



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Cuantificación de *Enterococcus faecalis* en muestras periodontales de procesos endodónticos y su relación con algunas características del paciente.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

FRANCISCO MONROY HERNÁNDEZ

Director de tesis: C.D. Alejandro Múzquiz Shamoshs

Asesor de tesis: Dr. Rubén Marroquín Segura

Laboratorio 1, Primer piso, Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza, FES ZARAGOZA, UNAM.



MÉXICO, CDMX. MARZO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mis padres Francisco Monroy Cadena y Marcela Hernández Membrillo por brindarme siempre su apoyo, amor, tiempo, paciencia y esfuerzo hacia mí durante todos estos años, por demostrarme que todo se puede lograr si trabajas para conseguirlo, por educarme y enseñarme los valores que me formaron como persona, por ser mi ejemplo a seguir y motivación para seguir adelante y nunca darme por vencido, por su comprensión y tolerancia. Gracias por todos los sacrificios que hicieron para que yo pudiera llegar a este momento, más que un logro mío, este logro en gran medida es suyo y estaré siempre agradecido con ustedes por ayudarme a conseguir una meta más en la vida. Espero haber cumplido sus expectativas como hijo y como persona y puedan sentirse orgullosos de mí como yo lo estoy de que sean mis padres.

A mi hermana y hermanos que siempre me han brindado su apoyo, compañía y tiempo, gracias por todos los momentos, buenos y malos, que he vivido a su lado y por todo lo que aprendí de ustedes, los amo.

A mis amigos Jonathan, Adrián, Héctor, Cesar, Jonathan (Charly), Pedro, Ángel, Aristóteles, Thalia, Estela, Lupita, Dafne, Jovana, Lourdes y a todos aquellos que contribuyeron en mi formación, tanto en lo académico como personal, gracias por todos estos años de amistad, por todas las alegrías compartidas, los ánimos y el apoyo brindado, muchas gracias.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de pertenecer a ella, la máxima casa de estudios de México y por siempre brindarme todo lo necesario para forjarme como profesionalista.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por otorgarme un lugar dentro de su matrícula e instalaciones en las que me formé como Químico Farmacéutico Biólogo, donde adquirí un gran número de conocimientos y el compromiso de transformar lo aprendido en actos que contribuyan a la comunidad y que ayuden a mejorar a nuestro país, siempre será un privilegio haber sido universitario, pero sobre todo un gran orgullo haber pertenecido a esta Facultad.

A mi Director de tesis, el Cirujano Dentista Alejandro Múzquiz Shamoshs por brindarme su confianza, tiempo y apoyo para la realización de este proyecto, gracias por su disposición y por toda la ayuda que me brindo.

A mi Asesor de tesis, el Doctor Rubén Marroquín Segura por todos los conocimientos compartidos sin los cuales no hubiera sido posible realizar este trabajo, por todo el tiempo dedicado para la elaboración de mi tesis, por toda la confianza que me brindo durante mi estancia en el laboratorio, pero sobre todo, por la gran paciencia que me tuvo a lo largo de estos años, muchas gracias por todo, fue un gran honor haber sido su tesista.

Al Dr. José Luis Mora Guevara por su asesoría y conocimientos que tuve por parte de él durante la parte experimental y el análisis estadístico de este proyecto.

A mis sinodales, la Q.F.B. Beatriz Elena Arellano Pimentel y el Q.F.B. Manuel Orduña Sánchez por su tiempo invertido, por sus correcciones, observaciones y sugerencias, gracias por ayudarme a realizar un mejor trabajo.

A todos los que integran el Laboratorio 1, Primer piso de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza, el Dr. Rubén Marroquín Segura, el Dr. José Luis Mora Guevara, la Mtra. Yolanda Flores Cabrera y aquellos compañeros que compartieron tiempo y espacio conmigo; gracias por todo su apoyo y por hacer de mi estancia una experiencia inolvidable, ya que además de ser excelente docentes, pude darme cuenta de que lo son aún más como personas, de nueva cuenta ¡muchas gracias por todo!

"Las cosas no tienen que cambiar el mundo para ser importantes"

- Steve Jobs

"Intenta no volverte un hombre de éxito, sino volverte un hombre de valor"

- Albert Einstein

"Por más consejos que te den, hay lecciones que solo aprenderás a base de caídas y golpes"

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Agente infeccioso.....	3
2.2 Género <i>Enterococcus</i>	4
2.3 <i>Enterococcus faecalis</i>	6
2.4 La boca.....	15
2.5 Los dientes.....	17
2.6 Endodoncia.....	25
2.7 Medios de cultivo.....	32
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
4. HIPÓTESIS.....	35
5. OBJETIVOS.....	36
5.1 Objetivo general.....	36
5.2 Objetivos específicos.....	36
6. DISEÑO DE ESTUDIO.....	37
6.1 Tipo de estudio.....	37
6.2 Población de estudio.....	37
6.3 Variables.....	38
6.4 Criterios de inclusión.....	39
6.5 Criterios de exclusión.....	39
6.6 Criterios de eliminación.....	39
7. MATERIAL.....	40
8. MÉTODOS.....	42
8.1 Procedimiento para la toma de muestras de tratamientos endodónticos y características a evaluar del paciente.....	42
8.2 Preparación del medio de transporte para las muestras de conductos radiculares de tratamientos endodónticos.....	43
8.3 Protocolo para la cuantificación de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	45
8.4 Análisis estadístico.....	48
9. RESULTADOS.....	49

10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	59
11. CONCLUSIONES.....	67
12. PERSPECTIVAS	68
13. REFERENCIAS	69

1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Enterococcus* forman parte de la microbiota normal de la cavidad bucal y el tracto gastrointestinal, sin embargo han sido reconocidas como potenciales patógenos humanos causando el 40% al 70% de las infecciones nosocomiales como bacteriemias primarias y secundarias.

Enterococcus faecalis es una bacteria anaerobia facultativa gram positiva que tolera y se adapta a condiciones ambientales y nutricionales críticas, por lo cual se le puede encontrar en el suelo, alimentos, agua, plantas y animales. Presenta resistencia a los antibióticos betalactámicos, aminoglucosidos y clindamicina.

Puede causar infecciones urinarias complicadas, endocarditis infecciosa, infecciones intra-abdominales y pelvianas, infecciones de heridas y tejidos blandos, sepsis neonatal y en algunos casos meningitis.

En los últimos años *E. faecalis* ha sido el microorganismo patógeno más asociado a las infecciones endodónticas persistentes, ya que es capaz de tolerar los tratamientos de irrigación convencionales con NaOCl, gluconato de clorhexidina y el pH de la pasta de Ca(OH)_2 debido a que se desarrolla en pH alcalinos.

Probablemente este enterococo es el que mejor se adapta a las condiciones ecológicas existentes en los conductos radiculares obturados, debido a ciertas características microbiológicas como sus factores de virulencia y su capacidad de formar biofilm.

