

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

**“Evaluación del grado de contaminación microbiana de conos  
de gutapercha presentes en empaques totalmente sellados por  
el fabricante”**

**Joana Estephanie Gordillo Yépez**

Tesis de Pregrado presentado como requisito para la  
obtención del título de Odontóloga

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

**HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS**

“Evaluación del grado de contaminación microbiana de conos de gutapercha  
presentes en empaques totalmente sellados por el fabricante”

**Joana Estephany Gordillo Yépez**

Dra. Johanna Monar Coloma  
Directora de la Tesis

---

Dr. Iván Bedoya  
Miembro del Comité de Tesis

---

Dra. Silvana Terán  
Miembro del Comité de Tesis

---

Dr. Nicolás Castrillón  
Miembro del Comité de Tesis

---

Dr. Fernando Sandoval  
Decano de la Facultad de Odontología

---

Quito, diciembre de 2012

**© DERECHOS DE AUTOR**

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

-----

Nombre: Joana Estephany Gordillo Yépez

C.I.: 1713385514

Fecha: 10/12/2012

**DEDICATORIA**

A Dios por ser mi guía y mi luz, a quien  
le agradezco por todo lo que tengo.

A mi papito que aunque no está conmigo siempre me  
sentí bendecida por él; por ser mi ángel guardián.

A mi hija, Emily Juliana Vega, por ser la luz de mi camino  
y mis fuerzas para seguir adelante.

Esta tesis va dedicada a toda mi familia, principalmente a mi Abuelita  
Inés Aguirre y a mi madre Alicia Yépez, las dos han sido mis  
madres y las de mi hija, gracias por su amor  
incondicional y su apoyo, sin ustedes nada fuera igual.

## AGRADECIMIENTOS

A mi madre, la Dra. Alicia Yépez, por ser una guerrera y apoyarme en estos años, por estar siempre a mi lado y a lado de Emily, por darme siempre la mejor educación. Es un orgullo de mama.

A mi abuelita Inés Aguirre, a mis tías Katty y Alexandra, a mis tíos Galo y Carlos, a mi hermano Franklin y mis primos Jonás y Salome; gracias por ser la mejor familia y por su inmensa ayuda.

A mi novio Stéfano L. Gregio por apoyarme en todo este tiempo juntos, por su amor y su inmenso esfuerzo a pesar de la distancia. Por ser un hombre de lucha al que admiro mucho.

A todos mis profesores, especialmente al Dr. Fernando Sandoval y a la Dra. Johanna Monar, por no solo enseñarme a ser una gran odontóloga, sino también a ser una gran persona. Gracias por todas sus horas y su esfuerzo digno de reconocimiento.

Al laboratorio de microbiología de la USFQ, principalmente a Gabriel Trueba, Cristina Chavez, Carolina Proaño y Lucía Fiallos, donde se desarrolló esta investigación. Gracias por su ayuda, apoyo y conocimiento.

A mis grandes amigas y compañeras, Ani Parra, Isa Salazar, Lorena Palacios, Dani Castillo, Laura de Rosa, Gaby Miranda, Maria Emilia Crespo y muchas más. Gracias por todas las risas, los llantos, el tiempo, el esfuerzo, el estrés, el apoyo, pero principalmente por su amistad.

## RESUMEN

Una consideración importante durante el tratamiento endodóncico es la prevención de la contaminación del sistema de conductos. La eliminación o la reducción significativa de microorganismos de los conductos radiculares es una de las características fundamentales para un tratamiento exitoso. El uso inadecuado de los materiales para la obturación al finalizar el tratamiento endodóncico, como el caso de los conos de gutapercha, pueden aumentar el riesgo de contaminación del sistema de conductos, y así disminuir las posibilidades de éxito. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la presencia de contaminación microbiana en conos de gutapercha de empaques sellados por el fabricante, mediante tres medios de cultivo (Agar Sangre, BHI y Bactec). De la misma manera, reconocer la morfología de cada colonia y observar su tinción Gram. Fueron consideradas marcas comercializadas en el Ecuador (Meta, Dentsply/Maillefer, Becht, Zipperer, New Stetic, y Gapadent). Los resultados obtenidos muestran que las marcas Meta, Zipperer, Becht y Gapadent presentan crecimiento microbiano en sus conos de gutapercha. El 7,1% de los conos de gutapercha de empaques sellados no se encontraban estériles. Asimismo, el 83,3% de las bacterias encontradas fueron Bacilos y el 16,7% fueron Cocos; de los cuales 16,67% fueron Gramnegativos y 83,33% Grampositivos. En conclusión, los objetivos se cumplieron al demostrar que conos de gutapercha de empaques sellados no se encontraban estériles, siendo necesaria la desinfección de los conos de gutapercha antes de su uso con el paciente.

**PALABRAS CLAVE:** conos de gutapercha, contaminación, microorganismos.

## **ABSTRACT**

An important consideration during the endodontic treatment is preventing the contamination of the root canal system. The elimination or a significant reduction of the microorganisms in the root canals is fundamental for a successful treatment. The wrong use of materials for filling root canals when the endodontic treatment is finish, such as the gutta-percha cones, could increase the risk of contamination of the root canal system and therefore the failure of the whole treatment. The objective of this study was to evaluate the presence of microbial contamination in gutta-percha cones of manufacturer's sealed packages by using three different ways of cultivation which are: Blood Agar, BHI (Brain Hearth Infusion) and Bactec. Furthermore, get to know the colony morphology and their tintion Gram. For this study, brands that are sold in Ecuador were used (Meta, Dentsply/Mailefer, Becth, Zipperer, New Stetic and Gapadent).The results showed that the brands: Meta, Zipperer, Becht and Gapadent; presented bacterial growth in their gutta-percha cones. About 7.1% of the gutta-percha cones in sealed packages were not sterile. Besides, 83.3% of the bacteria found were Bacillus and 16.7% were Coccus; from which 16.67% were Gram-negatives and 83.33% Gram-positives. In conclusion, the objectives were achieved when it was demonstrated that gutta-percha cones in the sealed packages were not sterile. For this reason, it is necessary to use a disinfectant solution before working with patients.

**KEY WORDS:** gutta-percha-cones, contamination, microorganisms.

## TABLA DE CONTENIDO

Portada.....	pág.1
Hoja de Aprobación.....	pág.2
Derechos de autor.....	pág.3
Dedicatoria .....	pág.4
Agradecimientos .....	pág.5
Resumen.....	pág.6
Abstract.....	pág.7
Tabla de Contenido.....	pág.8
Lista de Figuras.....	pág.14
Lista de Tablas.....	pág.18
1. INTRODUCCIÓN.....	pág.21
2. OBJETIVOS	
2.1 Objetivo General.....	pág.25
2.2 Objetivo Específico.....	pág.25
3. JUSTIFICACIÓN.....	pág.27
4. HIPÓTESIS.....	pág.28
5. MARCO TEÓRICO.....	pág.29
5.1 Definición de endodoncia.....	pág.29



5.2 Limpieza, conformación y obturación del sistema de conductos.....	pág. 29
5.2.1 Limpieza del conducto radicular.....	pág.30
5.2.2 Conformación del conducto radicular.....	pág.31
5.2.3 Irrigación y desinfección.....	pág.31
5.2.4 Medicación intracanal.....	pág.32
5.2.5 Obturación del conducto radicular.....	pág.33
5.2.5.1 Materiales Obturadores.....	pág.33
5.2.5.1.1 Propiedades biológicas .....	pág.34
5.2.5.1.2 Propiedades físico químicas.....	pág.34
5.2.5.2 Clasificación de los Materiales de Obturación.....	pág.35
5.2.5.2.1 Materiales en estado sólido.....	pág.35
5.2.5.2.2 Materiales en estado plástico.....	pág.35
5.3 Conos de Gutapercha.....	pág.35
5.3.1 Historia de los conos de gutapercha e estudios realizados.....	pág.35
5.3.2 Proveniencia de los Conos de Gutapercha.....	pág.38
5.3.3 Composición de los Conos de Gutapercha.....	pág.38
5.3.4 Formas cristalinas de los conos de gutapercha.....	pág.38

5.3.5 Tipos de Conos de Gutapercha.....	pág.39
5.3.5.1 Tipo I: Principales (estandarizados).....	pág.39
5.3.5.2 Tipo II: Auxiliares o Accesorios (convencionales).....	pág.40
5.4 Microbiología Básica.....	pág.41
5.4.1 Clasificación de los microorganismos.....	pág.42
5.4.1.1 En base a la presencia o ausencia de núcleo.....	pág.42
5.4.1.1.1 Procariotas.....	pág.42
5.4.1.1.2 Eucariotas.....	pág.43
5.4.1.2 Los microorganismos pueden ser clasificados en términos generales.....	pág.44
5.4.2 BACTERIAS .....	pág.44
5.4.2.1 Clasificación fenotípica de las bacterias.....	pág. 45
5.4.2.1.1 De acuerdo con su forma.....	pág.45
5.4.2.1.2 De acuerdo con la clase de flagelos.....	pág.46
5.4.2.1.3 De acuerdo con la disposición de las células.....	pág.46
5.4.2.1.4 De acuerdo con las características fisiológicas.....	pág.46
5.4.2.1.5 De acuerdo con el tamaño del organismo.....	pág.47
5.4.2.1.6 De acuerdo con la tinción de Gram.....	pág.47

5.4.2.2 Estructura de las bacterias.....	pág.47
5.4.2.2.1 Pared celular de las bacterias.....	pág.49
5.4.2.2.1.1 Bacterias Grampositivas.....	pág.50
5.4.2.2.1.2 Bacterias Gram Negativas.....	pág.51
5.5 Microbiología endodóncica.....	pág.54
5.5.1 Vías de invasión bacteriana.....	pág.55
5.5.1.1 Túbulos dentinarios.....	pág.56
5.5.1.2 Caries .....	pág.56
5.5.1.3 Defectos en el sellado marginal.....	pág.57
5.5.1.4 Infección periodontal .....	pág.57
5.5.1.5 Traumatismos.....	pág.58
5.5.1.6 Anacoresis.....	pág.59
5.5.2 Microbiología de los conductos radiculares.....	pág.60
5.5.2.1 Microbiología de los conductos radiculares en dientes vitales.....	pág.60
5.5.2.2 Microbiología de la pulpa necrótica.....	pág.61
5.5.2.3 Microbiología en los fracasos endodóncicos.....	pág.64
5.5.3 Medios de cultivo.....	pág.67
5.5.3.1 Componentes de los medios de cultivo.....	pág.67

5.5.3.2 Tipos de medios de cultivo.....	pág.68
5.5.3.3 Agar Sangre Humana.....	pág.69
5.5.3.4 Brain Hearth Infusion (BHI).....	pág.69
5.5.3.5 BACTEC.....	pág.70
6. TIPO DE ESTUDIO.....	pág.71
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	pág.71
7.1 Metodología.....	pág.72
7.1.1 Muestra.....	pág.72
7.1.1.1 Criterios de inclusión.....	pág.73
7.1.1.2 Criterios de exclusión.....	pág.73
7.2 Medios de Cultivo.....	pág.73
7.2.1 Preparación Agar Sangre Humana.....	pág.74
7.2.2 Preparación Caldo Infusión Cerebro Corazón (Brain Hearth Infusión).....	pág.75
7.3 Control Negativo.....	pág.76
7.4 Control Positivo.....	pág.76
7.5 Grupos de Estudio.....	pág.77
7.5.1 Grupos A y B (Conos de gutapercha Meta y Dentsply/Maillefer correspondientemente).....	pág.77

7.5.2 Grupo C, D, E, F (Conos de gutapercha Zipperer, Becht, Gapadent y New Stetic correspondientemente).....	pág.80
7.6 Cultivo de bacterias .....	pág.80
8. RESULTADOS.....	pág.84
8.1 Análisis Descriptivo.....	pág.89
8.2 Análisis del cultivo de conos de gutapercha en Agar sangre, BHI y Bactec.....	pág.98
8.3 Prueba de hipótesis Chi Cuadrada.....	pág.102
9. DISCUSIÓN.....	pág.104
10. CONCLUSIONES.....	pág.112
11. RECOMENDACIONES.....	pág.113
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	pág.114

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Principales características de los procariontes.....pág.43
- Figura 2. Principales características de los eucariotes.....pág.44
- Figura 3. Morfología de las bacterias.....pág.45
- Figura 4. Colocación de sangre humana en el caldo base de Agar Sangre.....pág.75
- Figura 5. Colocación de un cono de gutapercha en Agar Sangre.....pág.78
- Figura 6. Colocación de un cono de gutapercha dentro de BHI.....pág.79
- Figura 7. Colocación de un cono de gutapercha dentro de Bactec.....pág.79
- Figura 8. Cono de gutapercha en Agar Sangre de una cámara que asemeja un ambiente de anaerobiosis.....pág.80
- Figura 9. Conos de gutapercha incubados en tres medios de cultivo dentro de la incubadora DUREX a 37° C.....pág.81
- Figura 10. Tinción Gram.....pág.83
- Figura 11. Análisis de las muestras en microscopio óptico LEICA.....pág.83
- Figura 12. Hemolisis alrededor del cono de gutapercha.....pág.85

Figura 13.A. Cono de gutapercha #15, no presenta crecimiento;

B. Cono de gutapercha #20, presenta crecimiento;

C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;

D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.....pág.91

Figura 14.A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;

B. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;

C. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez.....pág.92

Figura 15A. Cono de gutapercha #20 en Bactec, no presenta crecimiento;

B. Subcultivo del caldo Bactec en agar sangre, no presenta  
crecimiento.....pág.92

Figura 16. A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;

B. Cono de gutapercha #25, presenta contaminación externa;

C. Cono de gutapercha #35, presenta contaminación externa;

D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.....pág.93

Figura 17.A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;

B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;

C. Cono de gutapercha #40, no presenta turbidez.....pág.93

Figura 18.A. Cono de gutapercha #35 en Bactec, no presenta crecimiento;

B. Subcultivo del caldo Bactec en agar sangre, no presenta  
crecimiento.....pág.94

- Figura 19.A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;
- B. Cono de gutapercha #25, presenta contaminación externa;
  - C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;
  - D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.....pág.94

- Figura 20. A. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;
- B. Cono de gutapercha #30, no presenta turbidez;
  - C. Cono de gutapercha #40, presenta turbidez.....pág.95

- Figura 21.A. Cono de gutapercha #15, no presenta crecimiento;
- B. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;
  - C. Cono de gutapercha #35, presenta crecimiento y contaminación externa;
  - D. Cono de gutapercha #40, presenta contaminación externa.....pág.95

- Figura 22. A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;
- B. Cono de gutapercha #35, presenta turbidez;
  - C. Cono de gutapercha #40, no presenta turbidez.....pág.96

- Figura 23.A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;
- B. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;
  - C. Cono de gutapercha #35, no presenta crecimiento;
  - D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.....pág.96



Figura 24. A. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;  
B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;  
C. Cono de gutapercha #30, no presenta turbidez.....pág.97

Figura 25. A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;  
B. Cono de gutapercha #25, no presenta crecimiento;  
C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;  
D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.....pág.97

Figura 26. A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;  
B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;  
C. Cono de gutapercha #35, no presenta turbidez.....pág.98

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características de la membrana de las bacterias Grampositivas y Gramnegativas.....	pág.54
Tabla 2. Bacterias aerobias y anaerobias facultativas aisladas en las necrosis pulpaes.....	pág.63
Tabla 3. Bacterias anaerobias estrictas aislados en las necrosis pulpaes.....	pág.64
Tabla 4.Resultados de los controles positivo, negativo y con NaOCl en medio agar Agar Sangre Humana.....	pág.84
Tabla 5. Resultados de los controles positivo, negativo en medio BHI.....	pág.84
Tabla 6. Porcentaje total de conos contaminados y no contaminados.....	pág.85
Tabla 7. Cantidad de conos contaminados y no contaminados por marca.....	pág.86
Tabla 8. Porcentaje de conos contaminados y no contaminados por marca.....	pág.86
Tabla 9. Cantidad de conos contaminados y no contaminados por número de cono.....	pág.86
Tabla 10. Porcentaje de conos contaminados y no contaminados por tipo de cono.....	pág.87

Tabla 11. Cantidad de conos contaminados por número de cono en Agar Sangre y BHI.....	pág.87
Tabla 12. Porcentaje de conos contaminados por número de cono en Agar Sangre y BHI.....	pág.87
Tabla 13. Porcentaje de conos contaminados por cultivo.....	pág.87
Tabla 14. Resultados de la tinción Gram.....	pág.88
Tabla 15. Resultados de la forma de las bacterias encontradas.....	pág. 88
Tabla 16. Cantidad de bacilos y cocos encontrados en medio Agar Sangre y BHI por número de cono.....	pág.88
Tabla 17. Porcentaje de bacilos y cocos encontrados en medio Agar Sangre y BHI por número de cono.....	pág.89
Tabla 18.Cantidad de bacilos y cocos encontrados en medio Agar Sangre y BHI por marca de cono.....	pág.89
Tabla 19. División de los conos de gutapercha por marca y cultivo.....	pág.89
Tabla 20. Cantidad de conos utilizados por marca, el total de muestras por número de cono y total general.....	pág.90
Tabla 21. Porcentajes correspondientes a la cantidad de muestras.....	pág.90
Tabla 22. Porcentaje correspondiente a la cantidad de muestras por marca.....	pág.90
Tabla 23. Porcentaje correspondiente a la cantidad de muestras por número de cono.....	pág.91

Tabla 24. Resultados del cultivo después de 72 horas en medio Agar Sangre.....pág.98

Tabla 25. Resultados del cultivo después de 72 horas en medio BHI.....pág.100

Tabla 26.Resultados del cultivo después de 72 horas en medio BACTEC.....pág.101

Tabla 27.Resultados Prueba de hipótesis Chi Cuadrada.....pág.103

## 1. INTRODUCCIÓN

La endodoncia es ciencia y es arte; comprende la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria y sus repercusiones en la región periapical y por consiguiente en el organismo (Leonardo, 2005, pág. 9). Tiene por objetivo el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares (Canalda Sahli, 2006, pág. 1).

Actualmente está considerada como una de las ramas más importantes de la odontología, en razón de su desarrollo técnico científico; pero antes de alcanzar ese grado, estuvo sometida a los más variados conceptos y filosofías que caracterizaron las diversas épocas de su evolución (Leonardo, 2005, pág. 1).

Por otro lado, el tratamiento endodóncico está conformado por dos fases iniciales las cuales son cruciales: la primera es la fase mecánica, que implica la instrumentación; y la fase química, que implica el uso de soluciones antimicrobianas como agentes de irrigación. La tercera fase del tratamiento endodóncico es el relleno del sistema de conductos, el cual debe sellar herméticamente los conductos, en tres dimensiones desde el tercio apical hasta el tercio coronal.

Uno de los objetivos principales en el tratamiento endodóncico, es la eliminación o reducción de los microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares; preservando la integridad y salud de los tejidos vitales adyacentes como los tejidos periradiculares (Siqueira, 2003, pág. 459).

La medicación intracanal es una herramienta valiosa, capaz de controlar infecciones. Es necesaria para la completa eliminación microbiana en el sistema de conductos radiculares y para la eliminación de microorganismos que se encuentran en lugares donde ni los instrumentos, ni los irrigantes pueden llegar. A la vez, en los casos de canales radiculares que requieren más de una visita para finalizar el tratamiento, la cantidad existente de bacterias después de cada cita es la suficiente como para desarrollar y reinfectar el espacio de conductos radiculares entre citas (Siqueira, 2003, pág. 459).

Siqueira y col., demostraron que con la instrumentación e irrigación se eliminan el 90% de las bacterias. El 10% restante de microorganismos pueden potencialmente proliferar entre citas. Es por esto que la medicación intracanal se han propugnado para promover la desinfección o erradicación de microorganismos en los túbulos dentinarios y la recontaminación del conducto radicular entre citas. Por lo tanto, el uso de medicamentos intraconducto ayuda en la prevención del dolor postoperatorio causado por la persistencia de microorganismos intraconducto o por invasores microbianos secundarios.

Los microorganismos juegan un papel fundamental en la etiología de las enfermedades pulpares y periapicales. Un esfuerzo considerable debe hacerse para eliminar los microorganismos existentes en el sistema de conductos radiculares y evitar el ingreso de otros. En la terapia endodóncica, una secuencia aséptica es una de las principales preocupaciones de los profesionales durante todas las fases del tratamiento endodóncico, dentro de las cuales se encuentra la obturación (Souza, Souza, Sousa-Neto, & Linhari Rodrigues Pietro, 2003, pág. 76).

La obturación es un procedimiento importante en el tratamiento endodóncico, ya que previene una reinfección del conducto radicular y previene la exodoncia. Se debe tener cuidado durante este procedimiento evitando la contaminación cruzada del conducto radicular por los instrumentos o materiales de relleno (Pang, Jung, & Bae, 2007, pág. 294).

En la práctica clínica, el profesional se enfrenta en ocasiones con el problema de la infección que se produce después de la obturación de los conductos radiculares. Una explicación posible para este fenómeno puede ser la introducción de conos de gutapercha contaminados dentro del conducto radicular (Ozalp, Okte, & Ozcelik, 2006, pág. 1202).

La gutapercha es un polímero de isopreno similar al caucho. Se obtiene del exudado de ciertos árboles del archipiélago malayo, el mismo se hace plástico a temperaturas mayores de 60 °C (Palma Cárdenas & Sánchez Aguilera, 2010, pág. 224). Los conos de gutapercha están compuestos por gutapercha (19-21%), óxido de zinc (60-75%), sulfatos metálicos, ceras y resinas en pequeñas cantidades. El componente mayor es el óxido de zinc, sin embargo, el comportamiento del material se asemeja más al de los materiales orgánicos. El óxido de zinc es el responsable de las propiedades antibacteriales de los conos de gutapercha (Macchi, 2007, pág. 362).

