan y analizan en los siguientes puntos.

Tabla 1. Microorganismos aislados de mucosa y de las limas K del grupo de estudio.

PACIENTES	RESULTADO DE LIMAS	RESULTADO DE MUCOSA PARA EF
000 LIMA	NEGATIVO	No crecimiento
054 lima AA	NEGATIVO	No crecimiento
002 LIMA A	NEGATIVO	
002 LIMA B	NEGATIVO	<i>E.faecium</i>
002 LIMA C	NEGATIVO	
005 LIMA A	NEGATIVO	
005 LIMA B	<i>E.faecalis</i>	Positivo
005 LIMA C	NEGATIVO	
007 LIMA A	NEGATIVO	
007 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
007 LIMA C	NEGATIVO	
008 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento



008 LIMA B	NEGATIVO	
008 LIMA C	NEGATIVO	
027 LIMA A	NEGATIVO	
027 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
027 LIMA C	NEGATIVO	
031 LIMA A	NEGATIVO	
031 LIMA B	<i>S.milleri</i>	No crecimiento
031 LIMA C	<i>S.milleri</i>	
052 LIMA A	NEGATIVO	
052 LIMA B	<i>E.faecalis</i>	Positivo
052 LIMAC	NEGATIVO	
057 LIMA A	NEGATIVO	
057 LIMA B	NEGATIVO	No crecimiento
057 LIMA C	NEGATIVO	
058 LIMA A	NEGATIVO	
058 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
058 LIMA C	NEGATIVO	
083 LIMA B	NEGATIVO	
083 Lima A	NEGATIVO	Positivo
083 Lima C	NEGATIVO	
086 LIMA A	NEGATIVO	
086 LIMA B	NEGATIVO	No crecimiento
086 LIMA C	NEGATIVO	
088 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento

088 LIMA B	NEGATIVO	
088 LIMA C	NEGATIVO	
088 LIMA A	NEGATIVO	
088 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
088 LIMA B	NEGATIVO	
089 LIMA B	NEGATIVO	
089 LIMA C	NEGATIVO	No crecimiento
089 LIMA C	NEGATIVO	
091 LIMA A	NEGATIVO	
091 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
091 LIMA C	<i>Candida</i>	
092 LIMA A	NEGATIVO	
092 LIMA A	NEGATIVO	No crecimiento
092 LIMA C	NEGATIVO	
107 LIMA A	NEGATIVO	
107 LIMA B	<i>S.mitis</i>	No crecimiento
107 LIMA C	<i>E.faecalis</i>	

6.2. Eficacia del método de desinfección-esterilización.

Para evaluar el método de esterilización se evaluó el crecimiento bacteriano en las limas en el momento A (Al destaparlas, inicio de uso) y para desinfección inicial se tomaron los datos del momento C (Después del uso en el paciente y haber realizado lavado químico). Los resultados mostraron una efectividad del 100% en el momento (A) lo cual verifica que las limas usadas se encontraban totalmente estériles en el

momento de destaparlas, y a nivel de desinfección se evaluó el momento (C) después del uso en el paciente y se observó una eficacia del 82.4% del método ya que en 3 casos (17,6%) se observó crecimiento de *Candida albicans*, *Streptococcus milleri* y un caso de *E.faecalis* (figura 1).

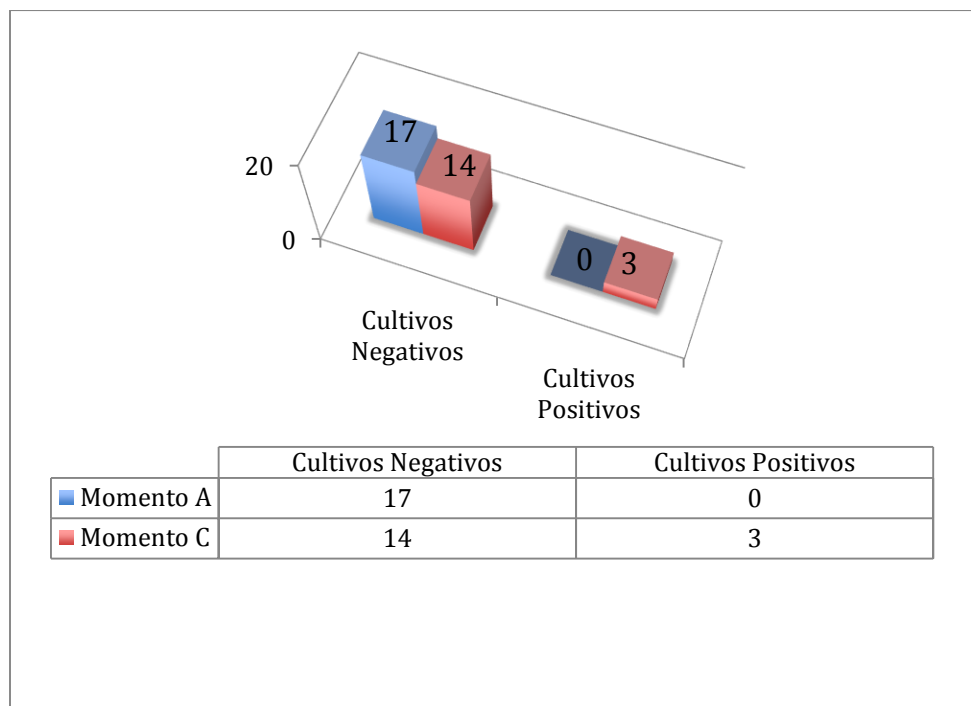


Figura 1. La figura ilustra el número de casos negativos (efectividad del proceso) para las limas en el momento A (al destapar) y momento C (después de lavado químico).