En este estudio se obtuvieron muestras de los conductos radiculares en pacientes de tratamiento endodóntico, de donde se aisló y cuantificó a *Enterococcus faecalis*. Posteriormente se realizó un análisis estadístico para determinar si su presencia está relacionada con algunas características de los pacientes: sexo, edad, pieza dental y posición del diente.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Agente infeccioso

Se le denomina a cualquier organismo (bacteria, hongo, protozoo, helminto), virus o prion que tiene la capacidad de producir una infección o enfermedad infecciosa. La Infectividad del agente expresa la habilidad de dicho organismo para entrar, sobrevivir y multiplicarse en el hospedero. La mayoría de ellos viven en forma libre, contienen todo lo necesario para el mantenimiento de su especie y son conocidos como microbios.

Para que una enfermedad se manifieste, el agente infeccioso necesita vencer las barreras naturales de los organismos, como lo es el sistema inmunológico. Su transmisión puede ser mediante diversas formas: respiratoria, salival, fecal-oral, sexual, placentaria o a través de los agentes etiológicos.^{1, 2}

Las bacterias comprenden el mayor número de especies patógenas para los seres humanos. Son organismos unicelulares y contienen DNA y RNA, pero no están diferenciadas en núcleo y citoplasma; se reproducen por fisión binaria. Existen unas pocas familias de bacterias que carecen de algunas estructuras necesarias para la replicación y deben interactuar con la célula del huésped para reproducirse.^{3, 4}

2.2 Género *Enterococcus*

El género *Enterococcus* fue descrito en la década de 1980 y en la actualidad se reconocen 32 especies incluyendo a los estreptococos del grupo D. Estos microorganismos son residentes normales del tubo digestivo, las vías biliares y en menor cantidad, de la vagina y la uretra.

Son cocos Gram positivos, agrupados en pares o cadenas cortas, anaerobios facultativos, catalasa negativa. Presentan crecimiento entre 10 °C y 45 °C en caldo con 6.5% NaCl a un pH de 9.6. Catabolizan carbohidratos, glicerol, lactato, malato, citrato, arginina, agmatina y α -ceto ácidos. Hidrolizan esculina en presencia de sales biliares al 40%. La mayoría de los *Enterococcus sp* hidrolizan L-pyrrolidonyl- β -naftilamida (PYR) y tienen antígeno del grupo D de Lancefield. Todas las cepas producen leucino-aminopeptidasa (LAP). Pueden presentar hemólisis de tipo α , β o γ en agar sangre, siendo esta última la más frecuente.^{1, 5}

Pueden ser aislados en una gran variedad de muestras clínicas; sin embargo, su rol como patógeno debe ser evaluado caso a caso. Este género bacteriano es intrínsecamente resistente a varios grupos de antibióticos (cefalosporinas, aminoglucósidos, clindamicina, cotrimoxazol, vancomicina) y tiene la capacidad de adquirir genes de resistencia a (ampicilina, cloranfenicol, eritromicina, tetraciclinas, quinolonas, glicopeptidos, nitrofurantoína).⁶

Enterococcus faecalis es la cepa más frecuente y está asociada con el 80-90% de las infecciones por enterococos en humanos, *Enterococcus faecium* se ubica como el segundo en frecuencia y se encuentra en 10 a 15% de las infecciones. Otras especies incluyen a *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. dispar*, *E. hirae*, *E. mundtii*, *E. cecorum*, *E. raffinosus*, y *E. malodoratus*; que se aíslan pocas veces en infecciones humanas. Las especies restantes se encuentran fundamentalmente en el tracto digestivo de distintos animales y pocas veces o nunca, se aíslan en infecciones humanas importantes.⁵⁻⁷

Actualmente las especies de este género se han convertido en patógenos importantes en infecciones nosocomiales, las más frecuentes son infecciones del tracto urinario, de heridas, bacteriemia y endocarditis. La mayoría de éstas son originadas por la microbiota endógena, aunque puede ser transmitida de persona a persona o por consumo de agua o alimentos contaminados, pueden colonizar el tracto respiratorio y la piel, y sobrevivir en superficies ambientales por períodos prolongados.^{8,9}

La aparición de *Enterococcus* resistentes a la vancomicina (ERV), descrito hace más de 20 años, se asocia a una mayor morbi-mortalidad y costos hospitalarios. El riesgo de diseminación se ha visto incrementado en pacientes hospitalizados por períodos prolongados, por el abuso de antibióticos de amplio espectro y el inadecuado control de infecciones.^{5,6}

2.3 *Enterococcus faecalis*

Taxonomía

Reino	<i>Bacteria</i>
División	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Enterococcaceae</i>
Especie	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tabla 1. Taxonomía de *E. faecalis*³

Características morfológicas

Enterococcus faecalis es un coco Gram positivo no formador de endoesporas. Se presentan en forma de pares o de cadenas cortas, son células esféricas u ovoides de tamaño que oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros que pueden aparecer como coco-bacilos cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de placas de agar o pueden aparecer ovoides o en cadenas cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de caldo de tioglicolato, sus colonias son de color rosa claro a marrón oscuro en agar sangre, no poseen motilidad.^{7, 8}

Características fisiológicas

Es una bacteria anaerobia facultativa, catalasa negativa, crece usualmente en un caldo de cultivo a 10 °C y 45 °C, aunque su crecimiento óptimo es a 35 °C. Todas las cepas pueden crecer a pH 9,6 en caldos que contengan NaCl al 6,5% y esculina hidrolizada en presencia de sales biliares al 40% (medio de bilis-esulina), sobreviven después del calentamiento a 60 °C durante 30 minutos.^{8,9}

Las cepas de este microorganismo son homofermentativas, fermenta un amplio rango de carbohidratos con producción principalmente de L (+)-ácido láctico, pero no de gas, con un pH final de 4,2-4,6. *E. faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteicoico glicerol intracelular asociado con la membrana citoplasmática. La pared celular está constituida por una gran cantidad de peptidoglicanos y ácido teicoico, no contienen enzimas citocrómicas.^{1,9}

Otras características importantes son su capacidad para sobrevivir y crecer en microambientes y medios con pH ácido y alcalino, en donde normalmente se inhibe el crecimiento y supervivencia de otros microorganismos. Puede subsistir un largo periodo con escasez de nutrientes, ha demostrado ser capaz de formar comunidades microbianas adheridas a superficies (biofilm).¹⁰