Debido a la característica termoplástica de los conos de gutapercha, estos no pueden ser esterilizados por el proceso convencional, en el que se utiliza calor húmedo o seco, ya que esto puede provocar una alteración en la estructura de la gutapercha. Los conos de gutapercha deben ser esterilizados por soluciones químicas como: polividona yodada, glutaraldehído, hipoclorito de sodio,

peróxido de hidrógeno, clorhexidina, paraformaldehído, alcohol etílico, amonio cuaternario, y recientemente se utiliza la irradiación electrónica. Estas soluciones no alteran las características, ni la estructura de la gutapercha como lo hace el calor (Souza, Souza, Sousa-Neto, & Linhari Rodrigues Pietro, 2003, pág. 76).

Los conos de gutapercha, en la actualidad, son el material más utilizado en la obturación del sistema de conductos y pueden ser contaminados por agentes patógenos durante la manipulación y/o procesos de almacenamiento en las clínicas (Pang, Jung, & Bae, 2007). Existen muy pocos estudios que sustentan que conos de gutapercha tomados de envases sellados puede estar contaminados por una variedad de microorganismos, tales como cocos, varillas, bacilos, esporas, y levaduras (Ozalp, Okte, & Ozcelik, 2006, pág. 1202).

Son muy pocos los estudios que abordan este tema en el Ecuador y en el mundo. Es por eso que el objetivo de esta investigación es la evaluación del grado de contaminación de conos de gutapercha comercialmente disponibles, tomados directamente desde sus cajas selladas por el fabricante; y así mismo observar la forma de estos microorganismos y su tinción Gram.



## **2. OBJETIVOS:**

### **2.1 Objetivo General:**

Evaluar el grado de contaminación de conos de gutapercha tomados directamente de empaques sellados por el fabricante de las marcas Meta, Becht, Dentsply/Maillefer, Zipperer, New Stetic, Gapadent disponibles en el mercado ecuatoriano.

### **2.2 Objetivo Específico:**

- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca Meta
- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca Dentsply/Maillefer
- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca Hygenic
- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca Becht
- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca New Stetic
- Identificar el grado de esterilidad de los conos de gutapercha marca Gapadent
- Identificar cual de las marcas de conos de gutapercha a estudiar se encuentra estéril en su empaque
- Identificar que marcas de conos de gutapercha muestran crecimiento microbiano después de 72 horas de cultivo en agar sangre.

- Identificar que marcas de conos de gutapercha muestran turbidez después de 72 horas de cultivo en BHI.
- Identificar la forma de los microorganismos.
- Clasificar los microorganismos de acuerdo a la tinción Gram.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Uno de los objetivos primordiales en el tratamiento endodóncico es la eliminación ó reducción de los microorganismos presentes en los conductos radiculares.

Microorganismos infecciosos pueden ser eliminados con la preparación biomecánica de los conductos. Sin embargo, en contraste con el cuidado que se toma en la limpieza y conformación de los conductos; la obturación puede ser un procedimiento para la contaminación de los mismos sí instrumentos no estériles y materiales de relleno contaminados entran al sistema de conductos.

Se ha argumentado que la prevención de la contaminación se convierte en un problema porque los conos de gutapercha que se utilizan para obturar el espacio del conducto radicular, no son esterilizables en el calor. Este argumento provocó una serie de estudios en los que se probaron diferentes agentes químicos en la descontaminación de los conos de gutapercha. En muchos de estos estudios, los investigadores contaminan intencionalmente los conos de gutapercha con diversas cepas de bacterias antes de probar la eficacia de estos descontaminantes químicos.

Es interesante observar que sólo hay pocos estudios publicados en los que se evalúa la contaminación de conos de gutapercha tomados directamente de su empaque sellado. En 1971, Montgomery publicó un artículo, en el que los conos de gutapercha fueron sacados del embalaje de fábrica original y se colocaron directamente en medios de cultivo. En este estudio, ocho por ciento de los conos mostraron un crecimiento microbiano. Montgomery llegó a la conclusión de que los microorganismos identificados fueron patógenos, lo que

indica la necesidad de descontaminar los conos de gutapercha antes de colocarlos en los conductos radiculares. Doolittle y sus colegas, en 1975, tomaron 24 puntas de gutapercha directamente de la caja del fabricante y los colocaron en un medio de cultivo. Ninguno de los conos de gutapercha dieron positivos para el crecimiento microbiano. Estudios posteriores que se realizaron utilizando agentes químicos para la descontaminación rápida de conos de gutapercha, se basaron en el artículo de Montgomery.

Por todo lo anteriormente expuesto, es necesario realizar más estudios para la detección de agentes microbianos en las diferentes marcas de conos de gutapercha comercializadas en el Ecuador. Y confirmar la existencia de microorganismos en los conos de gutapercha de empaques sellados.

#### **4. HIPÓTESIS**

Los conos de gutapercha que se venden comercialmente, se encuentran estériles dentro de sus empaques sellados.

## **5. MARCO TEÓRICO**

### **5.1 Definición de Endodoncia:**

Endodoncia es ciencia y es arte, comprende la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria y de sus repercusiones en la región periapical y por consiguiente en el organismo (Leonardo, 2005, pág. 9).

La Endodoncia constituye una ciencia, integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Su objetivo es el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares (Canalda Sahli, 2006, pág. 1).

### **5.2 Limpieza, conformación y obturación del sistema de conductos**

El tratamiento endodóncico tiene dos fases iniciales que son cruciales: la fase mecánica, que implica la instrumentación, y la fase química, que implica el uso de soluciones antimicrobianas como agentes de irrigación. La tercera fase del tratamiento endodóncico es el relleno del sistema de conductos, el cual debe sellar lo más herméticamente posible los conductos, en tres dimensiones y a la vez, debe tener un buen selle apical como coronal (Pina-Vaz, Noites, Fontes de Carvalho, & Espinar, 2008).

Es un hecho universalmente aceptado que un resultado exitoso en el tratamiento endodóncico depende de estos tres factores: la limpieza y conformación, desinfección y obturación tridimensional del sistema de conductos radiculares. Aunque es imposible determinar cuál de los tres

factores es el más importante es obvio que el clínico debe conceder la misma atención a todos los pasos en el tratamiento endodóncico. (Gheorghita, Tuculina, Diaconu, Andrei, Moraru, & Bataiosu, 2011).

Según Schilder, existen cinco objetivos en la limpieza y la conformación para mejorar tanto el éxito de la endodoncia como la comodidad del paciente durante el tratamiento. 1. Limitar la instrumentación a los conductos radiculares. No instrumentar el hueso ni las lesiones periapicales.

2. Tener cuidado de no introducir material necrótico más allá del agujero apical.

3. Eliminar completamente el tejido necrótico del conducto radicular.

4. Completar la limpieza y conformación de los dientes uniradiculares en una sola visita y, siempre que sea posible, preparar los dientes multiradiculares uno a la vez.

5. Ampliar el canal radicular lo suficiente para recibir la medicación intracanal.

### **5.2.1 Limpieza del Conducto Radicular**

Según Soares, la limpieza implica la remoción del tejido pulpar contenido en el conducto dentinario.

La desbridación de los conductos, como parte del proceso de limpieza y preparación, es la eliminación de sustratos que alimentan a los microorganismos. Como el sistema de conductos es irregular, los instrumentos no alcanzan todas las aletas, puntos ciegos y áreas entre los conductos principales. Los irrigantes enjuagan y aflojan los residuos, proporcionan lubricación, ejercen acción antimicrobiana y disuelven algunos residuos en el conducto. El hipoclorito de sodio (NaOCl 2.5 al 5.25%) se considera el irrigante de elección; tiene la capacidad de disolver algunos residuos orgánicos en

áreas que no alcanzan los instrumentos y es un agente antimicrobiano excelente, aunque tiene una acción limitada en los conductos. Se puede obtener mayor acción química al irrigar los conductos con más frecuencia y volumen. Un sistema de conductos con residuo pulpar necrótico puede almacenar bacterias en las aletas u otras áreas no instrumentadas. Para ser eficiente, el irrigante debe alcanzar los residuos en estas áreas. Los aditamentos sónicos mejoran ésta acción. El líquido debe colocarse de manera pasiva y profunda dentro del conducto sin acuñar la aguja para no forzar de manera inadvertida el irrigante a los tejidos perirradiculares, donde producen dolor, inflamación y quizá parestesia; para evitar que suceda esto se utiliza una aguja endodóncica roma; un acceso en línea recta y la forma cónica adecuada en la preparación del conducto mejora la limpieza al permitir mayor penetración de la aguja y por tanto una irrigación más eficiente (Torabinejad & Walton, 2010).

### **5.2.2 Conformación del Conducto Radicular**

La conformación (o instrumentación) tiene por objetivo la creación de condiciones morfológicas y dimensionales para que el conducto pueda obturarse de manera correcta. El cuidado de esos dos aspectos dará al conducto una forma tridimensional adecuada para la obturación (Soares, 2002, pág. 86).

### **5.2.3 Irrigación y Desinfección**

La conformación y desinfección de los conductos son dos actividades que están íntimamente relacionadas. Mientras haya una ampliación suficiente del conducto, el agente irrigante tendrá mejor penetrabilidad y así efectuará la

desinfección del sistema de conductos.

Actualmente se acepta que la desinfección del conducto radicular es uno de los aspectos que merecen más atención durante el tratamiento endodóncico, ya que mediante la irrigación con un agente químicamente activo, se disuelven los restos orgánicos dentinarios y los remanentes pulpares.

La acción de irrigación se debe realizar desde el mismo momento en que tenemos acceso a la cámara pulpar y luego hacerlo repetidamente mientras se realiza la conformación del conducto entre un lima y otra (Tobón C., 2003, pág. 64).

#### **5.2.4 Medicación intracanal**

Los microorganismos que no se eliminan del conducto se multiplican entre las citas. La colocación de una torunda de algodón seca y estéril puede permitir el crecimiento de bacterias. Desde hace tiempo se utilizan medicamentos intraconducto, casi siempre fenoles como el formocresol, paraclorofenol alcanforado, eugenol y haloides (yoduro de yodo-potasio). Estos medicamentos son antigénicos y citotóxicos y son eficaces sólo por un periodo corto. El recubrimiento intraconducto actual de elección es el hidróxido de calcio, que tiene un mayor efecto antimicrobiano entre las citas que los agentes antes enumerados; muestra capacidad para disolver la pulpa in vitro; este efecto no se ha demostrado en los conductos. Sin embargo, su uso intraconducto fomenta la eficacia con hipoclorito de sodio en las citas subsecuentes, el cual también mejora la eficacia antimicrobiana. El polvo del hidróxido de calcio se mezcla con agua, glicerina o suero fisiológico para formar una pasta espesa; esta pasta, o la preparación comercial se coloca en la cámara pulpar con un



instrumento plástico, o una jeringa y se lleva hacia abajo en cada conducto con un léntulo en espiral, un empacador o con lima al girarlas contra las manecillas del reloj (Torabinejad & Walton, 2010).

### **5.2.5 Obturación del conducto radicular**

La obturación del sistema de conductos radiculares tiene por objetivo el llenado de la porción conformada del conducto con materiales inertes y antisépticos que promuevan un sellado estable y tridimensional y estimulen –o no interfieran- con el proceso de reparación. (Soares, 2002)

Es axiomático que el sellado tridimensional del conducto radicular por medio de la obturación se constituye en un procedimiento de importancia fundamental. Al ocupar el espacio creado por la conformación, la obturación se constituye en un procedimiento de importancia fundamental. Al ocupar el espacio creado por la conformación, la obturación torna inviable la supervivencia de los microorganismos, evita el estancamiento de líquidos, ofrece condiciones para que se produzca la reparación y contribuye así, de manera decisiva, con el éxito de la terapéutica endodóncica. (Soares, 2002, pág. 141)

#### **5.2.5.1 Materiales Obturadores**

De los materiales a ser utilizados durante el procedimiento de obturación se exigen una serie de propiedades que pueden ser divididas en biológicas y físico-químicas. Desde hace mucho tiempo se buscan materiales para obturar conductos radiculares que más se aproximen a lo ideal, considerando estas propiedades.

#### **5.2.5.1.1 Propiedades biológicas**

- Buena tolerancia tisular
- Ser reabsorbido en el periápice en casos de sobreobturaciones accidentales
- Estimular o permitir la aposición de tejido fibroso de reparación en el foramen
- Tener acción antimicrobiana
- No desencadenar respuesta inmune en los tejidos apicales y periapicales
- No ser mutagénico o cancerígeno

#### **5.2.5.1.2 Propiedades físico químicas**

- Facilidad de introducción en el conducto radicular
- Ser plástico en el momento de la introducción y sólido posteriormente
- Propiciar buen tiempo de trabajo
- Permitir un sellado del conducto radicular lo más hermético posible
- No debe experimentar contracciones
- No debe ser permeable
- Debe tener buena fluidez
- Tener buena viscosidad y adherencia
- No solubilizarse en el interior del conducto radicular
- No contraerse
- Tener pH próximo a neutro
- Ser radiopaco
- No manchar las estructuras dentales

- Ser fácil de remover

## **5.2.5.2 Clasificación de los Materiales de Obturación**

### **5.2.5.2.1 Materiales en estado sólido**

- Conos de gutapercha
- Conos de resina

### **5.2.5.2.2 Materiales en estado plástico**

- Cementos

## **5.3 Conos de Gutapercha**

### **5.3.1 Historia de los conos de gutapercha e estudios realizados**

Mucho antes de que la gutapercha sea utilizada como un material obturador, está fue introducida en el mundo occidental. Se la utilizó en forma cruda por los nativos del archipiélago malayo para la fabricación de mangos de cuchillos, bastones, entre otros fines. La primera persona en descubrir este material fue John Tradescant después de sus viajes al Extremo Oriente en 1656, y lo nombró como "Mazer wood". Pero el honor en la introducción de este material va al doctor William Montogmerie, que era un médico en el servicio de la India. Él fue el primero en apreciar el potencial de este material en la medicina y fue galardonado con la medalla de oro por la Royal Society of Arts, Londres, en 1843 (Prakash, Gopikrishna, & Kandaswamy, 2005, págs. 82-83).

Tan pronto como se introdujo la gutapercha, esta fue utilizada como medio para aislar cables subterráneos en el fondo del mar. La primera patente de la gutapercha fue realizada por Alexander, Cabriol y Duclos con el nombre de "Gutta-percha Fabric". En 1845, Hancock y Bewley formaron la primera

compañía de gutapercha en el Reino Unido (Prakash, Gopikrishna, & Kandaswamy, 2005, págs. 82-83).

En medicina, se utilizaba como férulas para unir fracturas en articulaciones y también para la fabricación de mangos de pinzas, catéteres, etc. Igualmente se utilizaba para controlar la hemorragia de heridas. La gutapercha también fue utilizada para enfermedades de la piel por los dermatólogos, en particular contra la viruela, erisipela, psoriasis y eczema (Prakash, Gopikrishna, & Kandaswamy, 2005, págs. 82-83).

La gutapercha se introdujo por primera vez en el campo de la odontología por un dentista de Connecticut, el Doctor Asa Hill, en 1847. Esta se utilizó como material restaurador de plástico. La mezcla de carbonato de cal y de cuarzo se lo llamó "Hill'sstopping". (Shnaydman, 2011)

El Doctor G.A. Browman, en 1867, introdujo la gutapercha en Endodoncia como material de obturación de conductos radiculares. Este material aún sigue siendo el material más popular y más utilizado en la obturación de los mismos, esto se debe a su facilidad de uso, su costo reducido y su biocompatibilidad con los tejidos periapicales.

Holland et al., evaluaron la respuesta tisular de implantes de gutapercha de diferentes marcas (Caulk, Antaeos, Mynol, Odame y gutapercha en barra de la casa S.S White) en el tejido conjuntivo subcutáneo de ratones, por períodos de 30 y 60 días. Concluyeron que la respuesta de los tejidos a los conos de gutapercha estudiados fue similar, excepto los de Caulk/Dentsply. Siendo éstos considerados materiales poco irritantes para el tejido conjuntivo, en el que sólo se observó una reacción inflamatoria moderada. Estos resultados también se

corroboraron en seres humanos.

Wolfson & Seltzer evaluaron la reacción del tejido conjuntivo de ratones ante las siguientes marcas de conos de gutapercha: Premier, Kerr, Mynol, Star y Union-Broach, además de la Kloroperka y Poly (una composición que contiene gutapercha natural e hidróxido de calcio) y obtuvieron respuestas inflamatorias clasificadas como leve o ausente para todos los materiales, excepto la Kloroperka que produjo una grave destrucción de los tejidos con formación de abscesos, hasta el período final de 64 días.

Marques analizó en tejido subcutáneo de ratones la biocompatibilidad de los conos principales de gutapercha de las marcas, Caulk, Odame, Kerr y Maillefer. Los resultados obtenidos a los 7, 21 y 60 días, mostraron en todos los grupos, una cápsula fibrosa abundantemente celularizada a los 21 días, y se observó colagenización de la misma en todos los grupos. Concluyeron que los conos de gutapercha, de las diferentes marcas probadas, eran bien tolerados por el tejido conjuntivo subcutáneo de ratones.

Aunque actualmente los trabajos de investigación señalen la gutapercha como material bien tolerado por los tejidos, es importante destacar que éste debe localizarse en el interior del conducto radicular, pues cuando extravasa hacia los tejidos periapicales, no experimenta reabsorción. Cuando el cono de gutapercha sobrepasa hacia los tejidos periapicales, generalmente se observa que ese material permite la formación de una cápsula fibrosa a su alrededor (Leonardo, 2005).

### **5.3.2 Proveniencia de los Conos de Gutapercha**

La gutapercha es una sustancia vegetal extraída del coágulo del látex de un árbol de las familias de las Sapotáceas (*Mimusops balata* y *Mimusops shiberi*), existentes en el sureste de Asia principalmente en Sumatra, Filipinas y el archipiélago indonesio, aunque se encuentran también en otras partes del mundo, como en la selva amazónica de Brasil. La palabra gutapercha es de origen malayo y tiene el siguiente significado: gatah, goma y pertja, es el nombre del árbol en el idioma malayo (Prakash, Gopikrishna, & Kandaswamy, 2005).

### **5.3.3 Composición de los Conos de Gutapercha**

Después de purificar la materia prima, originalmente obtenida para confeccionar los conos, se le agregan varias sustancias para mejorar sus propiedades físico químicas, principalmente la dureza, la radiopacidad, la maleabilidad y la estabilidad. Entre esas sustancias podemos mencionar el óxido de zinc, el carbonato de calcio, el sulfato de bario, el sulfato de estroncio, el catgut pulverizado, las ceras, las resinas, el ácido, los colorantes y el aceite de clavo.

La gutapercha integra la composición de los conos en una proporción del 20%, aproximadamente, y el óxido de zinc en el 60% al 75%, y los demás elementos en proporciones menores que varían entre el 1,5% y el 15%.

### **5.3.4 Formas cristalinas de los conos de gutapercha**

La gutapercha se presenta en dos formas cristalinas, alfa y beta, con características diferentes desde el punto de vista molecular y termoplástico. Por

ejemplo, la gutapercha alfa tiene una temperatura de ablandamiento más elevada que la beta (65°C y 56°C, respectivamente). La que se expende comercialmente es la forma beta (Macchi, 2007, pág. 362).

Cuando la gutapercha se encuentra en su forma  $\beta$  es sólida, cuando esta es calentada se vuelve más maleable, mientras que en la forma  $\alpha$  es pegajosa. Cuando la gutapercha en forma  $\beta$  se calienta por encima de 46°C, cambia a la fase  $\alpha$  y llega a ser flexible y puede fluir. Esto es muy útil para las técnicas termoplásticas cuando se las utilizan. Cuando la fase  $\alpha$  de la gutapercha se enfría, está se cristaliza a la forma  $\beta$  con una ligera contracción de entre 1 y 2% (Schilder, 1974).

Hoy en día, se sabe que la fase  $\alpha$  tiene la mayor pureza de la gutapercha, mayor adhesividad y mayor fluidez, pero menor es su estabilidad dimensional.

### **5.3.5 Tipos de Conos de Gutapercha**

#### **5.3.5.1 Tipo I: Principales (estandarizados)**

Los conos de gutapercha principales son los que deben adaptarse (ajustarse) en el área del tope apical (preparación apical), deben entonces estar numerados de acuerdo con los números que corresponden a los instrumentos estandarizados.

También los conos de gutapercha principales deberán tener una conicidad uniforme de 0,02 m por milímetro de longitud y diámetros denominados  $D_0$ ,  $D_1$ ,  $D_3$  y  $D_{16}$  equivalentes a los diámetros de los instrumentos estandarizados.

Muchas industrias especializadas, ofrecen conos de gutapercha principales, siendo que algunas usan en su fabricación más cantidad de óxido de zinc, lo

que los deja más rígidos, quebradizos y menos pastificables. Los conos de gutapercha maleables son los mejores para la condensación lateral. La luz, el calor y el almacenamiento prolongado alteran la estructura cristalina de la gutapercha y dejan los conos más quebradizos.

Los conos principales son los que generalmente van a llenar la mayor parte del conducto y van a adaptarse de la mejor forma posible en el tope apical. Estos conos serán excesivamente manipulados durante su adaptación clínica y por eso deben ser de buena calidad. Como ya se ha dicho, son estandarizados, así como los instrumentos utilizados para la preparación de los conductos radiculares (Leonardo, 2005, págs. 954-962).

#### **5.3.5.2 Tipo II: Auxiliares o Accesorios (convencionales)**

Los conos auxiliares se utilizan para llenar, juntamente con la condensación lateral activa, los espacios existentes entre el cono principal y las paredes del conducto radicular. Tienen forma más cónica, con puntas bien finas que facilitan su introducción en los espacios abiertos por los espaciadores, en el momento de la obturación de los conductos radiculares. (Leonardo, 2005, págs. 954-962)

Los conos de gutapercha auxiliares deberán tener una conicidad uniforme de 0,02mm/mm y diámetro denominados  $D_1$ ,  $D_3$  y  $D_{16}$  equivalentes a los diámetros de los instrumentos.