6.3 *E.faecalis* en Limas K

En cumplimiento del segundo objetivo se estableció la frecuencia de EF en las limas K en los 3 momentos de su uso: momento A (al destapar), momento B (en uso con el paciente), momento C (después del lavado químico).



Los resultados mostraron que las limas durante su uso en los tres momentos tuvieron una positividad del 13.7% (7 casos) para crecimiento bacteriano de los cuales el 5.9% (3 casos) correspondió a la presencia de EF (Figura 2) siendo el momento B (contacto directo con paciente) el que presentó el mayor número de casos.

Los otros microorganismos encontrados en limas diferentes a EF fueron *S. milleri*, *S. mitis* y *C. Albicans* cada uno con un caso.

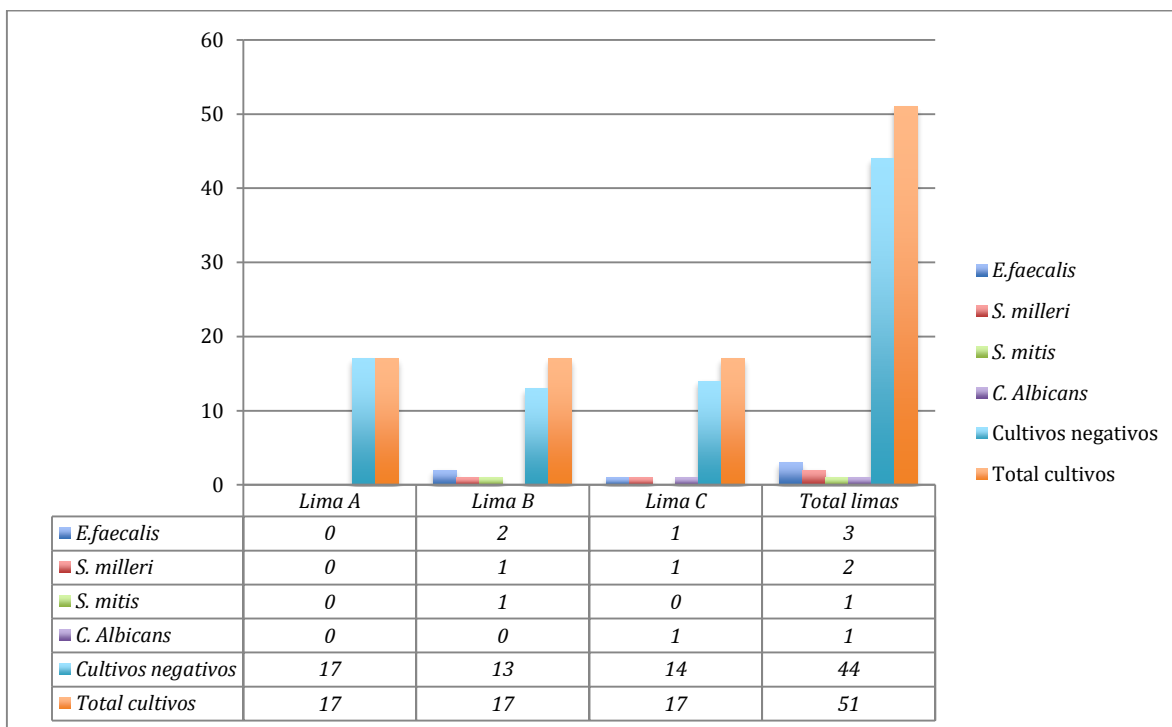


Figura 2. La figura ilustra el número de cultivos positivos y casos por *E. faecalis* aislados de las limas analizadas en el estudio.





6.3 *E.faecalis* en cavidad oral

En cumplimiento del tercer objetivo y con el fin de tener un soporte si los pacientes ya tenían EF en cavidad oral y que esta era la fuente que contaminaba las limas se tomaron muestras de hisopados y barrido de mucosa oral y se evidenció la presencia de 3 *E.faecalis* y 1 *E.faecium* de los cuales a 2 de los individuos (005 y 052) se les aisló el EF en mucosa y en limas (Tabla 1)

6.4 Clonalidad de los EF

Para determinar si los EF de los dos individuos mencionados tenían el mismo origen clonal se realizó un dendrograma basado en el software del aparato Bruker Daltonik MALDI Biotyper el cual crea un dendrograma que usa como raíz los espectros de las glucoproteínas de los microorganismos.