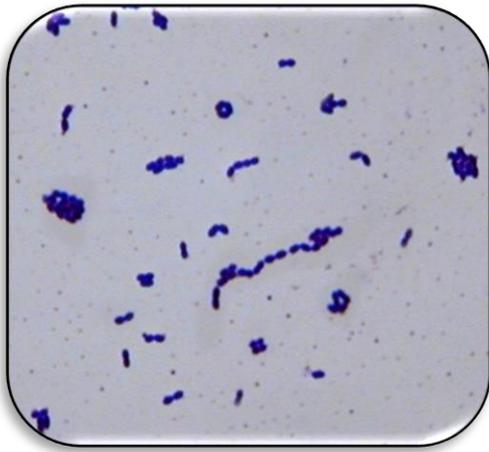


Figura 1. *E. faecalis*, tinción de Gram.¹



Figura 2. *E. faecalis*, agar sangre.¹

Patogenicidad y Virulencia

Además de la reconocida capacidad para adquirir resistencia a antibióticos, el género *enterococcus* desarrolla mediante intercambio de información genética a través de elementos genéticos móviles, características que aumentan su virulencia. Dentro de estas características podemos mencionar la adherencia a tejidos del huésped, la invasión y formación de abscesos, la modulación de la respuesta inflamatoria, la secreción de productos tóxicos y la síntesis de enzimas hidrolíticas.^{11, 12}

Los factores de virulencia desempeñan un papel específico dentro del crecimiento, desarrollo y supervivencia en medios ambientes hostiles y con poca cantidad de nutrientes y Oxígeno.¹³

Enterococcus faecalis posee un gran número de factores de virulencia que le permiten la colonización del hospedero y de la matriz extracelular, la competencia con otras bacterias, resistencia en contra de los mecanismos de defensa del huésped. En consecuencia se originan cuadros patológicos y daño tisular directamente a través de la producción de enzimas tóxicas o indirectamente a través de la inducción de inflamación.¹¹

Los más importantes presentes en *E. faecalis* son:

1. Sustancia de agregación

La sustancia de agregación es una adhesina bacteriana plásmido-codificada receptiva a las feromonas que media el contacto eficiente entre el donador y la bacteria receptora; ésta sustancia convierte la superficie de la bacteria donadora en una superficie adherente potencial para las células receptoras, causando agregación o agrupación y a su vez facilitando el intercambio de plásmidos.

Mientras que la sustancia de agregación es expresada por la célula donadora, el proceso de conjugación bacteriana requiere que la sustancia vinculante sea

expresada en la superficie de la célula receptora. En este sentido, tanto el material genético como la resistencia antibiótica pueden ser transferidos de las cepas de *E. faecalis* a otras especies.^{12, 13}

2. Adhesinas o proteínas de superficie

E. faecalis presenta en su pared celular proteínas de superficie, cada una cumpliendo una función específica. Las más importantes son la proteína de superficie celular ESP y la proteína de unión al colágeno ACE, ambas relacionadas con la formación de biopelículas y con la adherencia del microorganismo a las proteínas de la matriz extracelular, al colágeno tipo I y IV, a la laminina y dentina.^{13, 14}

3. Feromonas sexuales

Las feromonas sexuales son péptidos hidrofóbicos pequeños codificados cromosomalmente, a lo largo de 7 u 8 aminoácidos, los cuales promueven el intercambio conjugativo de plásmidos de ADN entre las cepas que se asocia con la transferencia de genes de resistencia antibiótica.¹³

4. Ácido lipoteicoico

Los ácidos lipoteicoicos son un grupo de moléculas o polímeros anfipáticos relacionados y asociados con la pared celular, que están constituidos por una columna central de poliglicerolfosfato unida covalentemente a una porción glucolipídica hidrofóbica. Estos ácidos son segregados para estimular la respuesta leucocitaria para la liberación de diversos mediadores químicos de la inflamación.¹¹

5. Superóxido extracelular

Los aniones superóxidos son radicales de Oxígeno altamente reactivos que ejercen un efecto destructivo sobre componentes biológicos, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Su producción causa daño tisular y celular en procesos patológicos e inflamatorios.¹³

6. Gelatinasa

La gelatinasa es una metaloproteinasa extracelular que contiene Zinc, presente en *E. faecalis*. Es capaz de hidrolizar a la gelatina, colágeno, fibrinógeno, caseína, hemoglobina, inulina, algunos péptidos relacionados con las feromonas sexuales y a ciertos péptidos bioactivos; los cuales modulan e inducen la llegada o ausencia de leucocitos en el tejido colonizado por los microorganismos.^{13,14}

7. Hialuronidasa

La hialuronidasa es un término general usado para describir enzimas que son capaces de descomponer el sustrato hialuronidato (ácido hialurónico o hialuronano). Son principalmente enzimas degradativas asociadas con daño tisular como consecuencia de su función.¹¹

Son consideradas como un facilitador de la proliferación bacteriana, así como de sus toxinas, a través de los tejidos del hospedero. Además de su propio efecto dañino, también permiten los efectos deletéreos de otras toxinas bacterianas, incrementando así la magnitud del daño.¹⁴

8. Citolisina (Hemolisina)

La hemolisina es una enzima tóxica codificada por plásmidos producida por las cepas α -hemolíticas de *E. faecalis*. Es capaz de destruir eritrocitos, neutrófilos polimorfonucleares y macrófagos, matar células bacterianas y reducir el proceso de la fagocitosis.^{15, 16}

Importancia clínica

Enterococcus faecalis es una bacteria comensal oportunista que forma parte de la microbiota normal de varias especies animales, incluyendo al ser humano. Se encuentra en el tracto gastrointestinal, tracto genitourinario, vías respiratorias superiores, cavidad oral, piel, vagina y uretra femenina.¹⁷

Diversos estudios epidemiológicos han reforzado la importancia de *E. faecalis* como agente etiológico de graves infecciones. Durante las últimas décadas se ha reportado que del 80% de las infecciones quirúrgicas adquiridas en unidades de cuidados intensivos y nosocomiales en E.U.A son provocadas por la presencia de *E. faecalis*, así mismo, es la casusa del 65 a 90% de las infecciones urinarias tratadas, es el tercer causante común de bacteriemia y endocarditis.^{18, 19}

La cavidad oral forma parte del reservorio natural de *Enterococcus faecalis*, por lo que suele encontrarse en la lengua, surcos gingivales y tonsilas del ser humano; se sugiere que estos sitios anatómicos facilitan la invasión de este microorganismo hacia los conductos radiculares. Se aísla tanto en infecciones endodónticas primarias como en secundarias o persistentes. En las infecciones primarias se encuentra entre 40% y su presencia se asocia más a periodontitis apicales crónicas asintomáticas que a periodontitis apicales agudas y abscesos periapicales.^{20, 21}

La presencia de *E. faecalis* en infecciones endodónticas secundarias es 9 veces mayor que en las primarias, y la prevalencia oscila entre 77%. Se ha sugerido que *E. faecalis* desempeña un papel importante en la etiología causante de fracasos endodónticos.²⁰⁻²²