## 5.4 Microbiología Básica

Se podría imaginar la emoción que sintió en 1674 el biólogo holandés Antón van Leeuwenhoek cuando examinó con sus lentes de microscopio una gota de agua y descubrió un mundo formado por millones de diminutos <animáculos>. Aproximadamente cien años después el biólogo danés Otto Müller amplió los estudios de van Leeuwenhoek y, siguiendo los métodos de clasificación de Carlos Linneo, organizó a las bacterias en géneros y especies. Se trataba del inicio de la clasificación taxonómica de los microorganismos. En 1840, el anatomopatólogo alemán Friedrich Henle propuso unos criterios para demostrar que los microorganismos eran responsables de la aparición de enfermedades en el ser humano (la denominada <teoría de los gérmenes> de las enfermedades). En los años setenta y ochenta del mismo siglo, Robert Koch y Louis Pasteur confirmaron esta teoría mediante una serie de elegantes experimentos en los que demostraron que los microorganismos eran responsables de la aparición del carbunco, la rabia, la peste, el cólera y la tuberculosis. Más adelante, otros brillantes científicos confirmaron que una amplia variedad de microorganismos producían otras enfermedades humanas. La era de la quimioterapia comenzó en 1910, cuando el químico alemán Paul Ehrlich descubrió el primer compuesto antibacteriano, un compuesto que resultó efectivo contra la espiroqueta causante de la sífilis. Los años posteriores asistieron al descubrimiento de la penicilina por Alexander Fleming en 1928, la sulfanilamida en 1935 por Gerhard Domagk y la estreptomycinina por Selman Waksman en 1943. En 1946, el microbiólogo estadounidense John Enders fue el primero en cultivar virus en cultivos celulares, proporcionando así un medio para la producción a gran escala de cultivos víricos para el desarrollo

de vacunas. Los primeros pasos de estos innovadores investigadores han sido seguidos por miles de científicos que, trabajando con los fundamentos establecidos por sus predecesores, han añadido más y más datos para ampliar los conocimientos sobre los microorganismos y el papel que ejercen en la aparición de las enfermedades. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 1)

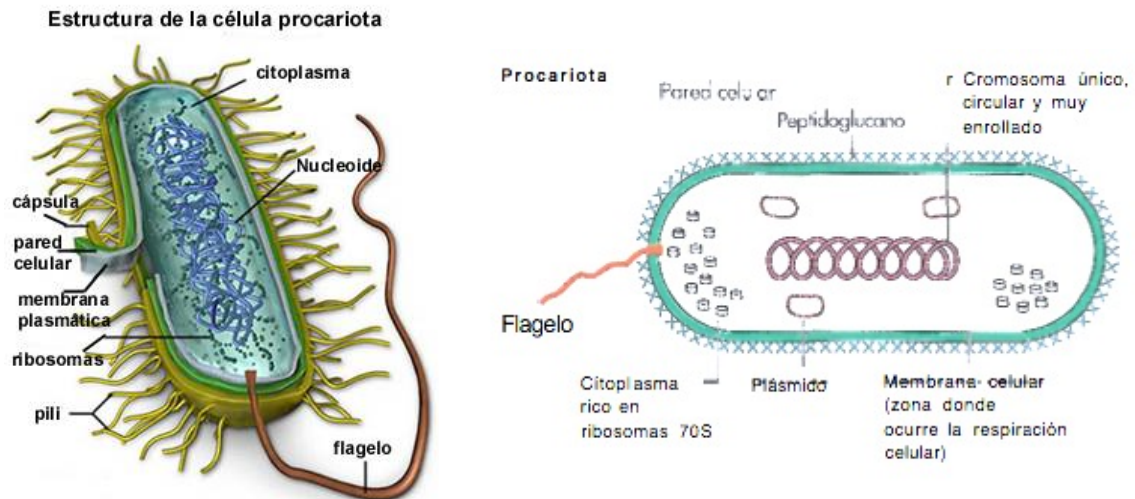
El mundo descubierto por Van Leeuwenhoek era complejo y estaba formado por protozoos y bacterias de todas las formas y tamaños. Sin embargo, la complejidad de la microbiología médica actual se acerca al límite de la imaginación. Así, en la actualidad se sabe que existen miles de diferentes tipos de microorganismos que viven en el interior, la superficie o alrededor del ser humano y, asimismo, pueden contarse por centenares los que son capaces de provocar en él enfermedades graves. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 1)

#### **5.4.1 Clasificación de los microorganismos**

##### ***5.4.1.1 En base a la presencia o ausencia de núcleo:***

###### **5.4.1.1.1 Procariotas**

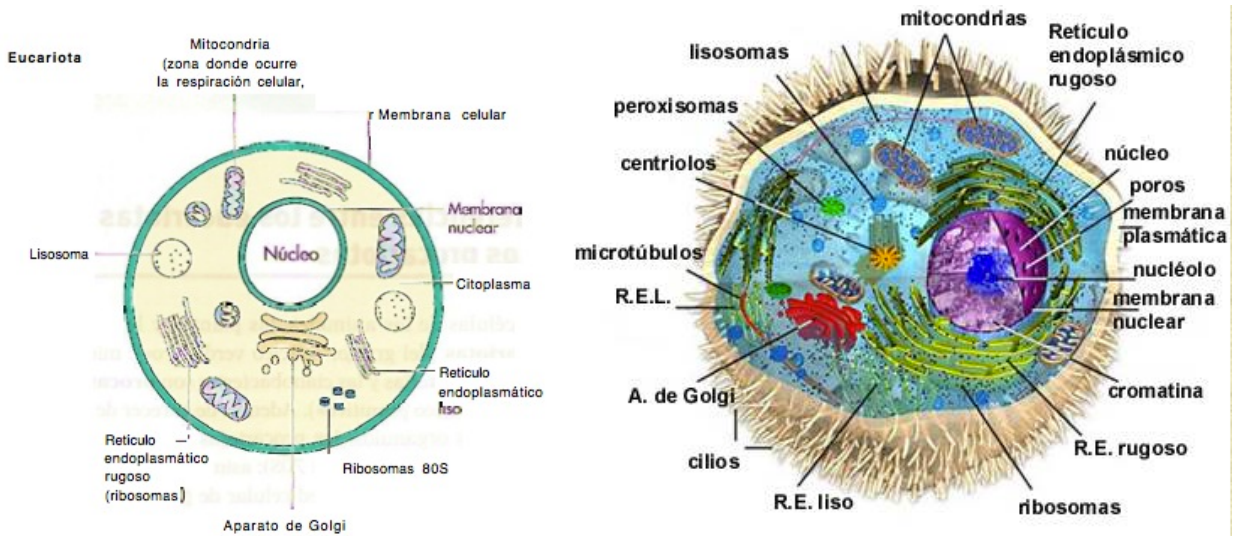
- Ejemplo: Bacterias
- Nucléolo y membrana nuclear ausentes
- Cromosoma único
- Ausencia de organelas que delimitan la membrana
- Ribosomas -70s
- Respiración por la membrana celular



**Figura #1:** Principales características de los procariotas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 12)

#### 5.4.1.1.2 Eucariotas

- Ejemplo: Hongos, protozoos, algas, etc.
- Nucléolo y membrana nuclear presentes
- Cromosomas múltiples
- Presencia de organelas que delimitan la membrana
- Ribosoma -80s
- Respiración por mitocondrias



**Figura #2:** Principales características de los eucariotas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 12)

**5.4.1.2 Los microorganismos pueden ser clasificados en términos generales en:**

- Bacterias
- Virus
- Hongos
- Parásitos (Rao, 2011)

**5.4.2 BACTERIAS**

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente

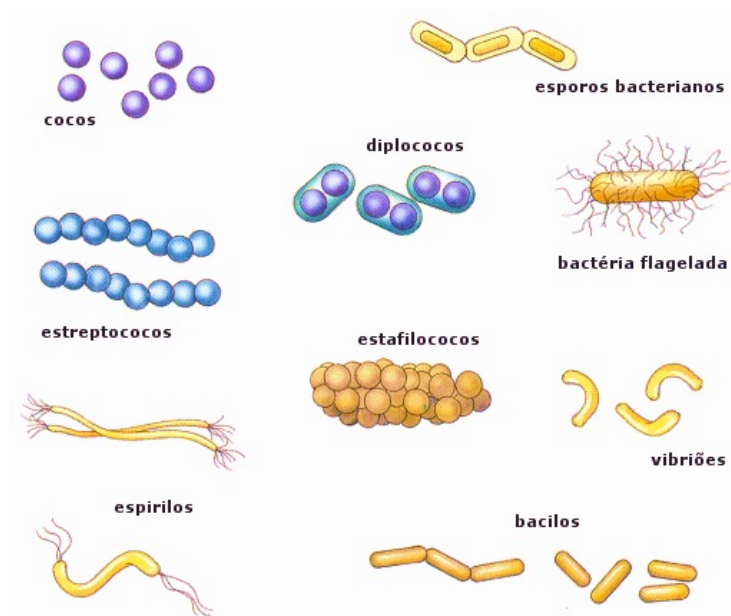
mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales estériles.

(Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 2)

#### 5.4.2.1 Clasificación fenotípica de las bacterias

##### 5.4.2.1.1 De acuerdo con su forma

- Cocos: células esférica/ovales
- Bacilos: células en forma de bastones
- Vibrios: células con forma de coma (movilidad vibratoria)
- Espirilos: formas espirales rígidas
- Espiroquetas: formas espirales flexibles
- Actinomicetos: forma filamentosa ramificada
- Micoplasma: no tiene una morfología estable
- Pleomórfico: formas variables (Rao, 2011, pág. 63)



**Figura #3:** Morfología de la bacterias (Giraldo, 2011)

**5.4.2.1.2 De acuerdo con la clase de flagelos:**

- Atriquio
- Monotrico
- Lofotrico
- Anfitrico
- Peritrico

**5.4.2.1.3 De acuerdo con la disposición de las células:**

- En pares -Diplococos
- En cadenas -Estreptococos
- En cuatro -Tétrada
- En ocho -Sarcina
- En racimos -Estafilococos

**5.4.2.1.4 De acuerdo con las características fisiológicas:**

## I. Aerobios obligados:

- a. Requiere de O<sub>2</sub> para crecer
- b. Posee catalasa y superóxidodismutasa. Ejemplo: Mycobacterium tuberculosis

## II. Anaerobios facultativos:

- a. Crece en presencia o ausencia de O<sub>2</sub>
- b. Posee catalasa y superóxidodismutasa. Ejemplo: Streptococo mutans

## III. Microaerófilico:

- a. Crece en áreas con menos tensión de O<sub>2</sub>
- b. Contiene superóxidodismutasa
- c. No posee catalasa. Ejemplo: Campylobacter

IV. Anaerobios obligados:

- a. Crecen en ausencia de O<sub>2</sub>
- b. Carecen de superóxidodismutasa y catalasa

#### **5.4.2.1.5 De acuerdo con el tamaño del organismo:**

Normalmente el tamaño de la bacteria es de: 1,5 μ de ancho y 2-6 μ de largo

- El más pequeño: Micoplasma (0,1 μ)
- El más grande: Beggiatoa (26-60μ)

#### **5.4.2.1.6 De acuerdo con la tinción de Gram:**

- Gram positiva: resiste la decoloración y conserva la tinción original
- Gram negativa: logra la decoloración y acepta la contratinción.

Esta diferencia es debido a la diferencia en la permeabilidad de la pared celular de la bacteria y la membrana citoplasmática al complejo de yodo y colorante.

#### **5.4.2.2 Estructura de las bacterias**

Las bacterias poseen una estructura relativamente simple. Son microorganismos procariotas, es decir, unos microorganismos unicelulares sencillos, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi ni retículo endoplásmico que se reproducen por división asexual. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006)

La pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular grampositiva con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular gramnegativa con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 2)

Las bacterias tienen una envoltura externa que consiste en una pared celular rígida que constituye la forma de la célula. La pared celular tiene un espesor de 10-25 nanómetros aproximadamente. Esta pared celular tiene antígenos bacterianos responsables de la virulencia e inmunidad del organismo. (Rao, 2011, pág. 62)

Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan sólo en el interior de células del organismo anfitrión o en un ambiente hipertónico. La membrana citoplasmática interna es una capa delgada de 5-10 nanómetros de espesor que reviste la célula por dentro. Es de carácter semipermeable y permite el intercambio de nutrientes y metabolitos a través de la célula. (Rao, 2011, pág. 62)

El citoplasma de las bacterias está desprovisto de organelas como el retículo endoplasmático. Pero contiene ribosomas, mesosomas y vacuolas. Los ribosomas son los centros para la síntesis de proteínas. Los mesosomas son estructuras vesiculares, contorneados, presentes como invaginaciones de la membrana plasmática. Son los sitios principales de las enzimas respiratorias en las bacterias y son análogos a las mitocondrias en los eucariotas. Las vacuolas son estructuras celulares que almacenan productos de nutrición (azúcares, sales, proteínas) o de desecho, y pueden contener enzimas lisosómicas (Rao, 2011, pág. 62).

Los núcleos bacterianos no poseen membrana nuclear o nucléolo. El genoma consiste en una molécula de DNA de doble filamento dispuesto en la forma de un círculo. Las bacterias también poseen cierto material genético extranuclear llamado plásmidos o episomas que contribuyen a las propiedades como



toxigenicidad y resistencia a la droga. (Rao, 2011, pág. 62)

Algunas bacterias secretan un material viscoso alrededor de su superficie. Cuando está bien organizado con una estructura definida, se llama cápsula. Si no está bien organizado, entonces se llama capa de limo. Este material capsular es de naturaleza antigénica y puede demostrarse por varios métodos serológicos. Las cápsulas protegen a las bacterias contra los agentes deletéreos como las enzimas líticas y también contribuyen a la virulencia del organismo mediante la inhibición de la fagocitosis (Rao, 2011, pág. 62).

#### **5.4.2.2.1 Pared celular de las bacterias**

Las bacterias Grampositivas se diferencian de las Gramnegativas en la estructura de la pared celular y en sus componentes y sus funciones. Los componentes de la pared celular son también exclusivos de las bacterias, y su estructura repetitiva desencadena respuestas inmunitarias innatas protectoras en el ser humano. Las membranas citoplásmicas de la mayor parte de los procariotas están rodeadas de unas rígidas capas de peptidoglucano, salvo en las arqueobacterias (las cuales contienen seudoglucanos o seudomureínas relacionadas con el peptidoglucano) y los micoplasmas (las cuales carecen de pared celular). El peptidoglucano es el elemento que proporciona rigidez, por lo que también determina la forma de cada célula bacteriana. Las bacterias Gramnegativas están envueltas además por membranas externas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, págs. 15, 16).

#### **5.4.2.2.1.1 Bacterias Grampositivas**

Una bacteria grampositiva posee una pared celular gruesa que consta de varias capas y está formada principalmente por peptidoglucano que rodea la membrana citoplásmica. El peptidoglucano es un exoesqueleto en forma de malla con una función semejante a la del exoesqueleto de los insectos. Sin embargo, y a diferencia de esta última estructura, el peptidoglucano de la célula es lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de los metabolitos a la membrana plasmática. El peptidoglucano es un elemento para la estructura, la replicación y la supervivencia de las células en condiciones normalmente hostiles en las que proliferan las bacterias. Durante una infección, el peptidoglucano puede interferir en la fagocitosis y estimular diversas respuestas inmunitarias, como procesos pirogénicos (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 16).

El peptidoglucano puede degradarse mediante el tratamiento con lisozima. La lisozima es una enzima presente en la mucosidad y las lágrimas del ser humano que también producen las bacterias y otros microorganismos. Esta enzima es capaz de degradar el esqueleto de glucano del peptidoglucano. Sin el peptidoglucano, la bacteria sucumbe a las grandes diferencias de presión osmótica existentes a uno y a otro lado de la membrana citoplásmica y experimenta un fenómeno de lisis. La eliminación de la pared celular produce un protoplasma, el cual experimenta un proceso de lisis a no ser que se estabilice osmóticamente (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 16).

La célula grampositiva puede poseer también otros componentes, como los ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos. La proteína M de los

estreptococos y la proteína R de los estafilococos también se asocian al peptidoglucano. Los ácidos teicoicos son unos polímeros hidrosolubles de fosfatos de poliol que están unidos al peptidoglucano mediante enlaces covalentes y son fundamentales para la viabilidad celular. Los ácidos lipoteicoicos poseen un ácido graso y se encuentran unidos a la membrana citoplásmica. Estas moléculas son antígenos de superficie frecuentes que diferencian los serotipos bacterianos y favorecen la fijación a otras bacterias y a receptores específicos localizados en la superficie de las células de los mamíferos. Los ácidos teicoicos constituyen unos señalados factores de virulencia. Los ácidos lipoteicoicos son expulsados hacia el medio circundante y al medio intercelular del organismo anfitrión y, aunque débiles, son capaces de desencadenar respuestas inmunitarias semejantes a las de las endotoxinas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006, pág. 17).

#### **5.4.2.2.1.2 Bacterias Gram Negativas**

Las paredes celulares Gramnegativas son más complejas que las de las células Grampositivas. Desde el punto de vista estructural, una pared celular Gramnegativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica se encuentra una delgada capa de peptidoglucano que representa tan sólo un 5% a 10% del peso de la pared celular. Además, la pared celular Gramnegativa no contiene ácidos teicoicos ni lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglucano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias Gramnegativas. La zona comprometida entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la membrana externa se conoce como espacio periplásmico. Este espacio es un compartimiento que

contiene diversas enzimas hidrolíticas importantes para la degradación y metabolización por la célula de las macromoléculas de gran tamaño. Habitualmente, estas enzimas son proteasas, fosfatasas, lipasas, nucleasas y enzimas metabolizadoras de hidratos de carbono. En el caso de las especies bacterianas Gramnegativas patógenas, muchos de los factores de virulencia líricos (por ejemplo, colagenasas, hialuronidasas, proteasas y betalactamasa) se encuentran en el espacio periplásmico. Además, este espacio contiene también componentes de los sistemas de transporte de azúcares, así como otras proteínas de unión que facilitan la captación de diferentes metabolitos y otros compuestos. Asimismo, algunas de estas proteínas de unión pueden formar parte de un sistema quimiotáctico encargado de “percibir” el entorno extracelular (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006).

En cuanto a la membrana externa, característica de los procariontes gramnegativos, mantiene la estructura bacteriana y constituye una barrera impermeable a moléculas de gran tamaño y moléculas hidrófobas. También ofrece protección frente a condiciones ambientales adversas (por ejemplo el sistema digestivo del organismo anfitrión, un factor importante en los microorganismos de la familia Enterobacteriaceae). La membrana externa posee una configuración asimétrica y es una bicapa lipídica que difiere de cualquier otra membrana biológica por la estructura de su zona externa. La zona interna de esta membrana externa contiene los fosfolípidos que normalmente aparecen en las membranas bacterianas. Sin embargo, la zona externa está formada fundamentalmente por una molécula anfipática (es decir, con terminaciones tanto hidrófobas como hidrófilas) denominada lipopolisacárido (LPS) (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006).

El LPS también es conocido como endotoxina y constituye un potente estimulador de las respuestas inmunitarias. El lipopolisacárido se encarga de activar a los linfocitos B y de inducir la liberación de interleucina-1, interleucina-6, factor de necrosis tumoral y otros factores por parte de los macrófagos, las células dendríticas y otras células. El lipopolisacárido provoca también la aparición de fiebre e, incluso, shock. Tras la liberación de grandes cantidades de endotoxina al torrente circulatorio tiene lugar la llamada reacción de Schwartzman, que es la coagulación intravascular diseminada (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006).

La membrana externa se mantiene mediante enlaces catiónicos divalentes ( $Mg^{+2}$  y  $Ca^{+2}$ ) formados entre los fosfatos de las moléculas de LPS y por interacciones hidrófobas entre el LPS y las proteínas existentes. Estas interacciones producen una membrana rígida y fuerte que puede verse afectada por la acción de antibióticos o mediante la eliminación de los iones de magnesio y calcio (quelación con ácido etilendiamino-tetraacético <EDTA> o tetraciclina). La alteración de la membrana externa debilita a la bacteria y favorece el paso de moléculas hidrófobas de gran tamaño (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006).

**Tabla #1** Características de la membrana de las bacterias Grampositivas y Gramnegativas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006)

<b>Características</b>	<b>Grampositivas</b>	<b>Gramnegativas</b>
<b>Membrana externa</b>	-	+
<b>Pared Celular</b>	Gruesa	Delgada
<b>Lipopolisacárido</b>	-	+
<b>Endotoxina</b>	-	+
<b>Ácido teicoico</b>	Presente a menudo	-
<b>Esporulación</b>	En algunas cepas	-
<b>Cápsula</b>	Presente a veces	Presente a veces
<b>Lisozima</b>	Sensible	Resistente
<b>Actividad antibacteriana de la penicilina</b>	Más susceptible	Más resistente
<b>Producción de exotoxina</b>	Algunas cepas	Algunas cepas

### 5.5 Microbiología endodóncica

En la cavidad bucal se encuentra un mar de microorganismos. Estos microorganismos desempeñan un papel muy importante en el ecosistema humano. Los microorganismos son inofensivos la mayor parte de veces, pero en algunos casos, especialmente cuando consiguen la nutrición apropiada o la defensa del huésped es baja, pueden aumentar de número hasta tal punto que son capaces de causar un daño considerable al huésped (Rao, 2011, pág. 61).