El dendrograma nos permitió observar que en los dos casos los EF provienen de ramas diferentes por lo cual no se consideran filogenéticamente relacionados (Figura 3)



No 1	002 cono	<i>E. faecalis</i>
No 2	002 mucosa	<i>E. faecium</i>
No 3	005 mucosa	<i>E. faecalis</i>
No 4	005 cono	<i>E. faecalis</i>
No 5	005 eye C	<i>E. faecium</i>
No 6	005 guta	<i>E. faecalis</i>
No 7	005 lima B	<i>E. faecalis</i>
No 8	026 mucosa	<i>E. faecium</i>
No 9	052 cono	<i>E. faecalis</i>
No 10	052 guta	<i>E. faecalis</i>
No 11	052 lima B	<i>E. faecalis</i>
No 12	052 mucosa	<i>E. faecalis</i>
No 13	081 eyector B	<i>E. faecalis</i>
No 14	081 mucosa	<i>E. faecalis</i>
No 15	083 mucosa	<i>E. faecalis</i>

No graficado

DENDOGRAMA - RAIZ GLUCOPROTEINAS ENTEROCOCCUS

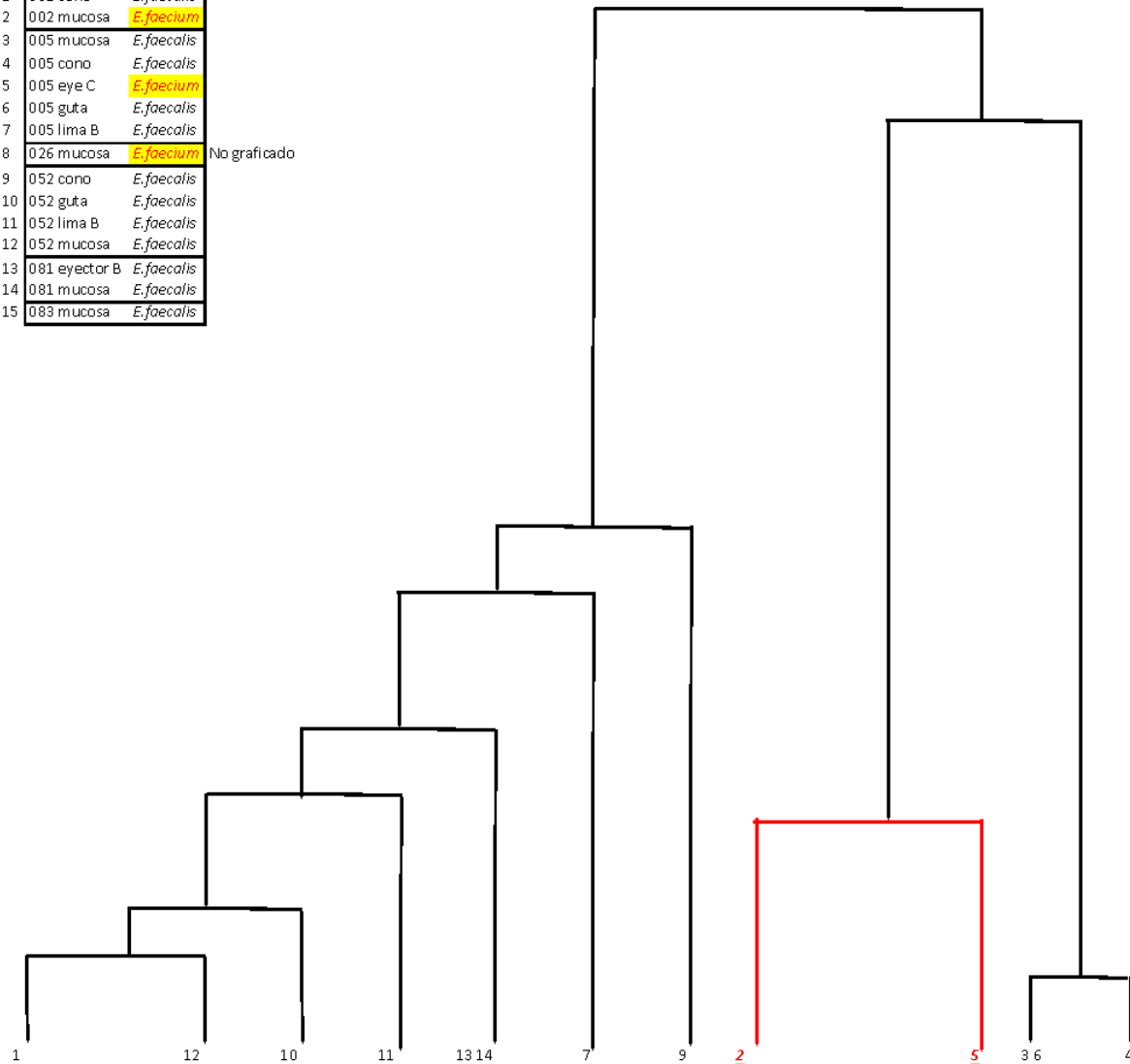


Figura 3. Dendrograma *E. faecalis*. Ilustra la totalidad de muestras incluidas en el estudio y que no fueron objeto de esta investigación. Los aislamientos involucrados para el análisis de contaminación de limas y su posible relación con mucosa son los números 3,7,11,12 apreciándose que todos provienen de ramas diferentes.