Se ha comprobado su resistencia a la acción de las sustancias irrigantes convencionales como el NaOCl y gluconato de clorhexidina, es capaz de tolerar el pH de la pasta de Ca(OH)₂. Su permanencia en el conducto radicular está asociada a la capacidad de sobrevivir en ambientes hostiles y a la formación de biopelículas (biofilm) que se definen como una matriz de células microbianas adheridas e incrustadas en la superficie a través de una sustancia polimérica extracelular (EPS) autoproducida, que les confieren estabilidad mecánica, impiden el contacto directo con los agentes antimicrobianos y disminuyen la eficacia de estos.²³⁻²⁵

En la actualidad *Enterococcus faecalis* se considera un agente patológico persistente difícil de erradicar, debido a que posee particulares factores de virulencia y mecanismos intrínsecos de resistencia que presentan distintas cepas a diversos antibióticos como la vancomicina, clindamicina, amoxicilina, tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol y eritromicina.²⁷⁻²⁹

2.4 La boca

La boca, cavidad bucal o cavidad oral es la abertura por la cual se realiza la ingesta de alimentos, constituye en su mayor parte el aparato estomatognático, así como la primera parte del sistema digestivo y tubo digestivo.

La cavidad bucal está situada en la parte inferior de la cara, entre las fosas nasales y la región suprahióidea. Tiene forma de óvalo con diámetro mayor anteroposterior. Los arcos alveolodentarios dividen la boca en dos partes: una parte anterior y lateral, situada fuera de estos arcos, que es el vestíbulo de la boca y otra parte situada hacia dentro de estos arcos que es la boca propiamente dicha. Desempeña funciones importantes en diversas actividades como el lenguaje y en expresiones faciales.³⁰

Partes de la cavidad bucal

1. Pared anterior: Está formada por los labios.
2. Paredes laterales: Están formadas por las mejillas.
3. Pared inferior: Formada en su mayor parte por la lengua y por debajo de ésta una región llamada suelo de la boca.
4. Pared superior: Formada por la bóveda palatina o paladar.

5. Pared posterior: Es realmente un orificio irregular llamado istmo de las fauces que comunica la boca con la faringe. Los anexos de la boca son los dientes, las encías y las amígdalas.³¹

En la boca se pueden distinguir tres tipos de mucosa

- De revestimiento: Presenta submucosa.
- Masticatoria: Con probable ausencia de submucosa, queratinizada o paraqueratinizada y en contacto directo con el tejido óseo.
- Especializada: Se presenta en ciertas regiones de la lengua. Se refiere a la mucosa relacionada con los receptores de gusto.³¹

Funciones de la boca

- Masticar: Gracias a los movimientos de la mandíbula y a la presión de los dientes se produce este tratamiento mecánico que tritura y degrada los alimentos.
- Salivar: Debido a la desembocadura de los conductos de las glándulas salivales, se produce el primer jugo digestivo (amilasa salivar).
- Sentido del gusto: En la boca se encuentran los receptores sensoriales del gusto, sobre todo en la lengua, llamadas papilas gustativas.

- Habla: En la boca se encuentran gran parte de las estructuras que modifican el sonido laríngeo y producen la voz articulada gracias a sus cavidades especiales.³⁰

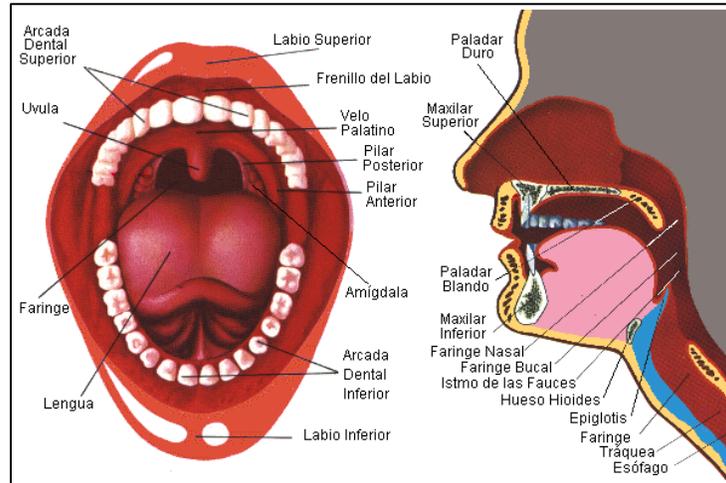


Figura 3. Anatomía de la boca.³⁰

2.5 Los dientes

Son órganos anatómicos duros, enclavados en los alvéolos de los huesos maxilares a través de un tipo especial de articulación denominada gonfosis. Los dientes y sus estructuras de soporte son necesarios para la trituración de los alimentos, el habla y la expresión facial. Están compuestos principalmente por: Ca (33.6-39.4 %), P (16.1-18%), CO_3^{2-} (1.95-3.66%), Na (0.25-0.90%), Mg (0.25-0.52%), Cl (0.10-0.30%) en promedio de peso, así como de F y Zn en no más de 5000 ppm.³²

El diente se divide en tres partes

1. Corona. Es la porción visible que se extiende por encima de la encía y está recubierta por el esmalte, región expuesta al medio bucal permanentemente.
2. Cuello. Llamado zona cervical de transición entre el esmalte y el cemento radicular.
3. Raíz. Sección no visible recubierta por cemento y anclada en el alveolo por fibras de tejido conectivo que constituyen el ligamento periodontal.³²

Estructura

Se compone por cuatro tejidos distintos:

- Esmalte: es el tejido de más alta dureza del cuerpo humano, está formado por pequeñas columnas con forma de prismas que se disponen radialmente y se mantienen unidos por una matriz calcificada, se encuentra recubriendo la corona, es acelular, por lo que no puede regenerarse.
- Dentina: es producida por los odontoblastos, es el tejido más abundante del diente que se extiende tanto a la corona, bajo el esmalte, como a la raíz y bajo el cemento. Su grosor varía en el tiempo debido a que es sintetizada constantemente, en especial frente a noxas, es la responsable del color de los dientes.

- **Cemento:** es una sustancia ósea, formada por una trama pobre en células y por fibras de colágena que lo unen a la dentina y a la pared del alveolo, a la cual se anclan las fibras del ligamento periodontal (fibras de Sharpey).
- **Pulpa:** tejido conectivo laxo con vasos sanguíneos y fibras nerviosas mielínicas y amielínicas. Los nuevos odontoblastos que se forman a partir del tejido conectivo de la pulpa son los responsables de la formación de la dentina secundaria en épocas posteriores de la vida. La estrecha relación anatómico-funcional entre la pulpa y dentina crea un complejo pulpodentinario.^{33,34}

Estructuras de sostén de los dientes

Periodonto: Unidad biofuncional que compone el sistema estomatognático, es parte vital del diente directamente relacionada con una correcta salud dental, además cumple con una función sensitiva al captar el estímulo de presión que afecta al diente al presionar.