Según Canalda, de las 600 especies microbianas relacionadas con la cavidad oral, en cada individuo, solo se identifican de 50 a 150. En la cavidad oral hay diversos elementos anatómicos susceptibles de ser colonizados superficialmente por los microorganismos. Las diferentes características de los elementos constituyentes de la cavidad oral favorecen la aparición de

microsistemas bacterianos específicos. Los tejidos duros dentarios actúan como barreras mecánicas defensivas impidiendo la invasión microbiana de la pulpa. Su destrucción parcial o completa, determina la progresión de los microorganismos hacia el interior de la cavidad pulpar y causa una inflamación en la pulpa que puede evolucionar hacia su necrosis y afectar a los tejidos periapicales (Canalda Sahli, 2006).

Los microorganismos desempeñan un papel importante como iniciadores y contribuyentes significativos de la enfermedad inflamatoria de la pulpa dental y tejidos periapicales. Sin ellos no habría trastornos endodóncicos. Su disminución o eliminación durante los procedimientos terapéuticos es decisiva para la reparación posterior al tratamiento y la evolución satisfactoria del caso. (Olarde Alzamora, 2004).

### **5.5.1 Vías de invasión bacteriana**

En condiciones normales, la pulpa dental y la dentina son estériles y están aisladas de los microorganismos orales por el esmalte y el cemento que las recubre. Hay circunstancias en las que se pierde la integridad de estas capas protectoras (por ejemplo: por las caries, las fracturas, grietas traumáticas, los tratamientos restauradores, el raspado y alisado radicular, el desgaste o la abrasión) o en las que no existe de forma natural (por ejemplo: debido a resquicios en la unión cemento-esmalte en la superficie radicular cervical). En tales casos, el complejo dentina pulpa queda expuesto al medio oral y corre el riesgo de infectarse por los microorganismos orales. También pueden acceder a la pulpa por los agujeros laterales y apicales los microorganismos de las biopelículas subgingivales asociadas a la enfermedad periodontal o presentes

en la circulación durante la bacteriemia (Torabinejad & Walton, 2010).

Las bacterias pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar. En función de su magnitud y proximidad, la patología se instaura rápidamente o de forma prolongada (Canalda Sahli, 2006).

Las principales puertas de entrada para la infección pulpar son las siguientes:

#### **5.5.1.1 Túbulos dentinarios**

Los túbulos dentinarios miden, aproximadamente, entre 0,5-1  $\mu\text{m}$  de diámetro en la periferia y hasta 3-5  $\mu\text{m}$  cerca de la pulpa, un calibre suficiente para permitir el paso de bacterias. Conviene recordar que cerca de la pulpa hay de 50.000 a 60.000 túbulos dentinarios por  $\text{mm}^2$ . Las bacterias, en el interior de los túbulos, avanzan más por división que por desplazamiento autónomo; su progresión puede facilitarse por la presión ejercida durante la inserción de materiales de obturación o con la utilización de materiales de impresión (Canalda Sahli, 2006, pág. 30).

#### **5.5.1.2 Caries**

El portal de entrada más frecuente de las bacterias a la pulpa, es la caries; los microorganismos asociados con la caries no son móviles, pero en apariencia avanzan a través de los túbulos al dividirse (fisión binaria) y por el movimiento del líquido dentario. En el ser humano están asociados los estreptococos mutantes principalmente (sobre todo *Streptococcus Mutans* y *S. Sobrinus*) en superficies lisas y caries en fosas y fisuras, mientras que las especies de *Actinomyces* están asociadas con caries radicular. Aunque los estreptococos mutantes son importantes en el progreso de la caries profunda. Las bacterias



en las capas más profundas son principalmente anaerobios estrictos. Después de la exposición de la pulpa dental por la caries, numerosas especies de la flora bucal oportunista invaden el tejido dañado y colonizan la pulpa necrótica. Esto permite la selección de un ecosistema polimicrobiano asociado con las infecciones de origen endodóncico (Torabinejad & Walton, 2010, pág. 299).

#### **5.5.1.3 Defectos en el sellado marginal**

Determinados materiales de restauración pueden facilitar, si no se utilizan correctamente, la filtración de bacterias a través de la interfase material-diente. Así, los microorganismos procedentes de la cavidad oral pueden acceder a la pulpa a través de los túbulos dentinarios subyacentes a la restauración. Por este motivo, y a partir de la teoría de, se deben aplicar sistemas de adhesión capaces de sellar adecuadamente los túbulos expuestos durante maniobras operatorias. Una de las principales causas del fracaso del tratamiento de los conductos radiculares es la filtración coronal, ya sea por el retraso en restaurar definitivamente la cavidad de acceso o por la fractura de la restauración. A partir de los 19 días puede alcanzarse la contaminación definitiva de los conductos obturados (Brännström M, 1967).

La magnitud de la afección periapical y la rapidez en su aparición guarda una relación directa con la densidad de compactación de los conductos (Canalda Sahli, 2006).

#### **5.5.1.4 Infección periodontal**

El tejido conjuntivo pulpar tiene su continuación en el tejido conjuntivo periodontal a través del foramen apical principal y por conductos laterales presentes en distintas zonas de la raíz. Esta relación anatómica entre cavidad

pulpar y el periápice permite el trasvase, en ambos sentidos, de bacterias desde un espacio anatómico al otro. Así, una infección pulpar puede comportar una infección periodontal secundaria y una infección de la pulpa puede tener su origen en una patología periodontal. Sin embargo, la vía más común de migración microbiana desde el periodonto hacia la cavidad pulpar se produce a través de las foraminas laterales o los conductos accesorios. Esta puerta de entrada es de menor tamaño que el foramen apical y, consecuentemente, el efecto inducido es menos activo (Canalda Sahli, 2006).

#### **5.5.1.5 Traumatismos**

Los traumatismos dentales agudos tienen su mayor incidencia entre la población infantil. Presentan diferentes formas clínicas, y los de mayor importancia, desde la perspectiva microbiana, son los traumatismos que cursan con fractura del diente y, especialmente, los que causan fractura coronaria. Cuando la fractura de la corona afecta al esmalte y la dentina, en las proximidades de la cavidad pulpar, la exposición de los túbulos dentarios puede resultar una vía de entrada de los microorganismos presentes en la cavidad oral. Esta posibilidad cobra mayor importancia en niños y pacientes jóvenes, puesto que presentan túbulos de mayor calibre que en los adultos y en los pacientes de edad avanzada. No obstante, las manifestaciones clínicas de la infección pulpar pueden hacerse patentes a medio o largo plazo.

En pacientes adultos y de edad avanzada que padezcan bruxismo es frecuente observar, con el transcurso de los años, una pérdida de esmalte y dentina en las caras triturantes de los dientes, que se acerca a distancias inferiores a 1 mm de la cavidad pulpar. Esta situación patológica facilita, también, la invasión

bacteriana de la pulpa. En los premolares y molares de estos pacientes aparecen líneas estructurales a través de las cuales las bacterias migran hacia el interior de la corona, por lo que pueden contaminar directamente la pulpa (Canalda Sahli, 2006).

#### **5.5.1.6 Anacoresis**

La anacoresis es un proceso por el que los microorganismos son transportados en la sangre o la linfa hasta una zona de daño tisular, en donde abandonan el vaso, pasan al tejido dañado y producen una infección. Aunque se ha postulado que la anacoresis podría ser el mecanismo por el que se infectarían los dientes traumatizados con unas coronas aparentemente intactas, las pruebas disponibles parecen indicar que la principal vía para la infección pulpar en estos casos es la exposición dentinaria por la formación de grietas en el esmalte (Torabinejad & Walton, 2010).

En 1939, Csernyei demostró por primera vez el afecto anacorético de la inflamación perirradicular en perros. Tras la aplicación de aceite de crotón a los tejidos pulpares de dientes de rata y la inyección de microorganismos en el torrente sanguíneo, Robinson y Boling localizaron en los tejidos dañados los mismos organismos que se aplicaron a los tejidos pulpares de los dientes de rata e inyectados en el torrente sanguíneo de los tejidos dañados. Posteriormente, otros investigadores confirmaron histopatológicamente estos resultados. Se estudió extensamente el hecho que las restauraciones, e incluso el cepillado de los dientes, puede producir bacteriemia. Durante la bacteriemia, los microorganismos en la circulación pueden ser atraídos por pulpas inflamadas o necróticas y localizarse en ellas. A pesar de que este hecho se ha

constatado en experimentos con animales, no se ha demostrado con claridad la contribución de la anacoresis como principal fuente de infección pulpar en los seres humanos (Cohen, 2010).

## **5.5.2 Microbiología de los conductos radiculares**

### **5.5.2.1 Microbiología de los conductos radiculares en dientes vitales**

Los productos tóxicos enzimáticos, metabólicos y otros de origen bacteriano se diseminan por el líquido dentinario y alcanzan la pulpa antes que los propios microorganismos. La composición y cantidad de estos últimos en la cavidad pulpar depende de si esta se encuentra abierta o cerrada, de la localización (coronaria o apical) y del tiempo; aunque también influyen determinantes ecológicos como las necesidades nutritivas, las interacciones metabólicas y el factor de oxidorreducción. La principal fuente energética nutritiva de las bacterias en las pulpitis son los fluidos hísticos, residuos de descomposición pulpar y el plasma, que varían en función del tiempo y de la progresión de la inflamación pulpar.

Cronológicamente, las bacterias sacarolíticas de crecimiento rápido utilizan, fundamentalmente, los glúcidos de origen sérico, como elemento nutritivo más importante, liberando de su metabolismo ácido láctico y fórmico. En estadios más avanzados de la inflamación pulpar (formas asintomáticas) la hidrólisis proteica posibilita el metabolismo de péptidos y aminoácidos por bacterias anaerobias. Al agotarse los glúcidos séricos, la metabolización de aminoácidos es la única fuente energética disponible y utilizada por bacterias anaerobias de los géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus*. La transformación anaerobia de la microflora se establece

porque a destrucción del tejido conjuntivo por bacterias aerobias y anaerobias facultativas da origen a nutrientes utilizados en el metabolismo de las bacterias estrictamente anaerobias y, así sucesivamente, las bacterias son capaces de aprovechar los metabolitos producidos por otras (Canalda Sahli, 2006).

### **5.5.2.2 Microbiología de la pulpa necrótica**

La mayoría de hábitats de microorganismos anaerobios tienen baja tensión de oxígeno y potencial de oxidorreducción disminuido. Como resultado de la actividad metabólica de los microorganismos que consumen oxígeno, el microclima se transforma progresivamente en anaerobio.

La mayor parte de las necrosis pulpares obedecen a infecciones polimicrobianas y mixtas que incluyen aerobios estrictos, anaerobios facultativos o microaerofílicos como microorganismos concomitantes. Estos últimos, y los aerobios estrictos, disminuyen la tensión de oxígeno y el potencial de oxidorreducción en los tejidos. De este modo, proporcionan las condiciones favorables para que se desarrollen las bacterias estrictamente anaerobias. También el grado de destrucción hística condiciona la prevalencia de mayor o menor porcentaje de bacterias anaerobias en el interior del conducto, las características clínicas de la corona de los dientes necrosados también contribuyen a ello. En dientes con amplias comunicaciones entre la cavidad oral y el conducto radicular suelen presentarse entre el 60% y 70% de bacterias estrictamente anaerobias, mientras que en dientes cerrados se alcanzan resultados cercanos al 95%. Las condiciones biológicas del conducto radicular condicionan la presencia o ausencia de elementos nutricionales necesarios para el crecimiento y el desarrollo bacteriano. (Canalda Sahli, 2006).

Fabricius y cols., observaron que la proporción de anaerobios estrictos se incrementa con el tiempo. Aislaron del 50 al 55% de anaerobios a los 7 días y el 85% a los 70 días, porcentaje que aumentó hasta el 95 y el 98% a los 6 meses y 3 años, respectivamente.

Los estudios de Nair acerca de la localización de las bacterias en la cavidad pulpar, mediante microscopía electrónica, han permitido observar que la mayoría colonizan la luz del conducto. Se agrupan sobre el tejido pulpar necrosado, en la trama de fibras y restos hísticos. Asimismo, pueden adherirse a la dentina radicular. Cocos y bacilos constituyen pequeños nichos ecológicos que pueden constituirse en la fina trama de conductillos del tercio apical. Igualmente, y dependiendo de su tamaño, pueden penetrar por los túbulos dentinarios.

Love demostró que *Streptococcus gordonii* pueden invadir la dentina radicular en profundidad, alcanzando los 200  $\mu\text{m}$  en los tercios cervical y medio y los 60  $\mu\text{m}$  en el tercio apical.

Los estreptococos viridans, las especies de los géneros *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas* representan el grupo de microorganismos más ampliamente aislados en los conductos infectados. En las necrosis pulpares también se aísla *Mitsoukelladentalis*. La mayor parte de los estudios muestran la presencia de *V. Párvula*, *Actinomyces*spp y *Lactobacillus*spp. Habitualmente las bacterias aisladas de los conductos infectados no son móviles, aunque se han descrito *C. Rectus*, *E. Corrodens* y *Capnocytophagas*spp que se localizan en el tercio apical del conducto. En el interior de los conductos raramente se hallan espiroquetas, probablemente

porque son difíciles de cultivar (Canalda Sahli, 2006).

**Tabla #2.** Bacterias aerobias y anaerobias facultativas aisladas en las necrosis pulpares (Canalda Sahli, 2006)

Forma	Tinción	Género	Especie		
Cocos	Grampositivos	Streptococcus	mitis		
			milleri		
			oralis		
			intermedius		
			morbiliorum		
			constellatus		
			mutans		
		Enterococcus	sanguis		
			mitior		
			faecalis		
Bacilos	Grampositivos	Staphylococcus	faecium		
			aureus		
		Corynebacterium	epidermidis		
			xerosis		
			Lactobacillus	catenaforme	
			minutus		
			Actinomyces	odontolyticus	
				naeslundii	
				israelii	
				meyeri	
Bacilos	Grampositivos	Propionobacterium	viscosus		
			acnes		
		Gramnegativos	Eikenella	propionicus	
				corrodens	
			Capnocytophaga	ochracea	
				spp	
			Actinobacillus	rectus	
				Campylobacter	sputorum
			Levaduras		Candida
				albicans	
glabrata					
guilliermondii					
Geotrichum	candidum				

**Tabla #3.** Bacterias anaerobias estrictas aisladas en las necrosis pulpares (Canalda Sahli, 2006)

Forma	Tinción	Género	Especie
Cocos	Grampositivos	Peptostreptococcus	micros anaerobius prevotii magnus assacharolyticus
		Peptococcus	Spp
Bacilos	Gramnegativos	Veillonela	Párvula
	Grampositivos	Eubacterium	Alactolyticum Lentum Timidum Brachy Nodatum
			Gramnegativos
		Prevotella	Intermedia Nigrescens Oralis Oris Buccae Melaninogenica
		Mitsoukella	Spp
		Fusobacterium	Nucleatum necrophorum fusiformis varium
		Selenomonas	sputigena
		Treponema	denticola socranski pectinovorum vincentii

### 5.5.2.3 Microbiología en los fracasos endodóncicos

Una de las principales causas de fracaso endodóncico es la persistencia, multiplicación y migración de bacterias desde el interior de los conductos hacia los tejidos periapicales. La incompleta desinfección quimiomecánica de los conductos mantiene una capa residual infectada que potencia la capacidad de



los microorganismos en progresar hacia el interior de los túbulos dentinarios intrarradiculares, actuando como reservorio de microorganismos. Es una cuestión de tiempo que estas bacterias alcancen el periápice, en donde se manifestará el fracaso (Canalda Sahli, 2006).

Un tratamiento antimicrobiano concienzudo no logra erradicar totalmente las bacterias presentes en los conductos radiculares, produciéndose la consiguiente selección de los miembros más resistentes de la microbiota. Tras el tratamiento endodóncico suelen desaparecer las bacterias Gramnegativas, que son componentes habituales de las infecciones intrarradiculares primarias. En la mayoría de los estudios sobre este tema se ha podido observar claramente un mayor número de bacterias Grampositivas (Torabinejad & Walton, 2010).

Las nuevas técnicas de toma de muestras, cultivos e identificación de anaerobios, complementando con análisis histoquímicos y su observación con microscopía electrónica, han permitido asociar la especie de *Actinomyces israelii* como una de las 2 especies bacterianas que han sido aisladas con frecuencia en los tejidos periapicales de conductos radiculares con fracaso endodóncico. Los últimos estudios de Abou-Rass y Goben corroboran los hallazgos de Happonen y cols., que identificaron el género *Actinomyces* con una prevalencia del 31,8% seguidos, en orden decreciente, por *Propionobacterium* (22,7%), *Streptococcus* (18,2%) y *Staphylococcus* (13,6%), mientras que tan solo identificaron el 4,6% de cocos gramnegativos entéricos (Canalda Sahli, 2006).

La segunda especie bacteriana más comúnmente aislada en los fracasos endodónticos es *Enterococcus faecalis* (32%), bacteria grampositiva anaerobia

facultativa, mientras que en los conductos infectados no tratados se hallan en muy poca relevancia. Roças y cols observaron que el *Enterococcus faecalis* es más prevalente en periodontitis apicales asintomáticas y a su vez es más frecuente en infecciones persistentes o secundarias que en las infecciones primarias de origen endodóncico. Una de las peculiaridades de esta bacteria, al igual que algunas especies de *Candida*, es que toleran bien pH cercanos a 12, lo que las hace especialmente resistentes a la utilización de medicación intraconducto con hidróxido de calcio. Sin embargo, Evans y cols., han determinado la barrera de tolerancia en 11.1, hallando que a un pH superior a 11.5 *Enterococcus faecalis* no sobrevivía. Se cree que es debido a que es capaz de sintetizar diversos tipos de proteínas cuando es sometido a condiciones adversas de supervivencia, como pueden ser la exposición a hipoclorito de sodio o al contacto con hidróxido de calcio; también tienen la capacidad de formar biopelículas, invadir túbulos dentinarios y soportar períodos prolongados de privación nutricional (Canalda Sahli, 2006). Esto parece respaldar la hipótesis de que las bacterias Grampositivas pueden ser más resistentes a los tratamientos antimicrobianos y tienen la capacidad de adaptarse a las rigurosas condiciones ambientales que existen en los conductos instrumentados y medicados (Torabinejad & Walton, 2010).

Las bacterias anaerobias facultativas son más predominantes que los anaerobios estrictos y menos susceptibles a la terapéutica antimicrobiana que estos últimos, por lo que se debe esperar su mayor persistencia después de procedimientos terapéuticos inadecuados (Canalda Sahli, 2006).

Las levaduras también se asocian con infecciones endodóncicas secundarias. Waltimo y cols., identificaron levaduras en un 7% de las muestras obtenidas de

conductos infectados con periodontitis apical persistente. Aislaron los géneros *Candida* y *Geotrichum*. *Candidaalbicans* fue la especie más frecuente aislada, aunque también identificaron *Candidaglabrata*, *Candidaguilliermondii* y *Candidainconspicua* (Canalda Sahli, 2006).

### **5.5.3 Medios de cultivo**

Las bacterias tienen que crecer para que sean identificadas, ya que rara vez pueden ser reconocidas por la morfología solamente. Mediante procedimientos apropiados crecen separadamente en medios de cultivos y se obtienen como cultivos puros para el estudio. Numerosos medios de cultivo han sido concebidos, desde que los primeros medios originales fueron utilizados por Louis Pasteur, quien utilizó orina o caldo de carne como medios de cultivo. Estos medios de cultivo eran de consistencia líquida y tenían la desventaja de que el aislamiento de los cultivos puros no era posible. Luego Robert Koch utilizó papa cortada cocida como los primeros medios sólidos y también experimentó con la adición de gelatina a los medios líquidos para solidificarlos. Entonces se introdujo un método eficaz para producir medios de cultivo sólidos, cuando Frau Hesse utilizó agar en lugar de gelatina (Rao, 2011).

#### **5.5.3.1 Componentes de los medios de cultivo**

- Agar (2%)
- Peptonas
  - Proteasas
  - Polipéptidos
  - Aminoácidos
  - Sales inorgánicas tales como  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^+$

- Factores de crecimiento accesorios: Riboflarina
- Extracto de carne
- Sangre, suero, extracto de levadura

### **5.6.3.2 Tipos de medios de cultivo**

Los medios han sido clasificados en:

A. Según la consistencia de los medios:

- Medios sólidos
- Medios líquidos
- Medios semisólidos

B. Según los componentes de los medios:

- Medios simples
- Medios complejos
- Medios sintéticos o definidos
- Medios semidefinidos
- Medios especiales:
  - Medios enriquecidos
  - Medios de enriquecimiento
  - Medios selectivos
  - Medios indicadores o diferenciales
  - Medios de azúcar
  - Medios de transporte

C. Según el tipo de crecimiento bacteriano que soportan:

- Medios aerobios
- Medios anaerobios

Para este estudio se utilizó 3 medios de cultivo:

- Agar sangre humana
- BHI (Infusión de cerebro y corazón ó Brain Hearth Infusion)
- Bactec

#### **5.5.3.3 Agar Sangre Humana**

La base de agar sangre es un medio utilizado para el aislamiento y cultivo de una amplia variedad de microorganismos, adicionado de sangre es útil para el cultivo de microorganismos fastidiosos. Este medio también es conocido como BAB (Blood Agar Base) por sus siglas en inglés. (MCD LAB, s.f.)

El agar sangre es una combinación de un agar base (agar nutritivo) con fuente protéica (digeridos trípticos, digeridos protéicos de soja) el cual tiene un agregado del 5% al 10% de sangre humana, (también puede usarse 5-10% de sangre ovina, de conejo, de cordero ó de caballo). (MCD LAB, s.f.)