6 DISCUSIÓN.

Las enfermedades de la cavidad oral son un problema de salud pública y dentro de ellas revisten gran importancia las infecciones endodónticas por la posibilidad de perder el diente debido al grado de destrucción que pueden alcanzar. Una opción para tratar dientes destruidos por esta patología es la realización de tratamientos de endodoncia. Los tratamientos endodónticos tienen por finalidad limitar el daño ocasionado por la caries dental y prevenir la pérdida de dientes. El tratamiento incluye inicialmente una adecuada limpieza mecánica, química y microbiológica del canal radicular, posterior un sellamiento de la cavidad con un material inerte y finalmente rehabilitar la corona dentaria según el caso.² Para preparar el conducto radicular e ingresar al tejido pulpar se utilizan diferentes tipos de instrumentos dentro de ellos las limas K. Las limas tienen por objeto agrandar los conductos radiculares y moldearlos adecuadamente para el sellado final, proporcionando un entorno biológico que favorezca la curación.¹⁸ Debido a que las clínicas odontológicas son establecimientos que velan por la salud de los pacientes, los procedimientos que allí se realicen entre ellos el tratamiento endodóntico, deben asegurar que el material utilizado sea estéril y el instrumental reutilizable debe tener un control de calidad microbiológico estricto para eliminar la contaminación cruzada, además aumentar la posibilidad de curación y éxito del tratamiento, siendo esta una de las preocupaciones prioritarias a tener en cuenta por los profesionales de la Odontología.³⁵

En el presente estudio se evaluó el grado de esterilidad de las limas antes de su uso, en el momento en que hacen contacto con el paciente y después de su uso con el sometimiento a lavado químico con glutaraldehído al 2%, el cual es un desinfectante de alto nivel, no corrosivo y útil con un tiempo de acción de 20 a 30 minutos de inmersión de las limas.





Los resultados mostraron que las limas antes de su uso eran totalmente estériles – 100% cultivos negativos, durante su uso se pudo aislar en un 23,5% al menos un microorganismo, y que después del uso con el sometimiento al proceso de desinfección se aisló un 17,6% de microorganismos.

Los datos obtenidos para las limas antes de su uso (Momento A) son superiores a los reportados por otros autores como Chávez *et al*¹³ donde en un estudio piloto con 10 muestras se encontró que las limas en cajas cerradas después de esterilización tenían un 40% de contaminación y similares a los de Conrad y Morrison³⁶ en donde se obtuvo un 0% de contaminación en un estudio similar. Donde se aduce que el tipo de presentación de la caja (con perforaciones o no) y el sistema de almacenamiento, uso y manipulación influye en el grado de contaminación.

La presencia de microorganismos en el momento B (manipulación frente al paciente) ponen en evidencia que las limas estériles durante su uso son susceptibles de quedar impregnadas con microorganismos normales de flora normal como era *S.mitis* y *S.milleri* y con la presencia de patógenos oportunistas como *E.faecalis* (tabla 1). Estos datos son relevantes porque ponen de manifiesto que los procedimientos endodónticos están ligados a la presencia de microorganismos, de ahí que el uso de soluciones irrigadoras debe ser constante, estricto y además debe cumplir con cada uno de los protocolos que tenga estandarizado cada institución ya que estas eliminan los residuos microbiológicos que pueden quedar del proceso y aseguran la asepsia del tratamiento.

Según Jiménez³⁷ lo reportado por varios autores *E. faecalis* es el microorganismos que más predomina en dientes con enfermedad periapical persistente y se le atribuye ser uno de los causantes de los fracasos endodónticos, por su capacidad de adaptarse a los cambios





ambientales en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico y permanecer como un patógeno en el sistema de conductos radiculares, así mismo la presencia de factores de virulencia como la sustancia de agregación y las proteínas de superficie entre otros, su capacidad para ordenarse en biopelícula, su capacidad de penetrar profundamente en el interior de pequeñas ramificaciones y túbulos dentinarios, su capacidad de adherirse al colágeno de las paredes de la dentina radicular; permitiéndole sobrevivir al estrés extremo ambiental que causan los protocolos de irrigación y la medicación intraconducto que se utilizan en el tratamiento endodóntico. Si se logra erradicar a este microorganismo del medio intra y extrarradicular, seguramente se obtendrá éxito en el tratamiento endodóntico.

Para ayudar a reducir el número de bacterias y productos tóxicos se utilizan los irrigantes químicos. El irrigante de mayor efectividad contra la biopelícula dental de *Enterococcus faecalis* con un 99.99% de efectivo es el hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.25%

La mayoría de las causas del fracaso endodóntico se relacionan con una incorrecta técnica de irrigación, que no es capaz de limpiar todo el sistema de conductos, dejando residuos de bacterias y capa de desechos. Por lo cual recomienda el uso de diferentes sistemas de irrigación con la activación de la sustancia irrigante siendo de forma sónica o ultrasónica, para tener mayor éxito en el tratamiento.³⁷

Las sustancias irrigadoras más usadas en endodoncia son el hipoclorito de Sodio, EDTA, clorhexidina y entre otros.^{38,39} La Clorhexidina es eficaz para microorganismos gram positivos y ayuda a la regeneración de tejidos sin efectos tóxicos, además se ha observado su eficacia en los conductos radiculares. Dunavant et al compararon la eficacia del hipoclorito de sodio al 1 y 6%, Biopure MTAD®, clorhexidina al 2%, REDTA® y Smearclear® sobre biopelículas elaboradas in vitro de *E. faecalis*. Los tiempos de exposición fueron de 1 a 5 minutos y los resultados indicaron que el hipoclorito de sodio al 1 y 6% es un agente capaz





de eliminar casi el 100% de la totalidad de la biopelícula, seguido del Smearclear®, la clorhexidina al 2%, el REDTA® y por último el Biopure MTAD®.⁴⁰