El periodonto es el conjunto de tejidos que rodea y soporta los dientes, ésta formado por la encía, el ligamento periodontal y el hueso alveolar. La encía forma parte del periodonto de protección. El ligamento periodontal, el cemento radicular y el hueso alveolar integran el periodonto de inserción. Además de proporcionar la

inserción del diente al alveolo, los tejidos periodontales soportan las fuerzas generadas por la masticación, la fonación y la deglución.³²

Componentes del periodonto:

- Encía: es la parte de la mucosa bucal que recubre las apófisis óseas alveolares y rodea la porción cervical de los dientes.
- Ligamento periodontal: Es la estructura del tejido conectivo situado entre el cemento y la lámina dura alveolar.
- Cemento radicular: se trata de un tejido conectivo que recubre las superficies radiculares.
- Hueso alveolar: es la cavidad ósea en la que se aloja y sostiene al diente.^{31,32}

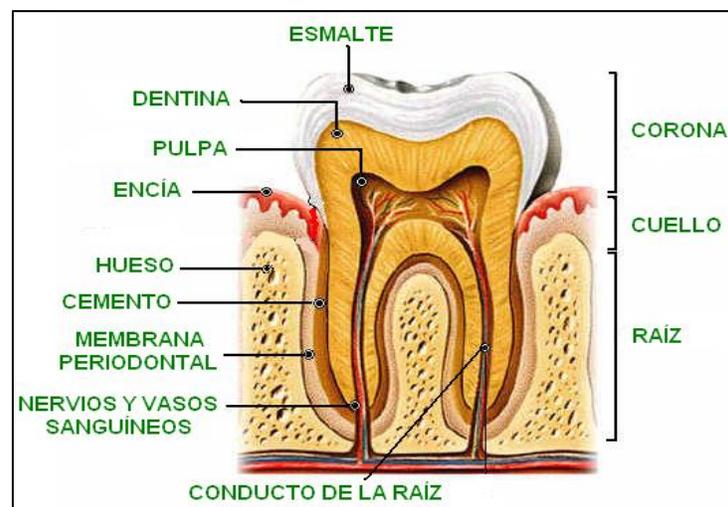


Figura 4. Estructura del diente.³¹

Clasificación de los dientes

La dentadura está formada por dos grupos de dientes, anteriores y posteriores, los cuales están divididos cada uno en dos subgrupos:

Grupo anterior

Incisivos: Son los ocho dientes que tenemos en la parte delantera y central de la boca y son cuatro en la parte superior y cuatro en la parte inferior, tienen forma de pala o cuña, con un borde cortante. Los incisivos suelen ser los primeros dientes que salen alrededor de los 6 meses de edad con los dientes de leche, y entre los 6 y 8 años de edad para los dientes adultos. Su función es la de cortar los alimentos.

Caninos: Comúnmente se les llama colmillos, se ubican a los costados de los dientes incisivos, son cuatro (dos superiores y dos inferiores), tienen una forma rectangular plana puntiaguda. Los caninos de leche aparecen generalmente entre los 16 y los 20 meses de edad desarrollándose antes los caninos superiores que los inferiores. En la dentición definitiva el orden se invierte, los inferiores aparecen alrededor de los 9 años y los superiores entre los 11 y los 12 años de edad. Su función es la de desgarrar los alimentos.³⁰⁻³³

Grupo posterior

Premolares: Presentan 2 o 3 cúspides por lo que se les denomina bicúspides, hay cuatro premolares a cada lado de la boca, dos en la parte superior y dos en la mandíbula inferior. Los primeros premolares aparecen alrededor de los 10 años y los segundos un año después aproximadamente. Se utilizan para masticar y triturar los alimentos.

Molares: Están ubicados tres en cada lado, tanto en la parte inferior como en la superior, sumando un total de 12 piezas, presentan forma de cumbres anchas. Los primeros molares se desarrollan alrededor de los 6 años (antes de que los molares de leche se caigan) mientras que los segundos molares aparecen entre los 11 y los 13 años de edad; los terceros molares se desarrollan a partir de los 18-20 años. Su función es la de moler, triturar y formar el bolo alimenticio.³⁰⁻³³

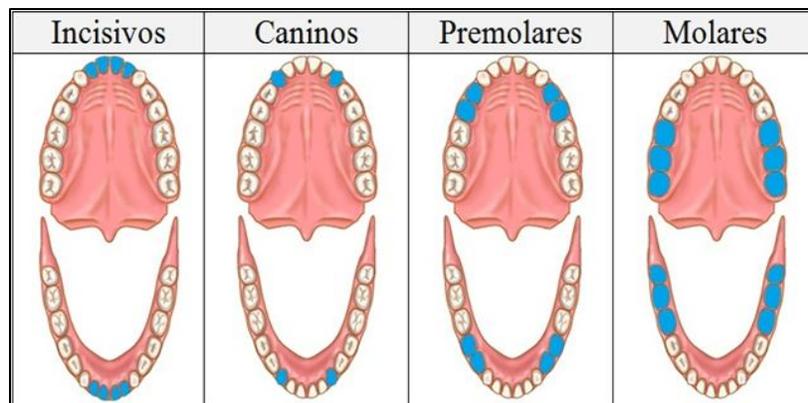


Figura 5. Grupos dentarios³²

Arcadas dentarias

La arcada dentaria o arco dental es el conjunto de dientes situados en sus correspondientes alveolos en el seno de un mismo maxilar. Se compone de dos arcadas: la arcada superior o maxilar y la arcada inferior o mandibular, cada una de las arcadas se divide en dos hemiarcadas correspondientes a los cuadrantes superior derecho, superior izquierdo, inferior derecho, inferior izquierdo.³⁰

Existen nomenclaturas dentales que se utilizan para identificar de una forma simple y concreta cada diente, tanto temporal como permanente; así como para facilitar la escritura y la elaboración de las historias clínicas de los pacientes. Un odontograma es un esquema gráfico donde aparecen las piezas dentales de un paciente.³²

La Nomenclatura de la Federación Dental Internacional (FDI) es la más utilizada en dentición permanente. Esta divide las arcadas dentarias en cuatro cuadrantes siguiendo la línea interincisal y cada uno de consta de un determinado número de dientes partiendo del incisivo central hacia distal, así entonces, el primer dígito identifica al cuadrante y el segundo al diente.³²

2.6 Endodoncia

La endodoncia puede definirse como la parte de la odontología que engloba el conjunto de técnicas quirúrgicas para la prevención y el tratamiento de las enfermedades pulpaes reversibles e irreversibles, con complicaciones periapicales o sin ellas, con el fin de permitir la conservación del órgano dental.³⁴