Es un medio de aislamiento especialmente diseñado para facilitar el crecimiento de microorganismos exigentes, bacterias Grampositivas y todas las especies en muestras de origen clínico. Contiene una mezcla de peptonas particularmente adaptada al cultivo de microorganismos exigentes. La presencia de sangre permite la determinación de la hemólisis, criterio básico en la orientación de la identificación bacteriana. El agar sangre puede ser usado para hacer subcultivos y obtener cultivos puros. (BIOMÉRIEUX, 1996)

#### **5.5.3.4 Brain Hearth Infusión (BHI)**

Brain Hearth Infusión (BHI) (infusión de cerebro y corazón) es un medio líquido de uso general para una amplia variedad de especies bacterianas y fúngicas. Utilizado para el cultivo de microorganismos exigentes y no exigentes, incluidas

las bacterias aerobias y anaerobias, a partir de diversas muestras clínicas y no clínicas. El caldo BHI es un medio de cultivo nutritivo tamponado que contiene infusiones de tejido de cerebro y corazón y peptonas para suministrar proteínas y otros nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de microorganismos. (Becton, Dickinson and Company, 2011)

El crecimiento de microorganismos en los tubos se indica por la presencia de turbidez en comparación con un control sin inocular. Si se produce crecimiento, los cultivos se deben examinar mediante tinción Gram y subcultivar en medios adecuados. (Becton, Dickinson and Company, 2011)

En este estudio los tubos de BHI que presentaban turbidez después de las 72 horas de incubación, se los examinó con la tinción Gram y a la vez se los subcultivo en agar sangre humana para confirmar sus resultados.

#### **5.6.3.5 BACTEC**

El sistema BACTEC™, es un sistema ampliamente usado para hemocultivos, usa medios con resinas que permiten screening (cribado) para bacterias, levaduras y hongos en sangre. Dichos medios neutralizan efectivamente una amplia variedad de antibióticos, permitiendo el crecimiento de microorganismos que no crecerían en medios convencionales. De esta manera se obtendrá diagnósticos más exactos y tratamientos más efectivos. (AMILAB, s.f.)

## 6. TIPO DE ESTUDIO

Este estudio es un estudio experimental, transversal, observacional y de laboratorio. Es un estudio de tipo experimental, ya que se identifican las características que se estudia y se las controla con el fin de observar los resultados al tiempo deseado. Por otro lado, es de tipo transversal porque apunta a un momento y tiempo definido. Así mismo, es de tipo observacional, ya que se observará si existe crecimiento microbiano en conos de gutapercha de empaques sellados.

Este estudio se lo realizado con la ayuda del laboratorio de microbiología de la Universidad San Francisco de Quito.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras Analizadas

- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca Dentsply/Maillefer
- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca Becht
- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca Zipperer
- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca Meta
- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca New Stetic
- 1 caja sellada de conos de gutapercha de la primera serie marca Gapadent
- 84 conos de gutapercha de diferentes tamaños (#15, #20, #25, #30, #35, #40)

## **Material de laboratorio**

- Tubos de ensayo
- Gradilla para tubos de ensayo
- Mechero de Bunsen
- Micropipetas calibradas de 0.5  $\mu$ l -10  $\mu$ l; 10  $\mu$ l-100  $\mu$ l y 100  $\mu$ l-1000 $\mu$ l
- Pera
- Guantes de látex
- Guantes de látex estériles
- Mascarilla
- Mandil
- Microscopio óptico Leica
- Pinzas de metal estériles
- Palillos estériles
- Hisopos de algodón estériles

### **7.1 Metodología:**

#### **7.1.1 Muestra**

Se realizó el análisis microbiológico de conos de gutapercha provenientes de empaques de la primera serie sellados por el fabricante de las marcas: Meta, Dentsply/Maillefer, Becht, Zipperer, New Stetic, y Gapadent; disponibles en el mercado ecuatoriano. Dos de las marcas analizadas (Dentsply/Maillefer, Meta) son utilizadas en la Clínica Odontológica de la USFQ.

Se obtuvieron 84 conos de gutapercha de diferentes tamaños (#15, #20, #25, #30, #35, #40), de los cuales, se escogió 18 conos de gutapercha, de



las marcas Meta, Dentsply/Maillefer y 12 conos de gutapercha de las marcas Becht, Zipperer, New Stetic, y Gapadent, aleatoriamente de cada caja sellada. Se seleccionó un total de 12 a 18 conos de gutapercha de cada caja sellada que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión que se mencionan a continuación.

#### **7.1.1.1 Criterios de inclusión:**

- a) Se analizó únicamente conos provenientes de cajas de conos de gutapercha de la primera serie, totalmente selladas por el fabricante de seis marcas (Meta, Dentsply/Maillefer, Becht, Zipperer, New Stetic, y Gapadent).

#### **7.1.1.2 Criterios de exclusión:**

- a) Cajas de conos de gutapercha alteradas o abiertas.
- b) Cajas de conos de gutapercha que no presenten embalaje plástico
- c) Cajas de conos de gutapercha, en las que los conos de gutapercha hayan tenido contacto con el medio ambiente.
- d) Cajas de conos de gutapercha que no hayan cumplido con los estándares necesarios para salir al mercado.
- e) Cajas de conos de gutapercha que han sido expuestos a algún tipo de esterilización.

#### **7.2 Medios de cultivo:**

##### **Agar Sangre Humana**

- 40 gramos de base de Agar Sangre “BBL™ Blood Agar Base, BD”
- 100 mL de agua destilada
- Balanza de precisión OHAUS

- Matraz Erlenmeyer de 1000 mL
- Placas de vidrio estériles
- Probeta de 500 mL
- Vacutainers
- Sangre humana

### **7.2.1 Preparación Agar Sangre**

Se pesó en la balanza de precisión OHAUS, 40 g de base de agar sangre BBL™ Blood Agar Base. Se colocó 1000 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer (DIBCO). Se suspendió los 40 g del medio en los 1000mL de agua destilada y se lo agitó suavemente hasta su completa disolución. Se autoclavó el medio de cultivo a 121°C (15 libras de presión) por 15 minutos. Los vacutainers y el equipo de flebotomía se lo empleó para obtener la sangre de un voluntario para posteriormente añadirla al medio. Se enfrió a una temperatura entre 45-50°C y por último se añadió la sangre humana. Se homogenizó y dispensó en placas de vidrio estériles. Todo el procedimiento se lo realizó en presencia de un mechero de bunsen para mantener la esterilidad del medio de cultivo.



**Figura #4** Colocación de sangre humana en el caldo base de Agar Sangre

#### **Caldo Infusión Cerebro Corazón (BrainHeartInfusionBroth, EMD (BHI))**

- 200 mL de agua destilada
- 7,4 g de BHI
- Balanza de precisión OHAUS
- Matraz Erlenmeyer de 1000 mL
- Probeta de 500 mL

#### **7.2.2 Preparación Caldo Infusión Cerebro Corazón (Brain Heart Infusion Broth, EMD)**

Se pesó en la balanza de precisión OHAUS 7,4 g de medio BHI (Brain Heart Infusion Broth, EM), se lo colocó en un matraz Erlenmeyer y se aforó con 200mL de agua destilada. Se agitó suavemente hasta su completa disolución. Por último, se dispensó 5 mL de BHI en 40 tubos de ensayo. Se

esterilizó el medio mediante autoclave a 121°C (15 libras de presión) por 15 minutos.

### **7.3 Control Negativo**

El control negativo correspondió a dos conos de gutapercha #40 de la casa comercial Meta, los cuales fueron colocados dentro de una placa de vidrio y esterilizados con luz ultravioleta por 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se los pasó a agar sangre con una pinza estéril dentro de la misma cámara de Bioseguridad II. Se empleó la cabina de bioseguridad II principalmente para proteger la muestra de cualquier tipo de contaminación. Por último los conos de gutapercha se incubaron a 37 °C por 72 horas en un ambiente semi anaeróbico con 5% de CO<sup>2</sup> en una cámara GasPak.

### **7.4 Control Positivo**

El control positivo correspondió a dos conos de gutapercha #30 de la casa comercial Meta, los cuales pertenecían a una caja abierta y utilizada por los estudiantes de pregrado y posgrado de la Clínica Odontológica de la Universidad San Francisco de Quito. Manteniendo todas las normas de esterilidad y asepsia, se eligió dos conos de gutapercha y se los colocó a cada uno en medio Agar Sangre y en medio BHI, y se los identificó como corresponde. Las muestras de conos de gutapercha, sembradas en Agar Sangre Humana se incubaron a 37<sup>0</sup> C por 72 horas. Conos inoculados en medio BHI fueron incubados a 37<sup>0</sup> C por 72 horas.

### **Control con hipoclorito de sodio (NaOCl)**

Otro control correspondió a un cono de gutapercha #30 de la casa comercial Meta, en un ambiente de esterilidad, este fue sumergido por 15 minutos en hipoclorito de sodio (NaOCl) y luego llevado a una placa de vidrio con medio Agar Sangre. Posteriormente se incubó la muestra a 37<sup>0</sup> C por 72 horas.

Los dos controles: control positivo y control con hipoclorito de sodio que se encontraban en medios agar sangre se colocaron en una cámara de ambiente semi anaeróbico con 5% de CO<sup>2</sup> (GasPak) para su incubación.

### **7.5 Grupos de Estudio**

Se dividió a cada una de las marcas de conos de gutapercha en 6 grupos de estudio:

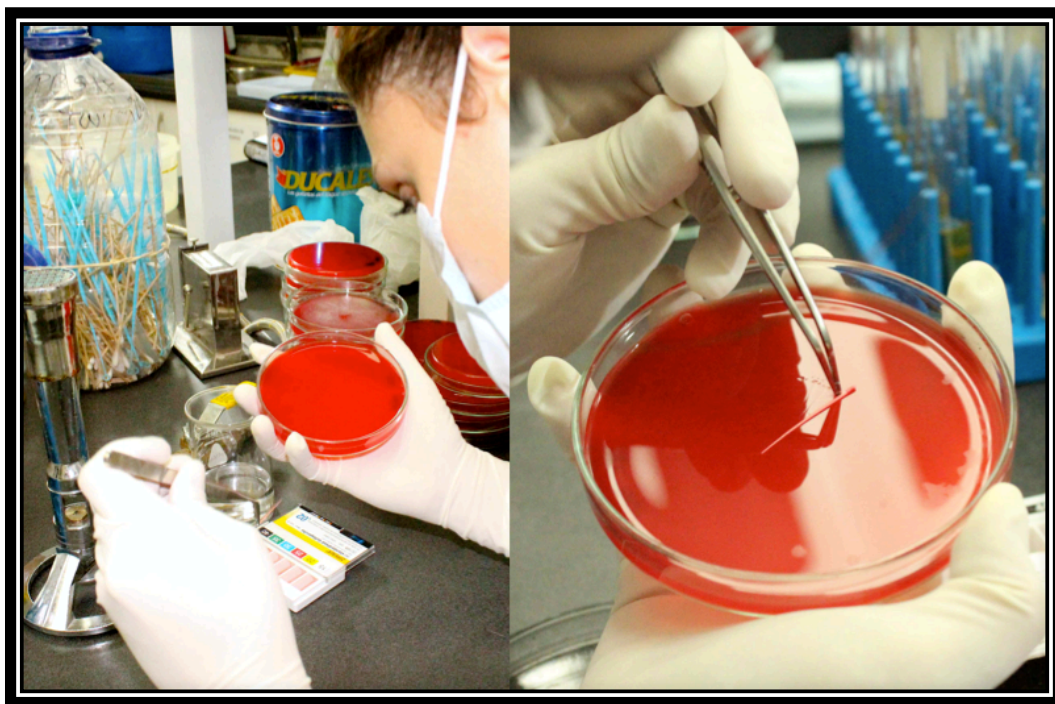
<b>Grupo A</b>	META
<b>Grupo B</b>	DENTSPLY
<b>Grupo C</b>	ZIPPERER
<b>Grupo D</b>	BECHT
<b>Grupo E</b>	GAPADENT
<b>Grupo F</b>	NEW STETIC

#### **7.5.1 Grupos A y B (Conos de gutapercha Meta y Dentsply/Maillefer correspondientemente)**

Con el material y los medios de cultivo necesarios y estériles se inició el proceso de análisis. En este procedimiento se siguió todas las normas de buenas prácticas microbiológicas y esterilidad.

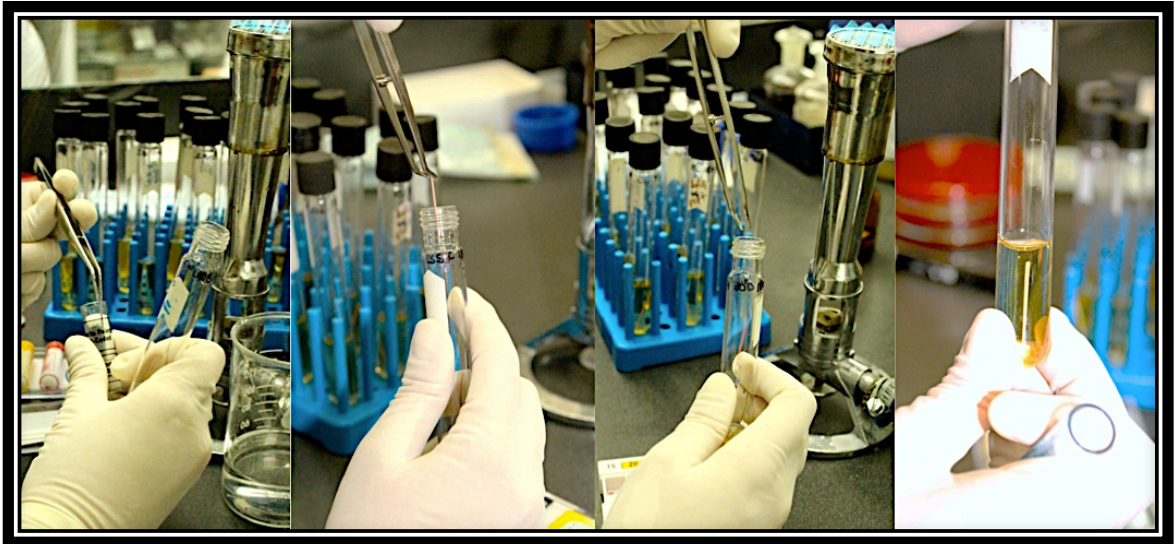
Todos los medios se identificaron con el número de cono (#15, 20, 25, 30, 35, 40) y la letra del grupo al cual el mismo correspondía; ejemplo: 15 A, 20 A, 25 B, 30 B. La caja sellada de conos de gutapercha se abrió en un ambiente de esterilidad. Con la ayuda de una pinza estéril se eligió aleatoriamente un cono de gutapercha #15, este se colocó en una placa de vidrio con medio agar sangre y se lo hizo rodar en el mismo con la ayuda de la misma pinza. Posteriormente se incubó la muestra a 37°C por 72 horas.

El mismo procedimiento se realizó con el resto de conos analizados.



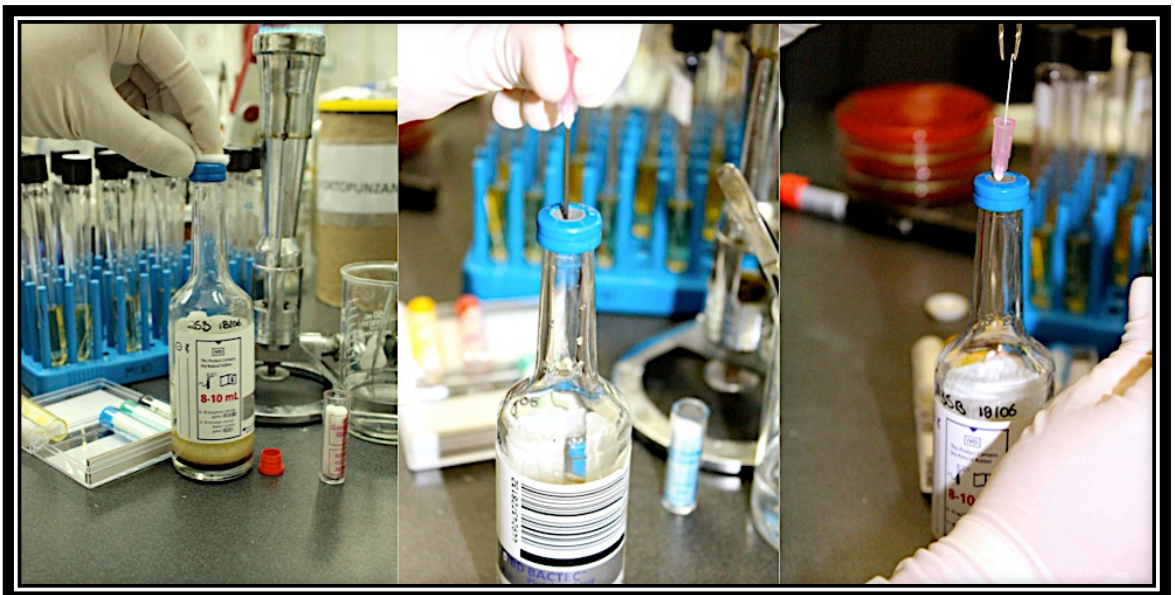
**Figura #5** Colocación de un cono de gutapercha en Agar Sangre

Siguiendo el mismo procedimiento explicado anteriormente, se eligió otro cono de gutapercha #15, pero a este se lo colocó en caldo BHI. De la misma manera, se siguió todas las normas de esterilidad y asepsia.



**Figura #6** Colocación de un cono de gutapercha dentro de BHI

Por último, en el medio de cultivo de la casa comercial Bactec, se colocó un último cono #15, para ello se realizó una perforación en la tapa del frasco con medio de cultivo con la ayuda de una aguja.



**Figura #7** Colocación de un cono de gutapercha dentro de Bactec

El mismo procedimiento se siguió con los conos de gutapercha número 20, 25, 30, 35 y 40 de la marca Meta y numeró 15, 20, 25, 30, 35 y 40 de la

marca Dentsply/Maillefer. En todos los procedimientos realizados se siguió las normas de asepsia y esterilidad correspondientes a las buenas prácticas microbiológicas.

#### **7.5.2 Grupo C, D, E, F (Conos de gutapercha Zipperer, Becht, Gapadent y New Stetic correspondientemente)**

El procedimiento descrito anteriormente se realizó para el análisis de los conos de gutapercha de los grupos A y B, sin embargo para el procedimiento de estos grupos no se empleó el medio de cultivo de Bactec.

#### **7.6 Cultivo de bacterias**

Todas las muestras en medio de cultivo agar sangre con su respectiva identificación, fueron incubadas a 37°C por 72 horas en un medio semi anaeróbico con 5% de CO<sup>2</sup>, proporcionado por la cámara de GasPak, que facilitó el crecimiento de posibles bacterias anaerobias, presentes en la muestra de estudio.



**Figura #8** Cono de gutapercha en Agar Sangre de una cámara que asemeja un ambiente de anaerobiosis



Los tubos de ensayo con caldo BHI y el cono de gutapercha, con su respectiva identificación, fueron incubados a 37°C por 72 horas. Los conos de gutapercha en medio Bactec también fueron identificados e incubados a 37° C por 72 horas.



**Figura #9** Conos de gutapercha inoculados en tres medios de cultivo dentro de la incubadora DUREX a 37°C

Después de las 72 horas de incubación, las muestras en sus medios de cultivo fueron analizadas individualmente.

En las muestras cultivadas en agar sangre que presentaron crecimiento microbiano, se tomó un poco de la colonia bacteriana con ayuda de un hisopo estéril y se sembró en un nuevo medio agar sangre, este se incubó por 72 horas a 37°C. A la vez, se colocó un poco de la colonia en una placa porta de vidrio para muestras y se realizó la tinción Gram. Después esta fue llevada al microscopio, donde se observó si eran Grampositivos o

Gramnegativos y la forma de la bacteria.

Las muestras cultivadas en BHI que presentaron crecimiento bacteriano fueron sembradas en un nuevo agar sangre e incubadas por 72 horas a 37°C. A la vez, se colocó un poco del caldo de BHI de la muestra contaminada en una placa porta de vidrio y se realizó la tinción Gram. Posteriormente fue analizada bajo el microscopio.

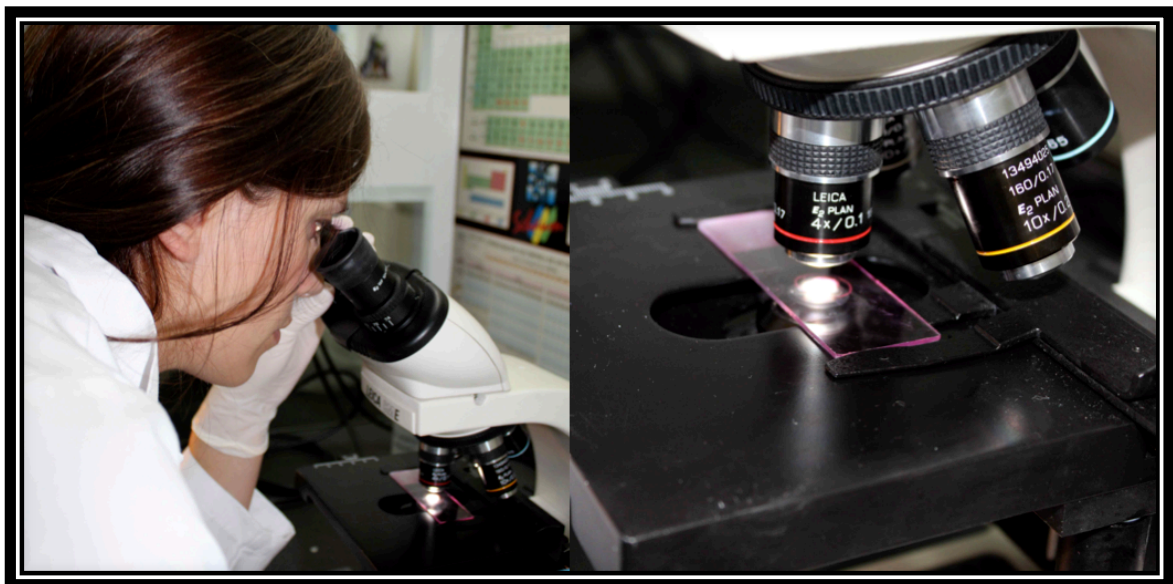
Todas las muestras cultivadas en Bactec fueron sembradas en un nuevo medio agar sangre para ver si presentaban crecimiento microbiano. A la vez, todas las muestras fueron analizadas con la tinción Gram y llevadas posteriormente al microscopio para descubrir cualquier posible crecimiento microbiano.