Giardino et al. Compararon el efecto antimicrobiano del Biopure MTAD, Tetraclean y del hipoclorito de sodio al 5,25% en diferentes tiempos de evaluación los cuales fueron 5, 30 y 60 minutos frente a las biopelículas de *Enterococcus faecalis*. Los resultados mostraron que el único irrigante capaz de remover las biopelículas luego de 5 minutos de exposición fue el hipoclorito de sodio 5,25%; mientras que el Tetraclean lo hizo a los 60 minutos. Con respecto al Biopure MTAD no se observó ninguna remoción de biopelículas durante los tiempos evaluados.⁴⁰ En los dos estudios se pudo observar que el hipoclorito de sodio ayuda a eliminar las biopelículas formadas por *Enterococcus faecalis*. La eliminación de microorganismos entre ellos EF se complementa con nuevas herramientas como el láser y la desinfección fotoactivada no invasiva avanzada.⁴¹ Diferentes estudios han probado el efecto bactericida y fungicida de cada una de las soluciones, así como el efecto sobre la formación y eliminación del biofilm.⁴²

Un dato que llama la atención es la presencia de microorganismos después de los procesos de desinfección química de las limas (Momento C) donde se evidenció crecimiento en un 17.6% representado por un *E.faecalis* y una *C.albicans*, dos microorganismos que tienen relevancia en infecciones endodónticas. Este dato ya ha sido documentado por otros autores confirmando que los residuos biológicos pueden permanecer en la superficie de los instrumentos incluso después de los procesos de desinfección y esterilización.⁴³ La presencia de residuos en el material trae como consecuencia que baje la eficiencia de los posteriores procesos de desinfección y esterilización porque los residuos pueden impedir la penetración del vapor y desinfectantes.^{44,45} Autores como Walker *et al*⁴⁶ documentó en el 2007 que las limas sucias son de difícil limpieza por la capacidad de adherencia de los residuos proteicos





a las superficies intrincadas de la lima reportando que el 76% de los instrumentos de la práctica dental y el 14% de los hospitales dentales presentan un alto grado de contaminación en los mismos.

La presencia *Enterococcus faecalis* en las limas K utilizadas en los procedimientos endodónticos generan implicaciones odontológicas clínicas; es así como diferentes autores han mostrado el potencial de transmisión de agentes infecciosos en odontología a partir de instrumental como posible vehículo de transmisión de enfermedades.⁴⁷ También se ha verificado la capacidad de sobrevivencia de los microorganismos al medio ambiente entre ellas el *E.faecalis* que puede llegar a sobrevivir de 5 días a 4 meses en superficies inertes y *C.albicans* de 1 a 120 días.^{48, 49,50}

Tanto *E. faecalis* como *C.albicans* son microorganismos que tienen la capacidad de formar biopelículas. EF utiliza las adhesinas o proteínas de superficie extracelular (Esp), las cuales promueven la adhesión y colonización del sistema inmune; las gelatinasas (Gel) son las encargadas de degradar los tejidos del hospedero para proveer los nutrientes a la bacteria; estas dos proteínas están involucradas en la formación de biopelículas y la presencia de un pilus el cual ayuda a la producción de estas.⁵¹

Adicionalmente cabe mencionar que *E. faecalis* posee la capacidad y habilidad de crecer en medios con pH ácido y alcalino. Es un microorganismo ácido-resistente y alcalino-resistente. Esta resistencia al pH alcalino se debe a la resistencia que crea la membrana citoplasmática constituida de ácido lipoteicoico glicerol intracelular, frente a medios ácidos y alcalinos junto con el sistema de transporte de protones vinculados al ATP.²³ En cuanto a *C. albicans*, posee unas proteínas llamadas Csh1p que ayudan a la adherencia de la matriz extracelular,





favoreciendo la formación de biopelículas, así como también la adhesina Hwp1 que es específica de las hifas.⁵²

Se considera que *E. faecalis* y *C. albicans* son importantes indicadores en la evaluación de la eficiencia de diversos desinfectantes usados en tratamientos odontológicos.

Dentro de los protocolos utilizados para desinfección de Limas se encuentran el protocolo de la American Dental Association (ADA), en donde se establece que los instrumentos dentales deben ser previamente esterilizados en autoclave ya sea a vapor, presión, químico o calor seco. La instrumentación dental debe ser limpiada con soluciones enzimáticas o no enzimáticas para eliminar cualquier residuo. También recomiendan sumergir los instrumentos en algún desinfectante inmediatamente después de su uso para evitar el secado de los desechos. Antes de que los instrumentos sean esterilizados se debe aplicar inhibidores de corrosión para proteger del deterioro por oxidación que resulta de la autoclave.⁵³

Para el caso específico del proyecto se realizó una limpieza y desinfección. En primera instancia se hizo un pre-lavado en una solución de detergente tri-enzimático por 5 minutos, adicionalmente la lima se expuso con glutaraldehído al 2% durante 30 minutos, se enjuagó y cepilló con agua utilizando guantes; luego se realizó el respectivo secado con toallas. Finalmente, las limas se depositaron en una bolsa desechable de biopelícula transparente de 15X10 cm con una tira de control multipárametro; esta bolsa se colocó en una caja de acero inoxidable de 14X28cm para esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