Objetivos fundamentales

1. Prevenir la afección de los tejidos pulpaes, siempre que sea posible.
2. Proceder a la exéresis de la pulpa cuando exista una afectación patológica irreversible.
3. Lograr un aislamiento biológico entre la parte tratada y la no tratada (obturación)³⁴⁻³⁶



Figura 8. Esquema general de la endodoncia.³⁴

Causa de la enfermedad pulpar

Las causas de la enfermedad pulpar pueden ser de origen: físico, químico y bacteriano.

a) Físico

- Mecánico: Trauma, procedimientos dentales iatrogénicos (acuñamiento de los dientes, preparación de la cavidad o corona).
- Desgaste patológico (atrición, abrasión, etc.).
- Fisuras a través del cuerpo del diente (síndrome del diente fisurado).
- Cambios barométricos (barodontalgia).
- Térmico: Calor producido por la preparación de la cavidad, a baja o alta velocidad, calor exotérmico del fraguado del cemento, calor friccional causado por el pulido de una restauración.

b) Químico

- Ácido fosfórico, monómero de acrílico, etc.
- Erosión (ácidos).

c) Bacteriano

- Toxinas asociadas a caries.
- Invasión directa de la pulpa por caries o trauma.
- Colonización microbiana en la pulpa por los microorganismos transportados por la sangre (anacoresis).^{37, 38}

Vías de la infección pulpar

La caries dental representa la vía más frecuente para la entrada de agentes infecciosos en el conducto radicular. Cuando el diente está intacto, el esmalte y la dentina protegen de su invasión en el espacio de la pulpa. Conforme la caries se aproxima a la pulpa, se deposita dentina reparadora para evitar la exposición, pero este tipo de dentina rara vez es capaz de prevenir la entrada de bacterias en la excavación producida por la caries.³⁷

El tamaño de los túbulos dentinarios oscilan entre 1 y 4 μm , mientras que la mayoría de las bacterias tienen un diámetro inferior a 1 μm . Cuando falta el cemento o después de un traumatismo, los túbulos dentinarios pueden convertirse en la vía para que se produzca la invasión microbiana del espacio pulpar. El movimiento bacteriano es restringido por las prolongaciones odontoblásticas, los cristales mineralizados y las macromoléculas, incluyendo las inmunoglobulinas presentes en los túbulos. Las bacterias y sus productos colaterales pueden atacar la pulpa antes de producirse una exposición directa, si se elimina la caries a tiempo, la pulpa puede llegar a cicatrizar.³⁷

Todavía se discute si la enfermedad periodontal es la causa directa de la enfermedad pulpar. Los agentes infecciosos y sus productos colaterales pueden alcanzar el espacio de la pulpa, a través de puertas de entrada en el ápice de una raíz, y a través de otros conductos laterales, accesorios o furcales.³⁸

Microorganismos asociados con la enfermedad endodóntica

Las infecciones endodónticas suelen ser polimicrobianas, los microorganismos cultivados y aislados con mayor frecuencia en muestras son *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Prevotella intermedia*, *Eubacterium alactolyticum*, *Lactobacillus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Actinomyces sp.*, *Campylobacter sp.*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus minutus* y *Enterococcus faecalis*. Sin embargo, no se ha establecido ninguna relación absoluta entre cualquier especie de bacterias y la gravedad de las infecciones endodónticas.^{37, 39-40}

Los criterios utilizados para establecer la etiología microbiana son los postulados de Sokransky, que determinan las características que debe reunir un microorganismo para ser considerado un patógeno potencial asociado con las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal.

1. El microorganismo debe estar presente en una porción elevada en sitios activos de la enfermedad.
2. La eliminación del microorganismo se asocia con la remisión de la enfermedad.
3. Los microorganismos poseen factores de virulencia, para iniciar y agravar la enfermedad.
4. La respuesta inmune celular o humoral debe ser indicativa de la enfermedad.

5. La implantación experimental del microorganismo dentro del surco gingival de un animal de experimentación debe inducir la enfermedad, inflamación, daño en el tejido conectivo y pérdida ósea.^{40, 42}

Tratamiento farmacológico

El tratamiento farmacológico de los procedimientos endodónticos tiene como finalidad controlar el dolor y la infección. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos AINES son los fármacos de elección debido a que actúan como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, esto se atribuye a su capacidad de inhibir con mayor o menor potencia la sintetasa de prostaglandinas (COX-1) y a la sintetasa de tromboxanos (COX-2).³⁷

El uso prudente de antibióticos para tratar las infecciones endodónticas es una parte integral del tratamiento apropiado. En general, los antibióticos se deben administrar hasta 2 ó 3 días después de la resolución de los síntomas y signos clínicos principales. La pauta típica para tratar las infecciones endodónticas dura 6-10 días, con administración a horas fijas. La mejoría debe comenzar a las 24-48 horas de iniciar el tratamiento antibiótico. Se prefiere emplear dosis elevadas durante poco tiempo, en vez de dosis menores durante periodos más largos.

Los antibióticos más prescritos en los procedimientos endodónticos son:

- Penicilina VK: Tiene un espectro de actividad antimicrobiana relativamente estrecho. Sigue siendo el antibiótico de elección para tratar las infecciones endodónticas, debido a su eficacia y toxicidad baja. Sin embargo, todas las penicilinas conllevan un riesgo de alergia alrededor del 10%. Se comienza con una dosis de ataque oral de 1000 mg, seguida por 500 mg cada 6 horas durante 6-10 días. En las infecciones graves se puede administrar una dosis cada 4 horas para mantener una concentración sérica regular.

- Amoxicilina: Tiene un espectro de actividad más amplio que la penicilina VK, que incluye bacterias no aisladas habitualmente en las infecciones endodónticas, además se absorbe con mayor rapidez y proporciona una concentración sérica más alta y mantenida. Se comienza con una dosis de ataque oral de 1000 mg de amoxicilina, seguida de 500 mg cada 8 horas durante 6-10 días. Recientemente se ha demostrado la mejor eficacia de la combinación de amoxicilina con clavulanato frente a las bacterias aisladas de infecciones bucales, y está indicada para el tratamiento de las infecciones endodónticas graves, especialmente en pacientes inmunodeprimidos.

- Claritromicina y acitromicina: Son más estables que la eritromicina en el medio gástrico, cuando se administran con alimentos disminuye su biodisponibilidad, se recomienda tomarlas 1 hora antes o 2 horas después de los alimentos. La Claritromicina se administra a dosis de 250-500 mg cada 12 horas durante 6-10 días. La acitromicina con una dosis oral de 500 mg el primer día, seguida por 250 mg diarios durante el mismo periodo.