### **Tinción Gram**

- Solución Salina
- Cristal Violeta
- Yodo Gram
- Alcohol cetona
- Safranina
- Agua



**Figura#10** Tinción Gram



**Figura #11** Análisis de las muestras en el microscopio óptico LEICA

## 8. RESULTADOS

### Evaluación de los grupos control

El grupo control negativo no presentó crecimiento en ninguno de los dos medios sembrados (Agar Sangre y BHI).

El grupo control positivo, presentó crecimiento después de 72 horas de incubación, tanto en el medio Agar Sangre Humana, como en el medio BHI (Brain Heart Infusion).

El control con hipoclorito de sodio al 5,25%, no presentó crecimiento bacteriano en el medio Agar Sangre, pero presentó un halo translúcido alrededor del cono (Figura #12) dándonos como resultado la ruptura de glóbulos rojos o hemólisis.

**Tabla #4** Resultados de los controles positivo, negativo y con NaOCl en medio Agar Sangre Humana

AGAR SANGRE HUMANA		
GRUPO CONTROL	PRESENCIA DE CRECIMIENTO BACTERIANO	AUSENCIA DE CRECIMIENTO BACTERIANO
CONTROL POSITIVO	X	
CONTROL NEGATIVO		X
CONTROL con NaOCl		X

**Tabla #5** Resultados de los controles positivo, negativo en medio BHI

BHI		
GRUPO CONTROL	PRESENCIA DE CRECIMIENTO BACTERIANO	AUSENCIA DE CRECIMIENTO BACTERIANO
CONTROL POSITIVO	X	
CONTROL NEGATIVO		X



**Figura #12** Cono de gutapercha sembrado en Agar Sangre Humana, se observa hemolisis alrededor del cono.

### Evaluación de la contaminación microbiana de conos de gutapercha en empaques sellados

Nuestros resultados indican que el 7,1% de los conos de gutapercha muestran contaminación (Tabla #6). De las seis marcas evaluadas (Meta, Denstply/Maillefer, Zipperer, Becht, new Stetic y Gapadent), los conos de las cuatros marcas, Meta, Zipperer, Becht y Gapadent; se encontraban contaminados.

**Tabla #6** Porcentaje total de conos contaminados y no contaminados

Resultado	Frecuencia	%
<b>Contaminado</b>	6	7,1%
<b>No Contaminado</b>	78	92,9%
<b>Total general</b>	<b>84</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #7** Cantidad de conos contaminados y no contaminados por marca

Marca del cono	Contaminado	No Contaminado
<b>BECHT (D)</b>	2	10
<b>DENTSPLY (B)</b>	0	18
<b>GAPADENT (E )</b>	2	10
<b>META (A)</b>	1	17
<b>NEW STETIC (F)</b>	0	12
<b>ZIPPERER (C )</b>	1	11
Total general	<b>6</b>	<b>78</b>

**Tabla #8** Porcentaje de conos contaminados y no contaminados por marca

Marca del cono	Contaminado	No Contaminado
<b>BECHT (D)</b>	33,3%	12,8%
<b>DENTSPLY (B)</b>	0,0%	23,1%
<b>GAPADENT (E )</b>	33,3%	12,8%
<b>META (A)</b>	16,7%	21,8%
<b>NEW STETIC (F)</b>	0,0%	15,4%
<b>ZIPPERER (C )</b>	16,7%	14,1%
Total general	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #9** Cantidad de conos contaminados y no contaminados por número de cono

Número de Cono	Contaminado	No Contaminado
<b>15</b>	1	13
<b>20</b>	1	13
<b>25</b>	0	14
<b>30</b>	0	14
<b>35</b>	3	11
<b>40</b>	1	13
Total	<b>6</b>	<b>78</b>

**Tabla #10** Porcentaje de conos contaminados y no contaminados por tipo de cono

Número de Cono	Contaminado	No Contaminado
15	16,7%	16,7%
20	16,7%	16,7%
25	0,0%	17,9%
30	0,0%	17,9%
35	50,0%	14,1%
40	16,7%	16,7%
Total	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #11** Cantidad de conos contaminados por numero de cono en Agar Sangre y BHI

Número de Cono	Contaminados por cultivo	
	Agar Sangre	BHI
15	0	1
20	1	0
35	1	2
40	0	1
Total general	<b>2</b>	<b>4</b>

**Tabla #12** Porcentaje de conos contaminados por número de cono en Agar Sangre y BHI

Número de Cono	Contaminados por cultivo	
	Agar Sangre	BHI
15	0,0%	25,0%
20	50,0%	0,0%
35	50,0%	50,0%
40	0,0%	25,0%
Total general	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #13** Porcentaje de conos contaminados por cultivo

Cultivo	Frecuencia	%
<b>AGAR SANGRE</b>	2	33,3%
<b>BHI</b>	4	66,7%
Total general	<b>6</b>	<b>100,0%</b>

### Evaluación de la tinción Gram

En cuanto a la tinción Gram de las bacterias, se encontró que 16,67% de las bacterias fueron Gramnegativas y el 83,33% de las bacterias fueron Grampositivas como se indica en la Tabla #14.

**Tabla #14** Porcentaje del resultados de la tinción Gram

Tinción Gram	Frecuencia	%
<b>Gramnegativo</b>	1	16,67%
<b>Grampositivo</b>	5	83,33%
Total general	<b>6</b>	<b>100,00%</b>

### Evaluación de la forma de las colonias

En cuanto a la forma de las colonias de las 6 muestras contaminadas, se encontró que el 83,3% de las bacterias eran Bacilos y el 16,7% eran Cocos.

**Tabla #15** Porcentaje del tipo de bacteria encontradas en los resultados

Bacteria	Frecuencia	%
<b>Bacilos</b>	5	83,3%
<b>Cocos</b>	1	16,7%
Total general	<b>6</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #16** Cantidad de bacilos y cocos encontrados en Agar Sangre y BHI por número de cono

Número de Cono	Agar Sangre		BHI
	Bacilos	Bacilos	Cocos
<b>15</b>		1	
<b>20</b>	1		
<b>35</b>	1	1	1
<b>40</b>		1	
Total	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>



**Tabla #17** Porcentaje de bacilos y cocos encontrados en Agar Sangre y BHI por número de cono

Número de Cono	Agar Sangre	BHI	
	Bacilos	Bacilos	Cocos
15	0,0%	33,3%	0,0%
20	50,0%	0,0%	0,0%
35	50,0%	33,3%	100,0%
40	0,0%	33,3%	0,0%
Total	100,0%	100,0%	100,0%

**Tabla #18** Cantidad de bacilos y cocos encontrados en Agar Sangre y BHI por marca de cono

Marca del Cono	Agar Sangre	BHI	
	Bacilos	Bacilos	Cocos
BECHT (D)	1	1	
GAPADENT (E)		1	1
META (A)	1		
ZIPPERER (C)		1	
Total	2	3	1

## 8.1 Análisis Descriptivo

Se analizaron un total de 84 muestras, las cuales se encontraban en 6 grupos diferentes, divididos por sus respectivas marcas:

**Tabla #19** División de los conos de gutapercha por marca y cultivo

GRUPO	MARCA	AGAR SANGRE	BHI	BACTEC	TOTAL
Grupo A	META	6	6	6	18
Grupo B	DENTSPLY	6	6	6	18
Grupo C	ZIPPERER	6	6	No se realiza	12
Grupo D	BECHT	6	6	No se realiza	12
Grupo E	GAPADENT	6	6	No se realiza	12
Grupo F	NEW STETIC	6	6	No se realiza	12
				<b>SUMA TOTAL</b>	84

En las siguientes tablas se muestra el análisis descriptivo del estudio.

**Tabla #20** Cantidad de conos utilizados por marca, el total de muestras por número de cono y total general.

Marca del Cono	Número de Cono						
	15	20	25	30	35	40	Total
BECHT (D)	2	2	2	2	2	2	12
DENTSPLY (B)	3	3	3	3	3	3	18
GAPADENT (E )	2	2	2	2	2	2	12
META (A)	3	3	3	3	3	3	18
NEW STETIC (F)	2	2	2	2	2	2	12
ZIPPERER (C )	2	2	2	2	2	2	12
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>84</b>

**Tabla #21** Porcentaje correspondiente a la cantidad de muestras

Marca del Cono	Número de Cono						
	15	20	25	30	35	40	Total
BECHT (D)	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%
DENTSPLY (B)	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%
GAPADENT (E )	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%
META (A)	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%	21,4%
NEW STETIC (F)	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%
ZIPPERER (C )	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%	14,3%
<b>Total</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #22** Porcentaje correspondiente a la cantidad de muestras por marca

Marca del Cono	Frecuencia	%
BECHT (D)	12	14,3%
DENTSPLY (B)	18	21,4%
GAPADENT (E )	12	14,3%
META (A)	18	21,4%
NEW STETIC (F)	12	14,3%
ZIPPERER (C )	12	14,3%
<b>Total general</b>	<b>84</b>	<b>100,0%</b>

**Tabla #23** Porcentaje correspondiente a la cantidad de muestras por número de cono

Número de Cono	Frecuencia	%
15	14	16,7%
20	14	16,7%
25	14	16,7%
30	14	16,7%
35	14	16,7%
40	14	16,7%
<b>Total general</b>	<b>84</b>	<b>100,0%</b>

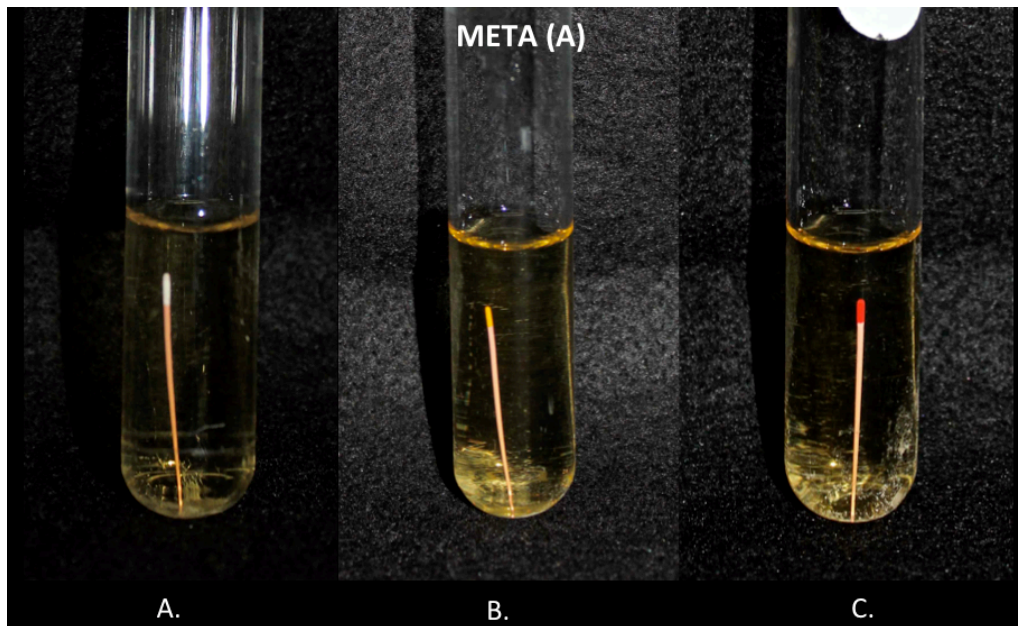
Muestras en medio agar sangre, BHI y Bactec fueron seleccionadas y colocados a continuación.

### META (GRUPO A)

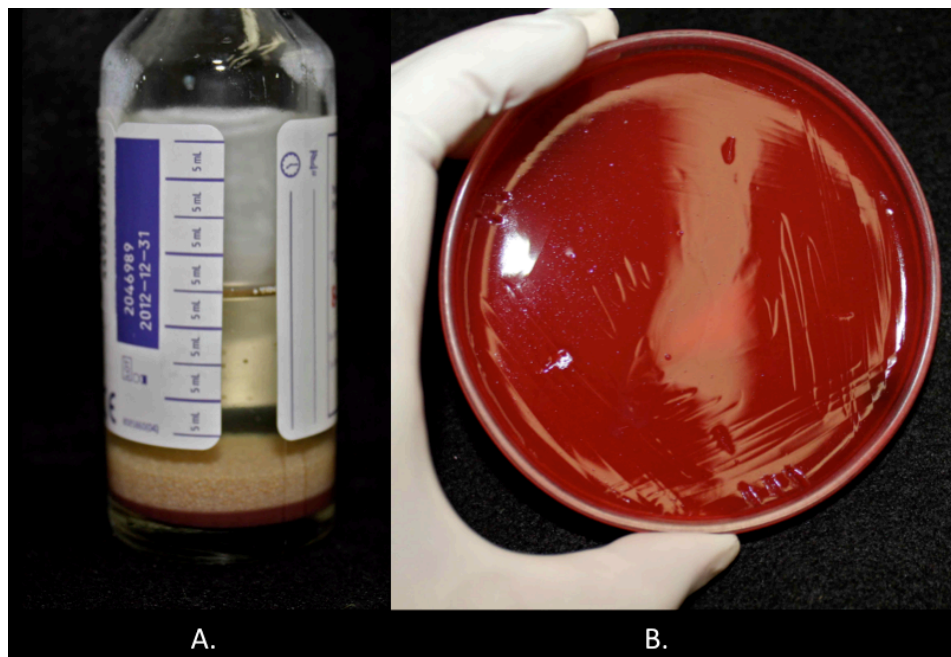
Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo A (Meta):



**Figura #13** A. Cono de gutapercha #15, no presenta crecimiento;  
 B. Cono de gutapercha #20, presenta crecimiento;  
 C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;  
 D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento



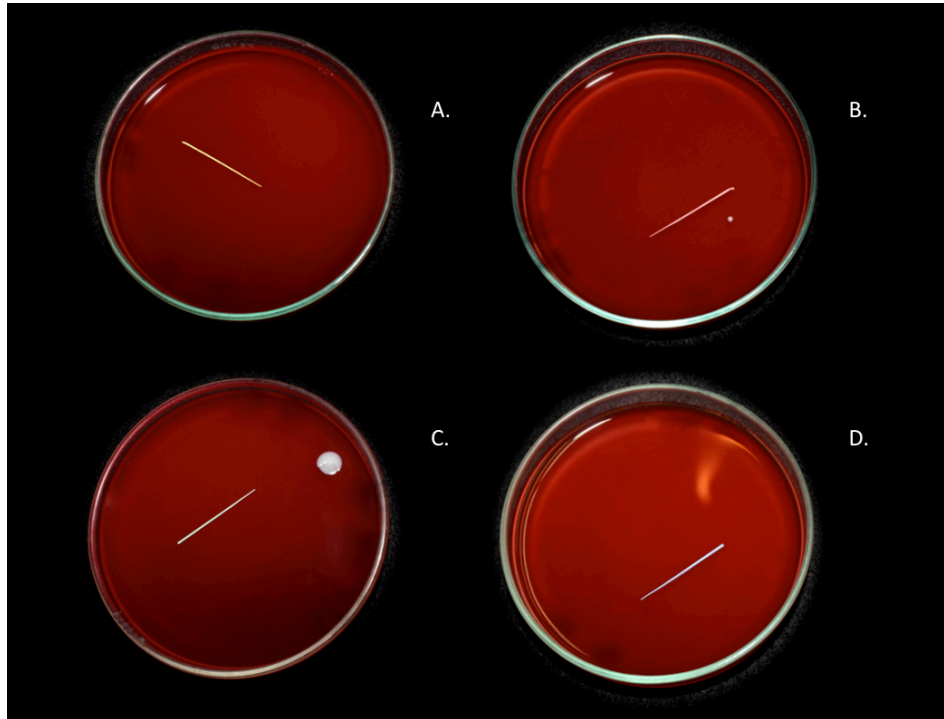
**Figura #14** A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez.



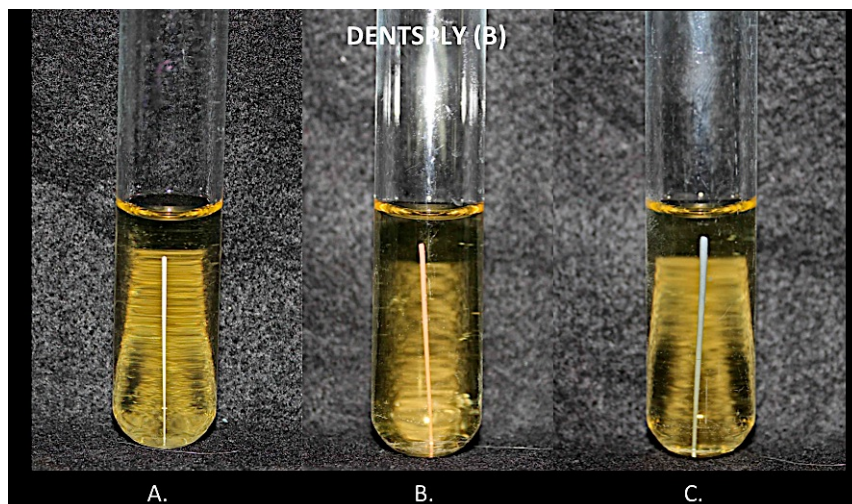
**Figura #15** A. Cono de gutapercha #20 en Bactec, no presenta crecimiento;  
 B. Subcultivo del caldo Bactec en agar sangre, no presenta crecimiento

## DENSTPLY/MAILLEFER (GRUPO B)

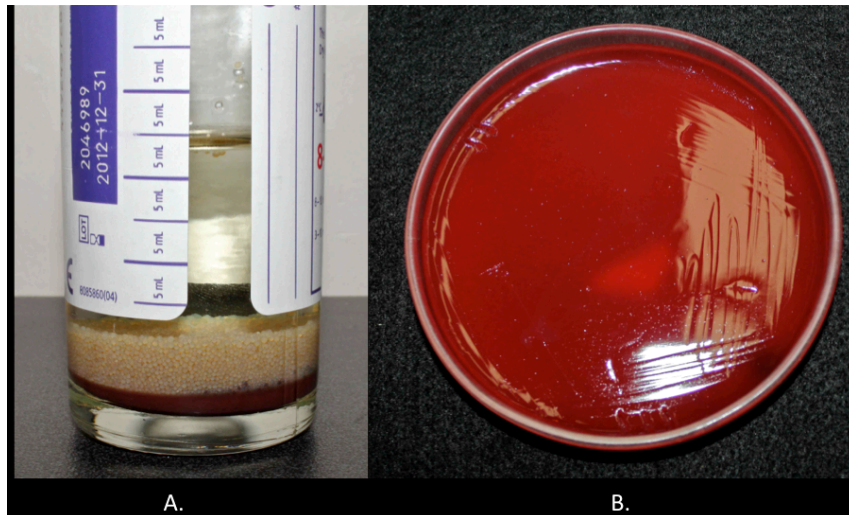
Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo B (Dentsply/Maillefer):



**Figura #16** A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;  
 B. Cono de gutapercha #25, presenta contaminación externa;  
 C. Cono de gutapercha #35, presenta contaminación externa;  
 D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento



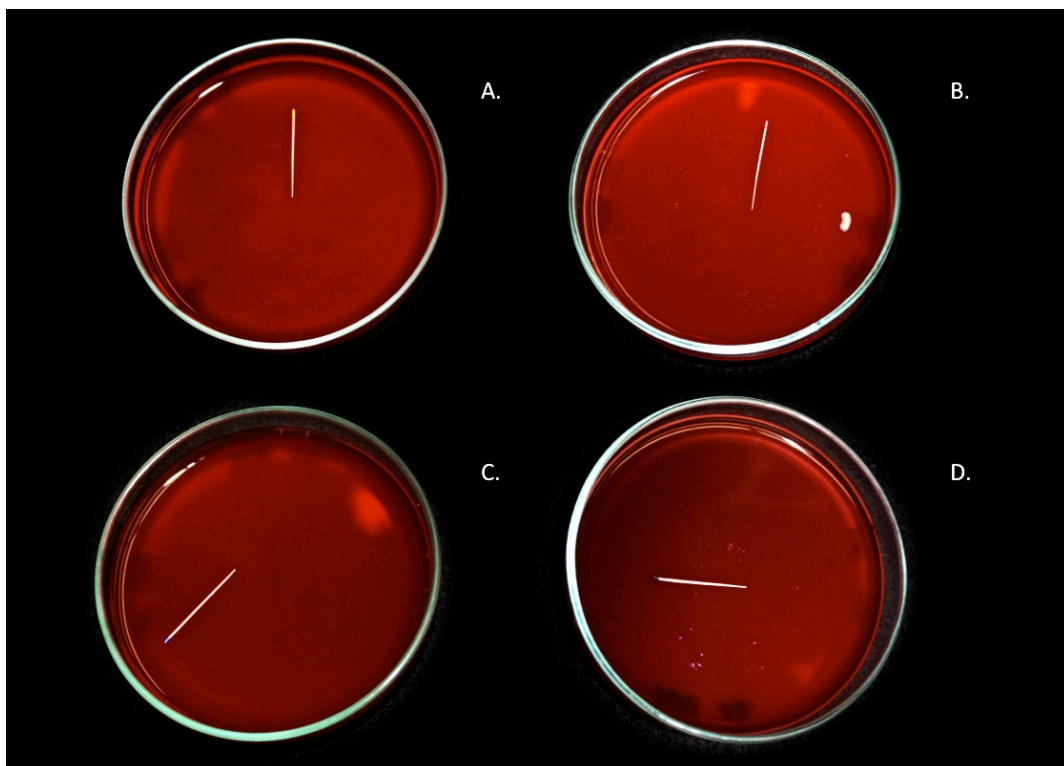
**Figura #17** A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #40, no presenta turbidez.