El jabón tri enzimático contiene enzimas proteolíticas que disuelven la materia orgánica (papaína), debilitando las células, permitiendo arrastrar fácilmente la suciedad. El material que se va a desinfectar por medio del glutaraldehído al 2% no debe estar sucio con sangre,





pus o cualquier elemento orgánico; ya que podrían interferir alterando el poder de desinfección. El mecanismo de acción del glutaraldehído se fundamenta en la alteración de la síntesis de DNA, RNA y proteínas por consecuencia de la alquilación de componentes celulares, inhibiendo la germinación, esporulación y funciones esenciales de la célula. Este desinfectante actúa a un pH alcalino entre 7.5 y 8.5 sobre la pared celular entre los puentes de peptidoglicano.⁵⁴ Algunos autores han reportado resistencia del *Enterococcus faecalis* y de *Candida albicans* al desinfectante debido a la formación de biopelículas y la capacidad de resistencia a pH alcalinos²³ esto se evidenció en los resultados obtenidos en este proyecto.

Los datos hallados sugieren que el protocolo de limpieza y desinfección de las limas K en su aplicación está fallando en alguna de sus variables como tiempo, volumen, concentraciones etc. Y también indica que estos microorganismos tienen capacidad de sobrevivir a desinfectantes, razón por la cual se sugiere que la institución revise los sistemas de control para desinfección y contaminación cruzada.

El trabajo tenía como objetivo central determinar la presencia de microorganismos especialmente EF porque aparte de sugerir un mal control de calidad microbiológico y contaminación fecal en la manipulación del instrumental es importante a nivel odontológico por su capacidad de sobrevivir en dientes tratados, además de estar asociado al fracaso de los tratamientos endodóntico, su resistencia a irrigantes como hidróxido de sodio, EDTA, clorhexidina y la capacidad de permanecer y sobrevivir en los canales radiculares como única especie sin el apoyo de otros microorganismos a diferencia de lo que sucede con las otras bacterias en la cavidad oral.^{23,55} El mecanismo exacto por el cual llega al canal radicular no se conoce a la fecha. La bacteria se ha aislado del interior del sistema de canales radiculares como en lesiones periapicales, se ha aislado de dientes infectados sin historia de tratamiento





de endodoncia previo, se ha aislado de la mucosa oral, lengua, bolsas periodontales y en pacientes con refractariedad al tratamiento endodóntico. ^{23, 55, 56, 57}

Estos datos se corroboran en el estudio, pues se evidenció en 3 pacientes la presencia de *E.faecalis* y en uno de ellos *E.faecium*. El estudio busco una aproximación realizando un dendrograma de clonalidad de cepas con el fin de examinar si la misma cepa de EF presente en mucosa correspondía a la aislada en las Limas K. El bajo número de pacientes y el bajo número de EF aislados no permite hacer conclusiones al respecto. Solo dos pacientes presentaron simultáneamente en mucosa y en limas cepas de EF que ante el dendrograma realizado muestran que son de diferente origen clonal. Sin embargo, esta era una prueba piloto y los datos sugieren que se debe agrandar el tamaño de la muestra y analizar otras variables como son los eyectores, residuo de sellamiento como gutapercha, datos que se trabajan en un proyecto simultaneo que busca verificar si EF alcanza los canalículos a través de la filtración coronal en dientes con raíces obturadas de manera diferencial dependiendo del sellante utilizado. ^{11, 58, 59}

Los *Enterococcus Faecalis* y *Enterococcus faecium* son habitantes naturales del tracto gastrointestinal humano, y también se pueden encontrar en la cavidad oral; se ha documentado que estas dos especies son las principales causantes de las infecciones humanas oportunistas en el tracto urinario, heridas, bacteriemias y endocarditis; pero principalmente *E. faecium* está relacionada con infecciones nosocomiales a nivel intrahospitalario. ⁶⁰

Finalmente, respecto a la presencia de *E.faecium* en la cavidad bucal se puede asociar a que este microorganismo crea una elevada resistencia a los tratamientos antimicrobianos y principalmente se puede encontrar en el ámbito clínico. ⁶¹





Los datos aquí presentados demuestran la importancia que tiene el cumplimiento de las normas de bioseguridad, limpieza y desinfección en las unidades odontológicas y la necesidad de mejorar los protocolos relacionados a estos procesos.

7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el presente proyecto se logró aislar e identificar *Enterococcus faecalis* en limas K de endodoncia en donde se presentaron 3 casos correspondientes al 5.9% durante y después de su uso. El método de desinfección utilizado en la clínica odontológica de la Pontificia Universidad Javeriana no es 100% efectivo contra este microorganismo. Ya que crea biopelículas y puede resistir a pH altamente alcalinos. El glutaraldehído que usan como desinfectante en la clínica tiene pH alcalino; por lo tanto, este microorganismo resiste, generando a futuro un fracaso endodóntico.