- Clindamicina: Se recomienda para los pacientes con infecciones graves, alérgicos a la penicilina. Es efectiva contra los anaerobios tanto facultativos como estrictos. La clindamicina se distribuye por todo el cuerpo y se concentra en el hueso. Se emplea dosis de ataque oral de 300 mg, seguida por 150 a 300 mg cada 6 horas durante 6-10 días.³⁷⁻⁴⁰

Diente vital y no vital

Diente vital: Se definen como los dientes sanos que poseen su estructura interna intacta (pulpa dentaria), conformada por células, vasos sanguíneos y fibras nerviosas.

Diente no vital: Son los dientes que han recibido tratamiento de conductos radiculares (eliminación completa de la pulpa con daño irreversible seguida por una limpieza y obturación).^{34, 41}

2.7 Medios de cultivo

Medio líquido tioglicolato

Medio de cultivo utilizado en microbiología clínica e industrial para el desarrollo, enriquecimiento, aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios, así como para ensayos de control de esterilidad de diversos productos biológicos.

Fundamento

La peptona de caseína, la dextrosa y el extracto de levadura proporcionan aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas para favorecer el crecimiento bacteriano. El cloruro de Sodio aporta iones esenciales, el tioglicolato de Sodio y la L-cistina son agentes reductores que previenen la acumulación de peróxidos, que son letales para algunos microorganismos. La resazurina es un indicador de oxidación-reducción: presenta un color rosa con la muestra oxidada y es incolora cuando está reducida. El bajo contenido de agar le otorga la propiedad de ser un medio fluido y retarda la dispersión de CO₂ y O₂. Debido a todas estas características se desarrollan microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y estrictos.^{43, 44}

Peptona de caseína	15.0 g
L-Cistina	0.5 g
Dextrosa anhidra	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Cloruro de sodio	2.5 g
Tioglicolato de sodio	0.5 g
Resarzurina	0.001g
Agar	0.750 g

Tabla 2. Bioxon. Medio líquido de tioglicolato. Fórmula aproximada por 1000mL de agua purificada. pH final 7.1 +/- 0.2.

Agar m-Enterococcus

Medio de cultivo sólido también llamado agar m-azida, se utiliza para el aislamiento selectivo y la enumeración de *enterococos* mediante recubrimiento directo o por filtración de membrana en muestras de agua, patológicas, alimentos.

Fundamento

El hidrolizado de triptosa y soya proporcionan compuestos nitrogenados, minerales, aminoácidos y péptidos necesarios para el crecimiento bacteriano. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas del complejo B, esenciales para el metabolismo bacteriano. La dextrosa es una fuente de Carbono; el fosfato dipotásico actúa como buffer. El cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) es un colorante que sirve como indicador de crecimiento bacteriano, este se reduce a formazan insoluble dentro de la célula bacteriana, lo que resulta en la producción de colonias de color rosa a rojas; el agar se utiliza como agente solidificante. La selectividad del medio se debe a la presencia de azida de Sodio, que inhibe el crecimiento de bacterias gramnegativas al tiempo que permite a las gram positivas como los enterococos crecer.^{45, 46}

Triptosa	20 g
Extracto de levadura	5 g
Dextrosa anhidra	2 g
Fosfato dipotásico	4 g
2,3,5 cloruro de trifeniltetrazolio	0.1 g
Azida de Sodio	0.4 g
Agar	10 g

Tabla 3. BD Difco. Agar m-*Enterococcus*. Fórmula aproximada por 1000mL de agua purificada. pH final 7.2 +/- 0.2.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El factor principal asociado con los fracasos en el tratamiento endodóntico es la persistencia de la infección microbiana en los conductos radiculares. Los microorganismos implicados pueden haber sobrevivido a los efectos de la aplicación de los procedimientos biomecánicos y de limpieza que se realizan durante el tratamiento, así mismo, pueden haber invadido los conductos como consecuencia de las filtraciones que se suscitan en los dientes con tratamientos de conducto obturados.

Los enterococos son bacterias que forman parte de la microbiota normal de la cavidad bucal y del tracto gastrointestinal, sin embargo, desde hace años diferentes estudios han reportado que los microorganismos presentes en los dientes con fallas en el tratamiento endodóntico se relacionan a los encontrados normalmente en los conductos de dientes no tratados, siendo *Enterococcus faecalis* la especie que se aísla con mayor frecuencia.

Debido a su naturaleza, factores de virulencia y capacidad de formar biofilms, probablemente *Enterococcus faecalis* sea el agente infeccioso que mejor se adapta a las condiciones fisiológicas existentes en los conductos radiculares, por lo cual es importante conocer si su presencia se asocia con ciertas características anátomo-bucales, de género y edad de los pacientes.

4. HIPÓTESIS

Considerando los datos clínicos proporcionados de la pieza dental dañada, se espera encontrar mayor concentración de *Enterococcus faecalis* en aquellas muestras que presenten algún tratamiento previo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la presencia de *Enterococcus faecalis* en muestras obtenidas de procesos endodónticos y su relación con los datos clínicos del paciente.

5.2 Objetivos específicos

- Recolectar muestras de procesos endodónticos para su análisis en condiciones de esterilidad para evitar su contaminación.
- Recolectar los datos clínicos a evaluar de los pacientes.
- Realizar la cuantificación de UFC de *Enterococcus faecalis* en un medio de cultivo selectivo mediante la técnica de vaciado en placa.
- Determinar si existe relación entre el número de UFC de *Enterococcus faecalis* y las características a evaluar del paciente.

6. DISEÑO DE ESTUDIO

6.1 Tipo de estudio

Observacional, descriptivo, transversal

6.2 Población de estudio

Se tomaron muestras del interior de los conductos radiculares a 60 pacientes de un consultorio dental particular de la Ciudad de México.

6.3 Variables

Variable	Tipo de variable	Definición	Nivel de medición	Categoría
Sexo	Independiente	Es el sexo con el que se nace en base a los órganos sexuales	Cualitativa Nominal	Masculino Femenino
Edad	Independiente	Número de años cumplidos desde el nacimiento	Cualitativa Nominal	Años cumplidos al momento del tratamiento
Posición del diente	Independiente	Es la posición del diente respecto a las arcadas dentarias	Cualitativa Nominal	Cuadrantes: Sup. derecho Sup. izquierdo Inf. Derecho Inf. izquierdo
Pieza dental	Independiente	Se define como diente sano intacto (vital) y diente con tratamiento de conductos radiculares (no vital)	Cualitativa Nominal	Vital No vital
<i>E. faecalis</i>	Dependiente	Bacteria gram positiva que habita en el tracto gastrointestinal y cavidad bucal	Cualitativa Nominal	UFC: 0-1 2-100 101-500 501-1000 1001-2000 2001-5000 Incontables

6.4 Criterios de inclusión

Pacientes de ambos sexos que acudieron al consultorio dental particular de la Ciudad de México a recibir tratamiento endodóntico.

6.5 Criterios de exclusión

- Pacientes con dentición temporal.
- Pacientes que no dieron su consentimiento para la toma de las muestras del estudio.