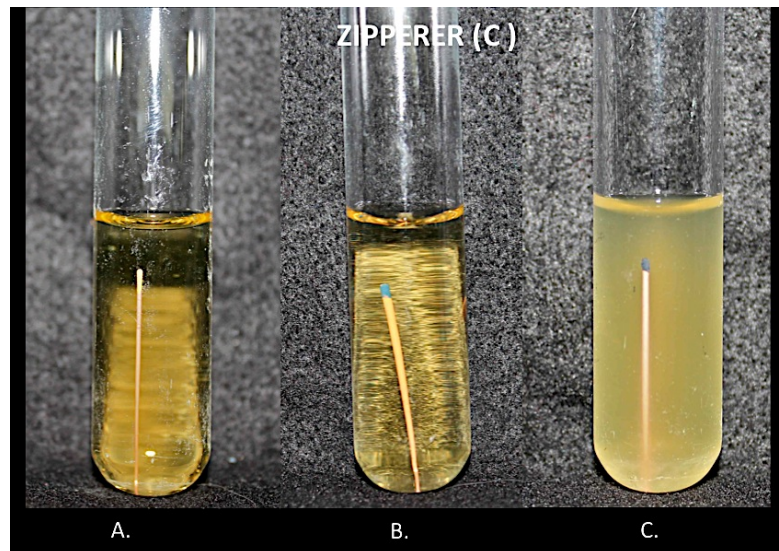
**Figura #18** A. Cono de gutapercha #35 en Bactec, no presenta crecimiento; B. Subcultivo del caldo Bactec en agar sangre, no presenta crecimiento

### ZIPPERER (GRUPO C)

Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo C (Zipperer):



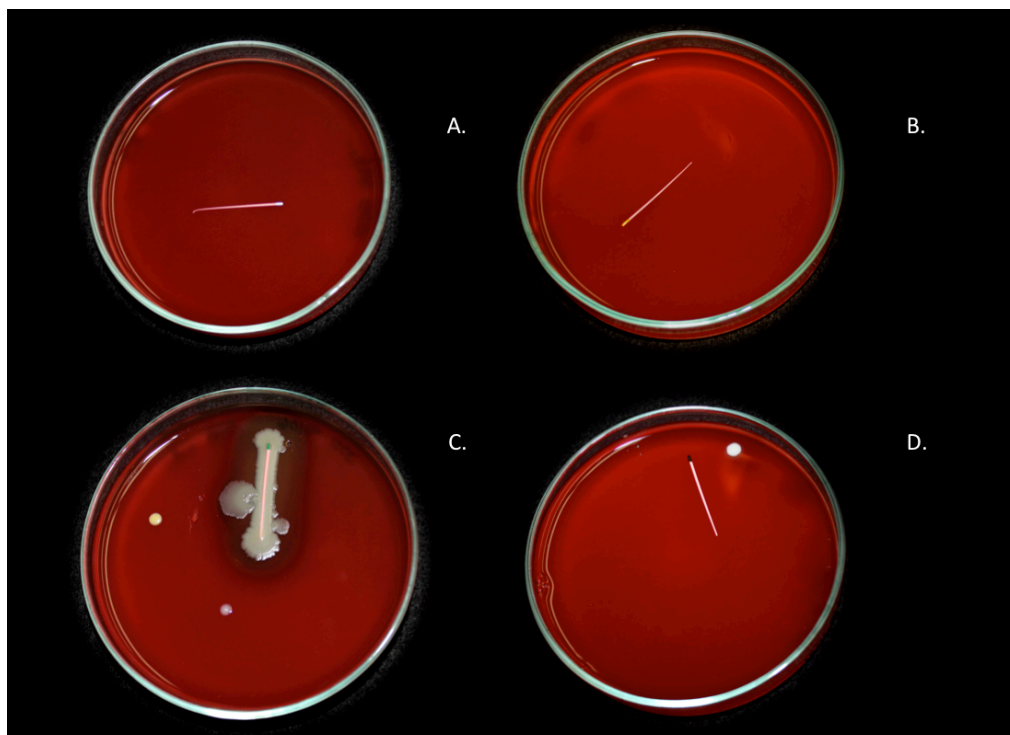
**Figura #19** A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento; B. Cono de gutapercha #25, presenta contaminación externa; C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento; D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento



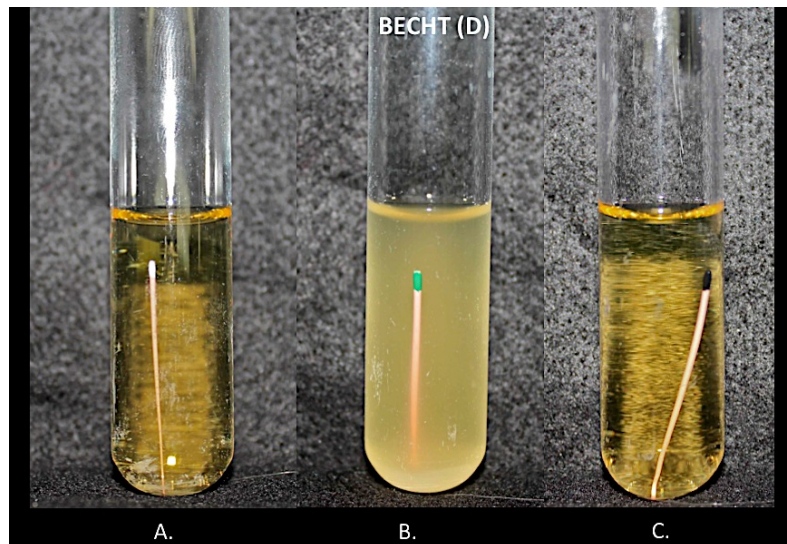
**Figura #20** A. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #30, no presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #40, presenta turbidez.

### **BECHT (GRUPO D)**

Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo D (Becht):



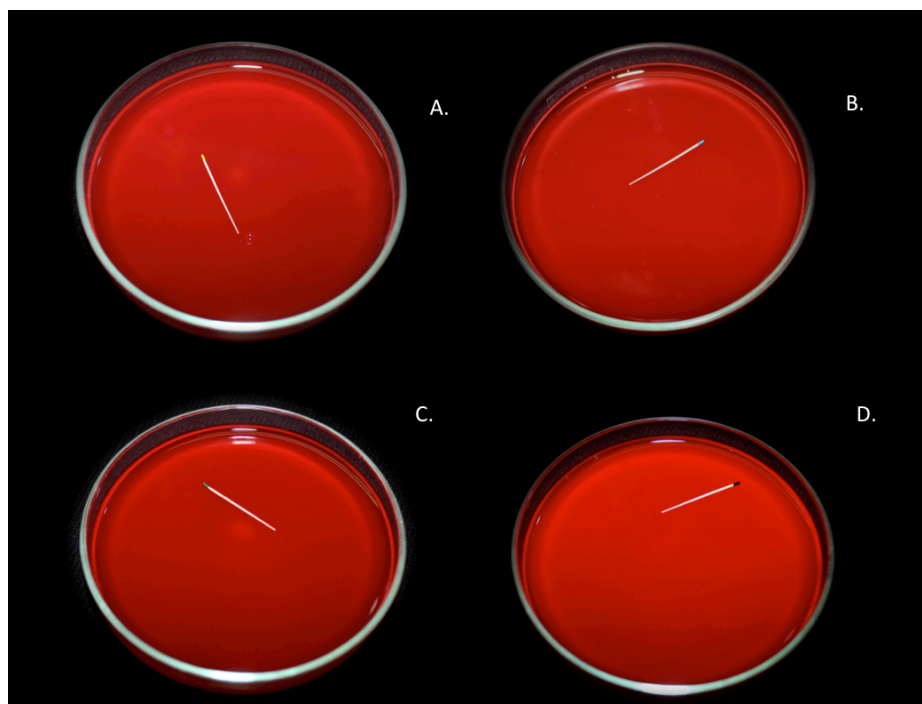
**Figura #21** A. Cono de gutapercha #15, no presenta crecimiento;  
 B. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;  
 C. Cono de gutapercha #35, presenta crecimiento y contaminación externa;  
 D. Cono de gutapercha #40, presenta contaminación externa.



**Figura #22** A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #35, presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #40, no presenta turbidez.

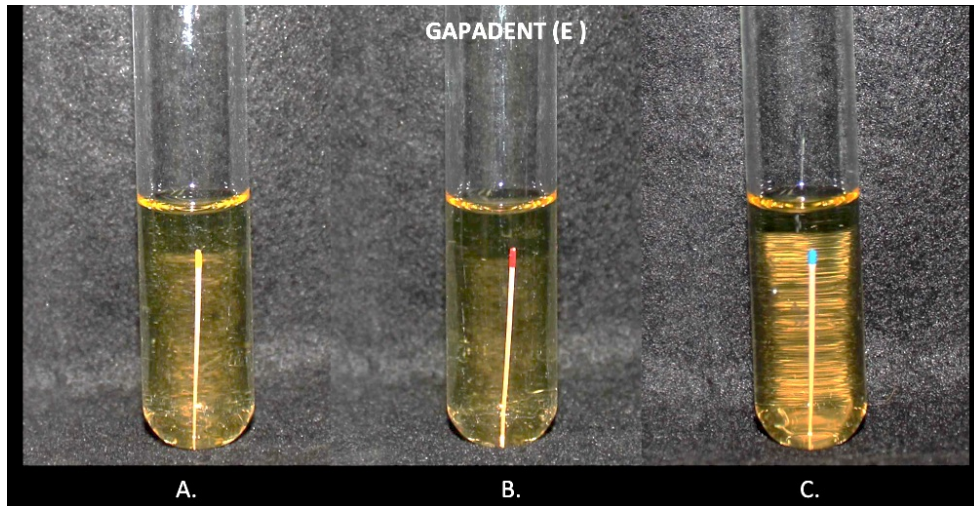
### GAPADENT (GRUPO E)

Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo E (Gapadent):



**Figura #23** A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;  
 B. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;  
 C. Cono de gutapercha #35, no presenta crecimiento;  
 D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.

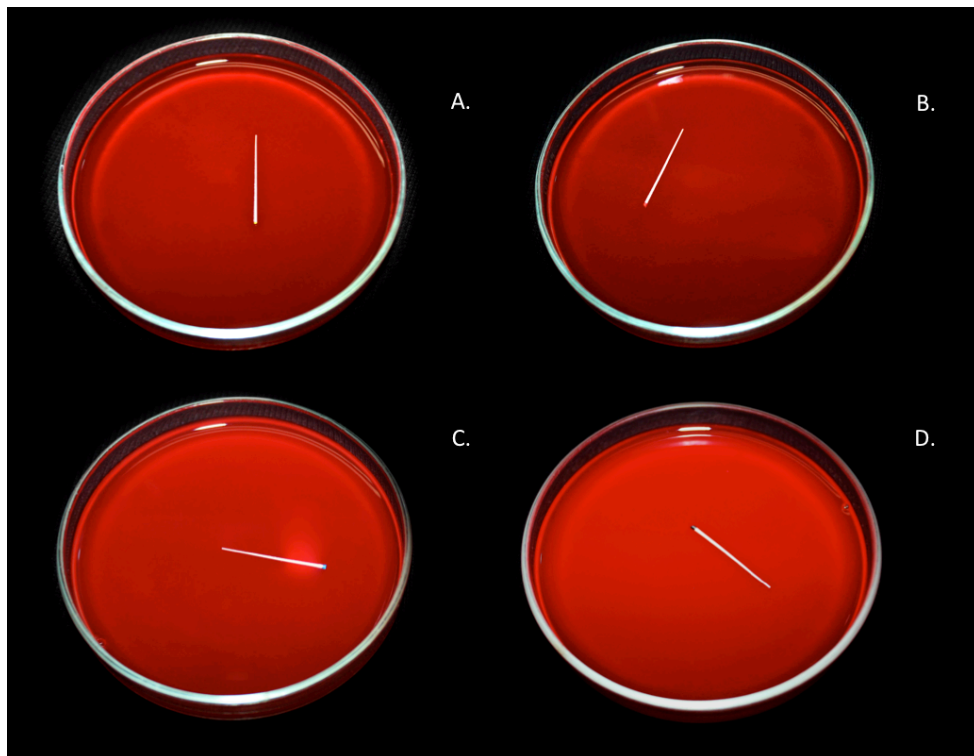




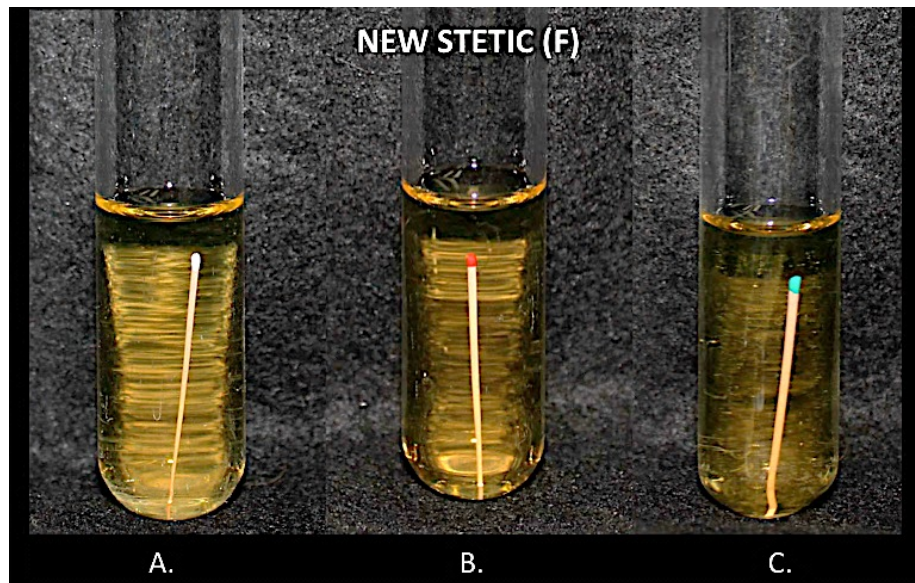
**Figura #24** A. Cono de gutapercha #20, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #30, no presenta turbidez.

### NEW STETIC (GRUPO F)

Las siguientes son fotografías correspondientes al Grupo F (New Stetic):



**Figura #25** A. Cono de gutapercha #20, no presenta crecimiento;  
 B. Cono de gutapercha #25, no presenta crecimiento;  
 C. Cono de gutapercha #30, no presenta crecimiento;  
 D. Cono de gutapercha #40, no presenta crecimiento.



**Figura #26** A. Cono de gutapercha #15, no presenta turbidez;  
 B. Cono de gutapercha #25, no presenta turbidez;  
 C. Cono de gutapercha #35, no presenta turbidez.

## 8.2 Análisis del cultivo de conos de gutapercha en Agar Sangre, BHI y BACTEC

En seguida se da a conocer que marca de conos de gutapercha se encuentra contaminada y con que tipo de bacteria, después de incubarlos por 72 horas.

**Tabla #24** Resultados del cultivo después de 72 horas en medio Agar Sangre

CONOS	AGAR SANGRE	
	CONTAMINADO	NO CONTAMINADO
META (A)		
15		X
20	Bacilos Grampositivos	
25		X
30		X
35		X
40		X

<b>DENTSPLY (B)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>ZIPPERER (C)</b>		
	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>BECHT (D)</b>		
	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35	Bacilos Grampositivos	
40		X
<b>GAPADENT (E)</b>		
	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>NEW STETIC (F)</b>		
	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X

**Tabla #25** Resultados del cultivo después de 72 horas en medio BHI

<b>CONOS</b>	<b>BHI</b>	
<b>META (A)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>DENTSPLY (B)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>ZIPPERER (C)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40	Bacilos Gramnegativos	
<b>BECHT (D)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35	Bacilos Grampositivos	
40		X
<b>GAPADENT (E)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15	Bacilos Grampositivos	
20		X
25		X
30		X
35	Cocos Grampositivos	
40		X

<b>NEW STETIC (F)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X

**Tabla #26** Resultados del cultivo después de 72 horas en medio BACTEC

<b>CONOS</b>	<b>BACTEC</b>	
<b>META (A)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>DENTSPLY (B)</b>	<b>CONTAMINADO</b>	<b>NO CONTAMINADO</b>
15		X
20		X
25		X
30		X
35		X
40		X
<b>ZIPPERER (C)</b>	No se realizó	
<b>BECHT (D)</b>	No se realizó	
<b>GAPADENT (E)</b>	No se realizó	
<b>NEW STETIC (F)</b>	No se realizó	

### 8.3 Prueba de hipótesis Chi Cuadrada

La hipótesis nula de la prueba Chi-cuadrado postula una distribución de probabilidad totalmente especificada como el modelo matemático de la población que ha generado la muestra.

Para realizar este contraste se disponen los datos en una tabla de frecuencias. Para cada valor o intervalo de valores se indica la frecuencia absoluta observada o empírica ( $O_i$ ). A continuación, y suponiendo que la hipótesis nula es cierta, se calculan para cada valor o intervalo de valores la frecuencia absoluta que cabría esperar o frecuencia esperada ( $E_i = n \cdot p_i$ ), donde  $n$  es el tamaño de la muestra y  $p_i$  la probabilidad del  $i$ -ésimo valor o intervalo de valores según la hipótesis nula. El estadístico de prueba se basa en las diferencias entre la  $O_i$  y  $E_i$  y se define como:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}.$$

Si existe concordancia perfecta entre las frecuencias observadas y las esperadas el estadístico tomará un valor igual a 0; por el contrario, si existe una gran discrepancia entre estas frecuencias el estadístico tomará un valor grande y, en consecuencia, se rechazará la hipótesis nula. Así pues, la región crítica estará situada en el extremo superior de la distribución Chi-cuadrado con  $k-1$  grados de libertad (SPSS Análisis de Datos, 2005).

**H<sub>0</sub>** = Los conos de gutapercha que se venden comercialmente se encuentran estériles dentro de sus empaques sellados.

**Tabla #27** Resultados Prueba de hipótesis Chi Cuadrada

<b>Contaminado</b>			
	<b>Observed N</b>	<b>Expected N</b>	<b>Residual</b>
<b>Contaminado</b>	6	42,0	-36,0
<b>No Contaminado</b>	78	42,0	36,0
<b>Total</b>	84		

<b>Test Statistics</b>	
	<b>Contaminado</b>
<b>Chi-Square</b>	61,714
<b>df</b>	1
<b>Asymp. Sig.</b>	,000

→ *Se rechaza Ho*

El resultado de la prueba de chi cuadrada dio 61,714, concluyendo que los conos de gutapercha que se venden comercialmente no se encuentran estériles dentro de sus empaques sellados.

## 9. DISCUSIÓN

El último paso en endodoncia es la obturación del sistema de conductos y el uso de conos es bastante frecuente en la clínica. Su contaminación podría causar un posible fracaso del tratamiento.

A pesar de que los conos de gutapercha sean producidos bajo condiciones asépticas, la contaminación puede ocurrir después de la apertura del envase como resultado de la exposición al ambiente de la clínica y su manipulación (Zand, Salem-Milani, Shashi, Akhi, & Vazifekhah, 2012). Estudios realizados previamente muestran que el exponer conos de gutapercha al medio ambiente de la clínica ayuda a la contaminación de los mismos. Entre esos estudios está el de Ozalp en 2006, donde escogió un total de 80 conos de gutapercha y los expuso al ambiente de la clínica por treinta minutos al día durante un mes; encontró que el 100% de los conos estaban contaminados por una variedad de microorganismos después de la exposición. El mismo estudio lo elaboró Pang en el 2007, donde sus resultados mostraron que el 19,4% de los conos de gutapercha expuestos al medio de la clínica estaban contaminados. A la vez, Kayaoglu en el 2009, encontró que el 58,33% de las cajas de conos expuestas al ambiente de la clínica estaban contaminadas después de tres días de exposición. André Moreira, en el 2010, presentó un estudio donde expuso 30 cajas al ambiente de la clínica; encontró que el 30% de las cajas presentaban contaminación. La tinción Gram del estudio de André, reveló la presencia de cocos e bacilos Grampositivos y bacilos Gramnegativos. Tartarotti, et al., en el 2004, encontraron que de los 13 conos de gutapercha expuestos al ambiente de la clínica, el 100% se encontraban contaminados.



En el presente estudio también corroboramos que conos de gutapercha expuestos al ambiente de la clínica son fácilmente contaminados. Para el control positivo se tomo dos conos de gutapercha de una caja de la marca Meta que se encontraba en la clínica de la USFQ y fue utilizada por estudiantes de Pregrado y Postgrado en sus clínicas de endodoncia. Los dos conos de gutapercha mostraron crecimiento de bacilos Grampositivos en los dos medios de cultivo (Agar Sangre y BHI). Esto ocurre porque las cajas de conos de gutapercha son utilizadas por más de un estudiante en clínicas de endodoncia y las mismas se encuentran abiertas y expuestas a los microorganismos del medio ambiente, lo que explicaría la fuente de contaminación de estos conos. También implica el hecho que las pinzas de diagnóstico no se encuentren más estériles al finalizar el tratamiento y las mismas son utilizadas para coger los conos de gutapercha de sus cajas.

El control negativo se lo realizo con 2 conos de gutapercha de la marca Meta, estos fueron esterilizados dentro de una cámara de luz ultravioleta; esta luz actúa destruyendo el ADN de la célula (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006). Esta cámara tiene un costo bastante elevado y se la encuentra en laboratorios de nivel de seguridad II. No es de uso odontológico como lo es la estufa y el autoclave, por ende, no es de fácil acceso para el profesional.