- Se recomienda medidas asépticas y mejorar los protocolos de bioseguridad, limpieza y desinfección durante todo el tratamiento endodóntico.
- Se recomienda la no reutilización de las limas K, ya que estas pueden ser un vehículo transmisor de infecciones. Para el procedimiento endodóntico es obligatorio usar limas K estériles ya que entran en contacto directo con el tejido pulpar.
- Así mismo se recomienda continuar este estudio proporcionando un tamaño de muestra mayor, investigando otras variables que complemente la información adquirida en este estudio.





8 BIBLIOGRAFÍA

1. Roças IN, Siqueira JF, Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular di- seases. J Endod. 2004; 30: 315-320.
2. Rodríguez C, Gonzalo H, Oporto V. Clinical implications *Enterococcus faecalis* microbial contamination in root canals of devitalized teeth: Literature review. Revista Odontológica Mexicana. 2015; 19: 1-126.
3. Barrancos MJ., Barrancos JP. Bioseguridad en la práctica odontológica. En: Operatoria Dental: Integración Clínica. 4ª Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2006.
4. Paipay L, Calderón V, Maurtua D, et al. Evaluación de la contaminación microbiológica en los equipos radiográficos de una clínica dental privada. Rev Estomatol Herediana. 2014; 24:73-81.
5. Basmadjian C, Farge P, Bourgeois DM, et al. Factors influencing the long term results of endodontic treatment: a review of literature. Int Dent J. 2002; 2: 7-12.
6. Liébana J. Microbiología Oral. 2^{da} Ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana: 2002.
7. Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, et al. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol. 2003; 18: 100-103.
8. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, et al. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. Oral Microbiol Immunol. 2006; 21: 283-288.
9. Ozbek S, Ozbek A, Erdorgan A. Analysis of *Enterococcus faecalis* in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic treatment by real-time PCR SYBR green method. J Appl Oral Sci. 2009; 17: 370-374.
10. Siqueira JF Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well- treated teeth can fail (Literature review). Int Endod J. 2001; 34: 1-10.
11. Love RM. *Enterococcus faecalis*: a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J. 2001; 34:399-405.
12. Carrero C, González MC, Martínez MA, et al. Low frequency of *Enterococcus faecalis* in the oral mucosa of subjects attending dental consultation. Rev Fac Odontol Univ Antioq. 2014; 26: 261-270.



13. Chávez E, Domínguez NM, Acosta S, et al. Evaluación de la eficacia de la esterilización del instrumental odontológico en la clínica de odontología de Unibe. Rev Nal de Odontol. 2013; 9: 35-39.
14. Canalda C., Brau E. Endodoncia, técnicas clínicas y bases científicas. 2^{da} Ed. Barcelona: Elsevier; 2006.
15. Bergenholtz G., Horsted P., Reit C. Endodoncia. 2^{da} Ed. México: El manual moderno. 2011.
16. Pupo S, Díaz A, Castellanos P, et al. Eliminación de *Enterococcus faecalis* por medio del uso de hipoclorito de sodio, clorhexidina y MTAD en conductos radiculares. Av Odontoestomatol. 2014; 30.
17. Sirvent F, García E. Biofilms. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. Revista de endodoncia. 2010; 28: 241-256.
18. Muñoz R. Notas para el estudio de endodoncia. Instrumental especializado en endodoncia. Unidad 4. UNAM. Consultado 5 de Noviembre 2015.
19. Pumarola J, Espías A, Canalda C, et al. Eficacia de la esterilización de instrumental endodóncico estandarizado por diversos métodos. Rev Facul Odontol Barc. 1990; 8:24-27.
20. Riera L, Ambrosio A, Bottale A, et al. Evaluación de la eficacia de los procesos de esterilización de consultorios odontológicos del Distrito VI de la Provincia de Buenos Aires, Argentina 2006-2007, mediante la utilización de indicadores biológicos. Acta. Odont. (Venez). 2009; 47:11.
21. Estrela C. Ciencia endodóntica. 1^a Ed. Artes médicas Latinoamérica. 2005.
22. Hulsmann M, Denden J. Incidentes iatrogénicos durante la irrigación del conducto radicular-revisión de la literatura caso clínico. J Endod. 1998; 4: 15-26.
23. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, et al. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta Odontológica Venezolana. 2009; 47: 1-11
24. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, et al. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Int Endod J. 2002; 35: 221-228.
25. Ardila C, Maggiolo S, Dreyer E, et al. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. AMC [revista en la Internet]. 2014; 18: 415-423.






26. Clavero A, Silvestre F, Simó J, et al. Asepsia y antisepsia en la práctica odontológica para lograr el control de la infección cruzada. Ciencia y práctica. Universidad de Valencia. 2008; 9:80-85.
27. Legarraga P, Moraga M, lam M, et al. Impacto de la espectrometría de masas por MALDI-TOF MS en la identificación rápida de bacterias aeróbicas y anaeróbicas de importancia clínica. Rev chilena de Infectol. 2013; 30: 140-146.
28. Singhal N, Kumar M, Kanaujia P, et al. MALDI TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. Frontiers microbiology. 2015; 6:791.
29. Campbell N., Mitchell L., Reece J. Biología conceptos y relaciones. 3ª ed. Estados Unidos. Pearson. 2001.
30. Curtis H., Sue N., Schnek A., Massarini A. Curtis Biología. 7ª ed. Madrid: Médica panamericana; 2008. P.448.
31. Curtis H. Invitación a la biología. 6ª ed. Uruguay: Médica panamericana; 2006. P. 337
32. SDS. Manual de toma de muestras para análisis microbiológico. Dirección de Salud Pública. Cap 3. Muestras ambientales. P. 83-93. Diciembre 03 de 2015.
33. Universidad Nacional de Colombia. Manual de bioseguridad y esterilización. Facultad de odontología, Bogotá. 2012. P. 1-91. Mayo 03 de 2016.
34. Clark A, Kaleta E, Arora A, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26: 547-603.
35. Morataya JA. Evaluación de la utilización de barreras universales, métodos de desinfección, asepsia o esterilización de instrumentos y equipo odontológico, utilizados en las clínicas dentales de las comunidades del Ejercicio Profesional Supervisado (E.P.S.); 1ero, 2do y 3er grupo 2002 en Guatemala. Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología; 2003. P. 168.
36. Conrad S, Morrison A. Dental burs and endodontic files: Are routine sterilization prodedures effective? *Tex Dent J.* 2009; 75: 295-300.
37. Jiménez L, Gómez J, Matos M. Irrigación ultrasónica pasiva comparada con irrigación manual en la eliminación del *Enterococcus faecalis* del sistema de conductos (Estudio In Vitro). *Acta Odontológica Venezolana.* 2014; 52: 2



38. Haapasalo M, Shen Y. Current Therapeutic Options For Endodontic Biofilms Endodontic Topics. 2012; 22:79–98.
39. Qian W, Shen Y, Haapasalo M. Quantitative Analysis Of the Effect Of Irrigation Sequences On Dentin Erosion. J Endod. 2011; 37: 1437–1441.
40. Giardino L, Ambu E, Savoldi E, Rimondini R, Cassanelli C, Debbia E. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of NaOCl, MTAD and Tetraclean against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2007; 33: 852-5.
41. George S, Kishen A. Advanced noninvasive light- activated disinfection: assessment of cytotoxicity on fibroblast versus antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2007; 33: 599-602.
42. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, et al. Irrigation in Endodontics. Dent Clin North Am. 2010; 54: 291–312.
43. Van-Eldik DA, Zilm PS, Rogers AH, et al. A SEM evaluation of debris removal from endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. Aust Dent J. 2004; 49: 128-35.
44. Van-Eldik DA, Zilm PS, Rogers AH, et al. Microbiological evaluation of endodontic files after cleaning and steam sterilization procedures. Aus Dent J. 2004; 49: 122-7.
45. Popovic J, Gasic J, Zivkovic S, et al. Evaluation of biological debris on endodontic instruments after cleaning and sterilization procedures. Int Endod J. 2010; 43: 336-41.
46. Walker JT, Dickinson J, Sutton JM, et al. Cleanability of dental instruments implications of residual protein and risks from Creutzfeldt- Jakob disease. Br Dent J. 2007; 7: 395-401.
47. Lewis DL, Arens M, Appleton SS, et al. Cross-contamination potential with dental equipment. Lancet. 1992; 340: 1252-1254.
48. Castañeda JL, Ordoñez J. La supervivencia de los gérmenes intrahospitalarios en superficies inanimadas. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 2014; 27: 394-396.
49. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infectious Diseases. 2006; 6: 130.



- 
50. Neely AN, Maley MP. Survival of Enterococci and Staphylococci on Hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 724-726.
 51. Padilla C, Nuñez N, Padilla A, et al. Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes muestras clínicas en la región del Maule, Chile. *Rev. Chil. Infectol.* 2012; 29: 55-61.
 52. Calle N, Santa C, Cardona N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. *Rev CES Med.* 2012; 26: 43-55.
 53. American Dental Association. Sterilization and Disinfection of Dental Instruments. Chicago Illinois. 2009; 1-3. [Citado 13 de May de 2016].
 54. Sánchez L, Sáenz E. Antisépticos y desinfectantes. *Rev. Dermatología Peruana.* 2005; 15: 82-103.
 55. John G, Kumar P, et al. *Enterococcus faecalis*, a nightmare to endodontist: A systematic review. *Afr.J.Microbiol.Res.* 2015; 9: 898 - 908.
 56. Endo MS, Martinho FC, Zaia AA, et al. Quantification of cultivable bacteria and endotoxin in post-treatment apical periodontitis before and after chemo-mechanical preparation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012; 31: 2575-2583.
 57. Ozok AR, Persoon IF, Huse SM, et al. Ecology of the microbiome of the infected root canal system: a comparison between apical and coronal root segments. *Int Endod J.* 2012; 45: 530-541.
 58. Balto H. An assessment of microbial coronal leakage of temporary filling materials in endodontically treated teeth. *J Endod* 2002; 28: 762-764.
 59. Zaia A, Nakagawa R, De Quadros I, et al. An in vitro evaluation of 4 materials as barriers to coronal microleakage in root-filled teeth. *Int Endod J.* 2002; 35: 729-734.
 60. Strateva T, Atanasova D, Savov E, et al. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates collected in Bulgaria. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* 2016; 20: 127-133.
 61. Díaz M, Rodríguez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Rev Cubana Hig Epidemiol.* 2010; 48: 147- 161.