Realizamos un tercer control con hipoclorito de sodio al 5,25%. El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la solución más utilizada para la desinfección de conos de gutapercha. Senia et al., en 1975, indicaron en su estudio in vitro que un minuto de inmersión del cono de gutapercha en hipoclorito de sodio al 5,25% actúa en la desinfección de una variedad de microorganismos Grampositivos, Gramnegativos y en la formación de esporas. En este estudio nosotros

seleccionamos un cono de gutapercha y lo sumergimos por 15 minutos en hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5,25%, después del tiempo de inmersión no presento crecimiento bacteriano en el medio Agar Sangre, pero alrededor del cono se creó un halo transparente, este efecto llamado hemólisis se produce por la ruptura de los glóbulos rojos de la sangre. Esto pudo ocurrir por causa del hipoclorito de sodio, debido a la entrada de esta solución en la célula por un fenómeno de ósmosis, causando así la ruptura de los glóbulos rojos (Galiano, 2010). Se realizó este control, ya que esta es la manera más común de desinfectar los conos de gutapercha en clínica demostrando así su eficacia. Al sumergir los conos en hipoclorito de sodio, no se está realizando una esterilización sino una desinfección, por lo que no se le puede considerar como control negativo, ya que no podemos asegurar que no existe contaminación.

En el presente estudio, de cada una de las seis cajas de conos de gutapercha se selecciono al azar un cono de cada diámetro (#15, #20, #25, #30, #35, #40) y se los colocó en cada uno de los medios. Esto se hizo con el objetivo de obtener una muestra representativa de cada caja; ya que si de cada caja sólo se elegía un cono #15 se iba a evaluar menos del 10% de la contaminación de la caja.

A la vez, en este estudio se utilizaron tres medios de cultivo: el medio BHI es un medio líquido nutritivo el cual ayuda a la reproducción de las bacterias y su crecimiento; mientras que el medio agar sangre humana es un medio de aislamiento diseñado para obtener cultivos puros; la presencia de sangre en este medio permite la determinación de hemólisis, criterio básico en la identificación bacteriana (BIOMÉRIEUX, 1996). El sistema BACTEC™, es un sistema usado para hemocultivos, este medio también neutraliza efectivamente

una amplia variedad de antibióticos, permitiendo el crecimiento de microorganismos que no crecerían en medios convencionales (AMILAB, s.f.).

Los conos de gutapercha fueron sembrados en estos tres medios (Agar Sangre, BHI, BACTEC) En BHI para ayudar al crecimiento de bacterias, ya que al ser un medio líquido cubre todas las superficies del cono ayudando al crecimiento de cualquier bacteria que se encuentre en el mismo. El medio Agar Sangre fue utilizado para el crecimiento de bacterias, pero este por ser un medio sólido no puede cubrir todas las superficies del cono. Fue también utilizado para obtener cultivos puros por la técnica de estriación y para hacer subcultivos (Chavez, 2012). Estos dos medios se complementan en la determinación del crecimiento bacteriano. El medio BACTEC se lo utilizó solo para los conos de gutapercha de las marcas Meta y Dentsply; sus resultados fueron negativos al no existir crecimiento en ninguna de las muestras; por esta razón y por su elevado costo se decidió, junto al equipo de microbiología, no utilizarlo para el resto de las muestras.

Por otro lado, algunas de las cajas de conos de gutapercha en sus instrucciones indican el “No esterilizar”, otras de las cajas son más específicas y expresa el “No esterilice en autoclave o esterilización de calor”. Muy pocas cajas de conos de gutapercha presentan en sus instrucciones la previa descontaminación de los mismos. En nuestro estudio los conos de la marca Becht fueron los únicos que indicaban en sus instrucciones el desinfectar antes de usar. Asimismo, los conos de la marca Zipperer fueron los únicos en indicar en su caja que no se encontraban estériles. Consecuentemente muchos profesionales al leer las instrucciones, piensan que los conos de gutapercha al

estar en una caja sellada, están libres de contaminación y los utilizan sin su previa desinfección.

Existen muchos estudios sobre la descontaminación de conos de gutapercha con agentes químicos. En la mayoría de estos estudios, los conos de gutapercha son previamente contaminados con diferentes cepas de bacterias para luego descontaminarlos con las diferentes soluciones químicas a diferentes porcentajes, por diferentes tiempos; comprobando así cual es la solución más eficaz y rápida.

Son muy pocos los estudios en los que se habla si los conos de gutapercha de empaques sellados se encuentran contaminados o no. En la mayoría de estos estudios la cantidad de contaminación es baja o nula, lo que nos lleva a pensar si los conos de gutapercha de empaques sellados se deben desinfectar o no. En 1971, Montgomery observó que el 8% de los conos de gutapercha de empaques sellados comercialmente disponibles se encontraban contaminados. En este estudio se observó el crecimiento de bacterias en el 7% de los conos de gutapercha de empaques sellados, lo que se confirma con el estudio realizado por Montgomery. De manera similar, en 2005, Gomes et al., evaluaron la contaminación de conos de gutapercha en sus empaques y mostraron que el 94,5% de los conos no mostraba contaminación, mientras que el 5,5% mostró crecimiento. El microorganismo más frecuente encontrado en ese estudio fue el *Staphylococcus*. El *Staphylococcus* es una bacteria Grampositiva donde las células coco se desarrollan en un patrón que recuerda a un racimo de uvas (Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2006). En el presente estudio encontramos dos tipos de microorganismos en los conos contaminados: 83,3% fueron Bacilos y 16,7% fueron Cocos. De los mismos, la

gran mayoría (83.33%) fueron bacterias Grampositivas. Los resultados de los dos estudios se asemejan al encontrar bacterias Grampositivas. En otro estudio, el de Kayaoglu en el 2009, se observó crecimiento en 2.08% de los conos, en este estudio se usaron conos de la marca Sure-endo, Sure-dent Co., Seoul, Korea.

Por otro lado, existen estudios en los que sus resultados son discordantes al encontrado en este estudio. Pang y cols, en mayo del 2007, realizaron un estudio en donde utilizaron un total de 30 conos de gutapercha de 10 cajas selladas, como grupo control, para observar el nivel de contaminación de los mismos. Sus resultados dieron negativo en todos los conos, es decir, los conos estaban libres de contaminación. Da Silva, en el 2010, evaluó la contaminación microbiana de 10 conos de gutapercha de empaques sellados, encontrando que ningún cono poseía contaminación. Shnaydman, en el 2011, realizó un estudio en el cual evaluó 100 conos de gutapercha de 5 nuevas cajas de diferentes marcas y observó que ninguno de los 100 conos se encontraba contaminado. De Seabra, evaluó la contaminación microbiana de conos de gutapercha de empaques sellados de 7 diferentes marcas (Dentsply, DiaDent, Endopoints, Meta, Obtura Spartan, Odous, Tanari), sus resultados revelaron que ninguna de las muestras presentó contaminación.

La razón por la que los niveles de contaminación de los estudios anteriormente expuestos sean muy bajos o nulos, puede estar justificado por algunas características peculiares que presentan los conos de gutapercha como: la falta de humedad y nutrientes, lo que dificultan el crecimiento microbiano; de la misma manera presenta óxido de zinc en su composición (llegando incluso al 75% de su composición dependiendo de la marca), el cual tiene una acción

antibacteriana inhibiendo la colonización de microorganismos y por último tiene una superficie lisa donde la adherencia de microorganismos es difícil. Cabe mencionar, que conos de gutapercha de empaques sellados no han estado en contacto con posibles fuentes de contaminación como el entorno clínico, a la vez no han sido manipulados excesivamente, contribuyendo así a mantener la cadena aséptica de los conos (Silva, Sponchiado, & Franco Marques, 2010).

Las marcas analizadas en este estudio, son las marcas más utilizadas y comercializadas en el Ecuador, algunas de las mismas las encontramos en la clínica de la USFQ, como es el caso de los conos Meta y Dentsply. De las seis marcas analizadas, cuatro mostraban crecimiento (Meta, Zipperer, Becht y Gapadent), una explicación para esto puede ser el proceso de fabricación de los conos que difiere entre marcas; algunos fabricantes pueden ser más cuidadosos y tener más bioseguridad en el momento de elaborar los conos. Mientras que otras marcas pueden agregar más óxido de zinc en la composición de los conos para así impedir el crecimiento microbiano. Fue muy complicado encontrar los porcentajes exactos del contenido de óxido de zinc de los conos de las distintas marcas estudiadas, ya que se nos informó que esta información es confidencial; la única marca que tiene disponible el porcentaje de óxido de zinc son los conos de gutapercha de la marca Becht indicando que el 58% de su composición es de óxido de zinc. En el caso de las marcas Meta, Denstply/Maillefer, Zipperer, New Stetic, Becht y Gapadent este dato no se encuentra presente en sus cajas.

No debemos olvidar que los conos de gutapercha son fácilmente contaminados si estos se dejan en medios húmedos y abiertos. Los conos de gutapercha

siempre deben estar en lugares secos, sin luz y debidamente tapados. Así vamos a conseguir una menor contaminación de estos.

A través del estudio estadístico, la hipótesis de este estudio fue rechazada, ya que los conos de gutapercha de empaques sellados no se encuentran estériles como se asumió antes de este estudio. Los resultados de este estudio son estadísticamente significativos para el número de muestras analizadas, sin embargo la muestra no es significativa por lo que no podemos inferir que este patrón se da en todos los casos. A pesar de esto, en clínica no debemos dejar al azar el hecho de colocar un cono de gutapercha contaminado o no, por lo que se recomienda siempre desinfectarlos antes de su uso.

## 10. CONCLUSIONES

- Los resultados son estadísticamente significativos para la muestra analizada.
- La muestra analizada no es estadísticamente significativa.
- El 7,1% de los conos de gutapercha de empaques sellados se encuentran contaminados.
- En los conos de gutapercha contaminados se encontraron dos tipos de bacterias: 83,3% bacilos y 16,7% cocos de los cuales 16,67% fueron Gramnegativos y 83,33% Grampositivos.
- Los conos de gutapercha de las marcas Dentsply/Maillefer y New Stetic no presentaron crecimiento bacteriano.
- Los conos de gutapercha de las marcas Meta, Zipperer, Becht y Gapadent se encontraban contaminados dentro de sus empaques sellados.
- Los conos de gutapercha Meta presentaron bacilos Grampositivos.
- Los conos de gutapercha Zipperer presentaron bacilos Gramnegativos.
- Los conos de gutapercha Becht presentaron bacilos Grampositivos.
- Los conos de gutapercha Gapadent presentaron bacilos Grampositivos y cocos Grampositivos.



## 11. RECOMENDACIONES

- Se requieren hacer más estudios y con un mayor número de muestras para mejores resultados por la escasa literatura en este tema.
- Para futuros estudios acerca del mismo tema, se sugiere hacer la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR, en las colonias de bacterias encontradas en los conos de gutapercha contaminados.
- Los conos de papel también son utilizados en el procedimiento endodóncico, es por eso que se recomienda hacer un estudio similar en los mismos.
- La desinfección de los conos de gutapercha con hipoclorito de sodio o clorhexidina debe realizarse siempre antes de su uso en el tratamiento endodóncico.
- Realizar un estudio acerca de la desinfección de conos de gutapercha con diferentes soluciones químicas en diferentes concentraciones y períodos de tiempo.
- Optimizar el manejo de las cajas de conos de gutapercha dentro de la clínica de la USFQ.
- Realizar un estudio en el que se pueda observar la relación entre el crecimiento microbiano y la composición de cada marca de cono de gutapercha, en especial el porcentaje del óxido de zinc.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMILAB. (s.f. de s.f. de s.f.). *AMILAB*. Recuperado el 28 de Octubre de 2012, de Sistema "BACTEC" para hemocultivos:  
<http://www.amilab.cl/adobe/Bactec%209050.pdf>
2. André Moreiro Nacif, M. C. (2010). Análise da contaminação microbiana de cones de gutta-percha em uso clínico e de cones de papel absorvente. *Revista Brasileira de Odontologia* , 50-63.
3. Bartels, H. (1941). Gutta-percha cones as bacteriostatic agents. *J Dent Res* , 327-330.
4. Becton, Dickinson and Company. (11 de Enero de 2011). *BBL Brain Hearth Infusion*. Recuperado el 29 de Octubre de 2012, de BD:  
<http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8446>
5. BIOMÉRIEUX. (s.f. de s.f. de 1996). *BIOMÉRIEUX*. Recuperado el 28 de Octubre de 2012, de Medios de Cultivo:  
[http://www.biomerieux.com.mx/upload/CATALOGO\\_DE\\_PLACAS11.pdf](http://www.biomerieux.com.mx/upload/CATALOGO_DE_PLACAS11.pdf)
6. Brännström M, L. L. (1967). The hydrodynamics of the dentinal tubule and pulp fluid: a discussion of its significance in the relation to dentinal sensitivity. *Caries Res* , 310-317.
7. Canalda Sahli, C. (2006). *Endodoncia Técnicas Clínicas y Bases Científicas*. Barcelona, España: Masson.
8. Cardoso, C. L., Redmerski, R., Rodrigues Bittencourt, N. d., & Kotaka, C. R. (2000). Effectiveness of different chemical agents in rapid decontamination of gutta-percha cones. *Brazilian Journal of Microbiology* , 72-75.
9. Castillo Guarnizo, Z. (2010). *Evaluación in vitro de diferentes agentes de descontaminación de conos de gutapercha utilizados en la clínica de postgrado de la Universidad Central del Ecuador*. Quito: Universidad Central.
10. Chavez, C. (05 de Diciembre de 2012). Medios de Cultivo. (J. Gordillo, Entrevistador)
11. Cohen, S. (2010). *Vías de la pulpa*. Barcelona: Elsevier.
12. da Motta PG, d. F. (2001). Efficacy of chemical sterilization and storage conditions of gutta-percha cones. *Int Endod J* , 435-439.
13. De Seabra Pereira, O. L. (2008). Avaliação da contaminação de conos de gutta-percha e resilon utilizados no tratamento endodôntico. *Estácio* , 1-46.

14. Delgado, R., Gasparoto, T., Sipert, C., Pinheiro, C., Moraes, I., Garcia, R., y otros. (2010). Antimicrobial Effects of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontic*, 36 (8), 1389-1393.
15. Doolittle, T., Rubel, R., & Fried, I. (1975). The effectiveness of common office disinfection procedures for gutta-percha and silver points. *NY State Dental Journal*, 41, 409-414.
16. Galiano, A. (s.f. de s.f. de 2010). *ESACADEMIC*. Recuperado el 10 de 11 de 2012, de ACADEMIC:  
[http://www.esacademic.com/dic.nsf/es\\_mediclopedia/11380/hemólisis](http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/11380/hemólisis)
17. Gheorghita, L., Tuculina, M., Diaconu, O., Andrei, V., Moraru, I., & Bataiosu, M. (2011). Access Cavity- the First Step in a Successful Endodontic Treatment. *Current Health Sciences Journal*, 37, 1.
18. Giraldo, A. L. (15 de Mayo de 2011). *Ciencias Naturales*. Recuperado el 18 de Mayo de 2012, de BLOGGER: <http://albaluciagiraldotobon.blogspot.com.br>
19. Gomes, B. d., Vianna, M. E., Matsumoto, C. U., de Paula e Silva Rossi, V., Zaia, A. A., Randi Ferraz, C. C., y otros. (2005). Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 512-517.
20. Kayaoglu, G., Gurel, M., Omurlu, H., Gonca Bek, Z., & Sadik, B. (2009). Examination of gutta-percha cones for microbial contamination during chemical use. *J. Appl. Oral Sci.*, 17 (3), 1-4.
21. Lanzagorta Rebollo, M. d., Guzmán Aguilar, M., & Gutverg Rosenblum, D. S. (2006). Estudio Comparativo del Gluconato de Clorhexidina e Hipoclorito de Sodio una alternativa en la Desinfección de Conos de Gutapercha. *Endodoncia Actual*, 8-10.
22. Lanzagorta Rebollo, M., Guzmán Aguilar, M., & Gutverg Rosenblum, D. S. (2006). Estudio Comparativo del Gluconato de Clorhexidina e Hipoclorito de Sodio: una alternativa en la Desinfección de Conos de Gutapercha. *Endodoncia Actual*, 8-10.
23. Leonardo, M. R. (2005). *ENDODONCIA: Tratamiento de Conductos Radiculares- Principios Técnicos y Biológicos*. (Vol. 1). Sao Paulo: Artes Médicas Latinoamerica.
24. Macchi, R. L. (2007). *Materiales Dentales*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
25. MCD LAB. (s.f. de s.f. de s.f.). *MCD LAB*. Recuperado el 28 de Octubre de 2012, de Base Agar Sangre:  
<http://www.mcd.com.mx/pdfs/BASE%20DE%20AGAR%20SANGRE.pdf>
26. Montgomery, S. (1971). Chemical decontamination of gutta-percha cones with polyvinylpyrrolidone-iodine. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 31, 258-266.
27. Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2006). *Microbiología Médica*. Madrid: Elsevier Mosby .

28. Namazikhah, M., Sullivan, D., & Trnavsky, G. (200). Gutta-Percha: A Look at the Need for Sterilization. *Journal of the California Dental Association* , 427-432.
29. Olarte Alzamora, A. A. (2004). Microbiología Endodóntica. *DUAZARY Revista de la Facultad de Ciencias de Salud* , 39-44.
30. Ozalp, N., Okte, Z., & Ozcelik, B. (2006). The Rapid Sterilization of Gutta-Percha Cones with Sodium Hypochlorite and Glutaraldehyde. *Journal of Endodontics* , 32 (12), 1202-1204.
31. Palma Cárdenas, A., & Sánchez Aguilera, F. (2010). *Técnicas de Ayuda Odontológica y Estomatológica*. Madrid, España: Sanidad.
32. Pang, N.-S., Jung, I.-Y., & Bae, K.-S. (2007). Effects of Short-term Chemical Disinfection of Gutta-Percha Cones: Identification of Affected Microbes and Alterations in Surface Texture and Physical Properties. *Journal of Endodontics* , 33 (5), 594-597.
33. Pina-Vaz, I., Noites, R., Fontes de Carvalho, M., & Espinar, M. J. (2008). IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DIFFERENT ANTISEPTICS ON CONTAMINATED GUTTA-PERCHA CONES. *Revista de Clínica e pesquisa Odontológica* , 4 (3), 153-159.
34. Prakash, R., Gopikrishna, V., & Kandaswamy, D. (2005). Gutta-Percha- An Untold Story. *ENDODONTOLOGY* , 32-36.
35. Rao, R. (2011). *Endodoncia Avanzada*. Caracas: Amolca.
36. Ray H, T. M. (1995). Periapical status of endodontically treatment teeth in relation to the technical of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J* , 12-18.
37. Redmerski, R., Bulla, J. R., Moreno, T., Garcia, L. B., & Cardoso, C. L. (2007). Disinfection of gutta-percha cones with chlorhexidine. *Brazilian Journal of Microbiology* , 649-655.
38. Schilder, H. (1974). Cleaning and Shaping the Root Canal. 269-296.
39. Seabra Pereira, O. L., & Siqueira Jr, J. F. (2010). Contamination of gutta-percha and Resilon cones taken directly from the manufacturer. *Clin Oral Invest* , 327-330.
40. Senia, E. S., Marraro, R., Mitchell, J., Lewis, A., & Thomas, L. (1975). Rapid sterilization of gutta-percha cones with 5.25% sodium hypochlorite. *Journal of Endodontics* , 136-140.
41. Shnaydman, M. (2011). *Decontamination of Endodontic Gutta-percha: an In-vitro Study*. University of Connecticut. Connecticut: University of Connecticut Graduate School.
42. Silva, E. M., Sponchiado, E. C., & Franco Marques, A. A. (2010). Microbiological assessment of contamination of gutta-percha cones used by post-graduation students. *J Health Sci Inst* , 235-236.

43. Siqueira Jr, J. (2001). Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated can fail. *International Endodontic Journal* , 1-10.
44. Siqueira, J. (2003). Microbial causes of endodontic flare-ups. 453-463.
45. Soares, G. (2002). *Endodoncia, Técnica y fundamentos*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
46. Souza, R. E., Souza, E. A., Sousa-Neto, M. D., & Linhari Rodrigues Pietro, R. C. (2003). In vitro evaluation of different chemical agents for the decontamination of gutta-percha cones. *Pesquisa Odontológica Brasileira* , 17 (1), 75-78.
47. SPSS Análisis de Datos. (01 de Marzo de 2005). *Prueba Chi-Cuadrado*. Recuperado el 08 de Noviembre de 2012, de Universitat de Barcelona: [http://www.ub.edu/aplica\\_infor/spss/cap5-2.htm](http://www.ub.edu/aplica_infor/spss/cap5-2.htm)
48. Stuart, C., Schwartz, S., Beeson, T., & Owatz, C. (2006). Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of Endodontics* , 32 (2), 93-98.
49. Tartarotti, E., Goldschmidt, A. I., Motcy de Oliveira, E. P., Poli Kopper, P. M., & Faresin, R. (2004). Avaliação microbiológica de pontas de papel absorvente e cones de guta-percha. *Odontologia. Clín. Cientif., Recife* , 103-109.
50. Tobón C., D. (2003). *Manual Básico de Endodoncia*. Bogotá: Corporación para Investigaciones Biológicas.
51. Torabinejad M, K. D. (2005). Levels of evidence for the outcome of nonsurgical endodontic treatment. *Journals of Endodontics* , 637-646.
52. Torabinejad, M., & Walton, R. (2010). *Endodoncia Principios y Práctica*. Barcelona: Elsevier.
53. Zand, V., Salem-Milani, A., Shashi, S., Akhi, M. T., & Vazifekhah, S. (2012). Efficacy of different concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine in disinfection of contaminated Resilon cones. *Med Oral Patol Oral cir Bucal* , 352-355.