6.6 Criterios de eliminación

- Muestras contaminadas durante el traslado del consultorio dental particular al laboratorio 1 primer piso de la UMIEZ.
- Muestras que no hayan sido sembradas en medio sólido agar *m-Enterococcus* el mismo día en que fueron tomadas y trasladadas del consultorio dental particular al laboratorio 1 primer piso de la UMIEZ.
- Muestras contaminadas durante la técnica de vaciado en placa en el medio sólido agar *m-Enterococcus*.

7. MATERIAL

➤ Material biológico

- Muestras de conductos radiculares de pacientes con tratamientos endodónticos.

➤ Reactivos

- Agua destilada (Pisa)
- Medio de cultivo líquido caldo tioglicolato (Bioxon)
- Medio de cultivo sólido m-*Enterococcus* agar (Difco)

➤ Material

- Algodón (DIBAR)
- Cajas de Petri (Pyrex)
- Cubrebocas plisados (Ambiderm)
- Espátula de acero inoxidable (RYE)
- Gasa (DIBAR)
- Gradilla (Brand)
- Guantes estériles (Ambiderm)
- Hielera de poliestireno
- Malla metálica
- Matraz Erlenmeyer 50 mL (Kimax)

- Matraz Erlenmeyer 250 mL (Kimax)
- Mechero Fisher
- Papel aluminio (Reynolds)
- Papel Glassine
- Pipeta volumétrica 0.5 mL (Pyrex)
- Pipeta volumétrica 20 mL (Pirex)
- Probeta graduada 100 mL (Pyrex)
- Puntas de papel estériles (meta biomed)
- Puntas estériles 10-100 μ L (Brand)
- Tripie
- Tubos 1 mL estériles (Eppendorf)
- Tubos de vidrio de rosca con tapón de baquelita 16x150 mm (Pyrex)

➤ **Equipo**

- Agitador Vortex (Scientific Industries, Inc.)
- Autoclave
- Balanza analítica (ae ADAM)
- Balanza granataria (Ohaus)
- Baño metabólico (PRECISION)
- Incubadora (Shel Lab)
- Refrigerador (Mabe)
- Transiluminador (UVP)

➤ **Instrumentos**

- Micropipeta de 100-1000 μL (Labsystems)
- Micropipeta de 40-200 μL (Labsystems)
- Pipeta automática (Jencons)

8. MÉTODOS

8.1 Procedimiento para la toma de muestras de tratamientos endodónticos y características a evaluar del paciente.

1. Se acudió al consultorio dental particular de la Ciudad de México, se realizó una breve explicación acerca de la investigación a los pacientes, se les entregó un consentimiento informado y se registraron los datos en una ficha diseñada para el trabajo, hecho esto, se procedió a la toma de muestra.
2. Se tomaron 60 muestras de conductos radiculares en proceso de tratamiento endodóntico, se utilizaron paquetes básicos de protección estériles. La muestra se obtuvo introduciendo puntas de papel meta biomed estéril en los conductos radiculares del diente tratado durante el lapso de un minuto, posteriormente se depositaron en los tubos Eppendorf con 0.5 mL de medio líquido caldo de tioglicolato que se usó como medio de transporte. Los tubos se colocaron en una hielera para ser trasladados inmediatamente al laboratorio 1 primer piso de la UMIEZ de la FES Zaragoza.

3. Una vez que se llegó al laboratorio, se guardaron las muestras en el refrigerador y se procedió a preparar el medio de cultivo seleccionado para el desarrollo selectivo de *Enterococcus faecalis*. Los datos del paciente se registraron en una base de datos.

8.2 Preparación del medio de transporte para las muestras de conductos radiculares de tratamientos endodónticos.

Se utilizaron un total de 120 tubos Eppendorf con 0.5 mL cada uno de medio de cultivo líquido caldo de tioglicolato, no todos a la vez. Se prepararon 5 tubos con 2 días de anterioridad a la toma de cada muestra de la forma siguiente:

1. Se realizaron los cálculos siguiendo las especificaciones del proveedor para preparar medio suficiente para adicionar 0.5 mL de caldo a 5 tubos más un excedente para otros 5 tubos que se utilizaron como respaldo, por si alguno se dañaba durante el proceso de esterilización.

- Cálculo para preparar 10 mL de Bioxon, medio líquido tioglicolato:

29.5 g de medio en polvo – 1000 mL de agua destilada

X= 0.295 de medio en polvo – 10 mL de agua destilada

2. Se pesaron 0.295 gramos del medio sobre papel Glassien en una balanza analítica. Se midieron 10 mL de agua destilada en una probeta graduada y se vertieron dentro de un matraz Erlenmeyer de 50 mL.

3. Se adicionó el medio en polvo al matraz Erlenmeyer y se agitó suavemente hasta disolver, el matraz se tapó con una torunda hecha de algodón y gasa. Con la ayuda de un mechero Fisher, tripie y malla de acero; se llevó a ebullición la mezcla durante 2 minutos aproximadamente, agitando frecuentemente para evitar que el medio se proyecte hacia el exterior del matraz.

4. Una vez que la mezcla se torna transparente, se retiró del fuego del mechero. Posteriormente utilizando una pipeta volumétrica de 0.5 mL se adicionó el medio a cada uno de los 10 tubos Eppendorf.

5. Se taparon los tubos y se colocaron en una gradilla de metal, se colocaron en la autoclave y se esterilizaron a una presión de 15 libras y 121°C de temperatura durante 15 minutos. Al terminar el proceso de esterilización se enfriaron los tubos a temperatura ambiente, se cubrieron con papel aluminio y se guardaron en el refrigerador. Por último, se colocaron dentro de una hielera para transportarse a la toma de las muestras endodónticas.

8.3 Protocolo para la cuantificación de colonias de *Enterococcus faecalis*.

Teniendo las muestras de tratamientos endodónticos en el laboratorio, se procedió a preparar el medio de cultivo sólido para el desarrollo selectivo de *E. faecalis*.

- **Preparación del medio de cultivo**

Se utilizaron un total de 240 cajas Petri con un promedio de 20 mL de medio cada una, no todas a la vez. Se prepararon 4 cajas por muestra por si ocurría algún imprevisto durante el procedimiento.

1. Se realizaron los cálculos siguiendo las especificaciones del proveedor para preparar medio suficiente para adicionar 20 mL a 4 cajas Petri.

Cálculo para preparar 80 mL de BD Difco. Agar medio sólido m-*Enterococcus*.

42.0 g de medio en polvo – 1000 mL de agua destilada

X= 3.36 g de medio en polvo – 80 mL de agua destilada

2. Se pesaron 3.36 gramos del medio sobre papel Glassien en una balanza analítica. Se midieron 80 mL de agua destilada en una probeta graduada y se vertieron dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 mL.

3. Se adicionó el medio en polvo al matraz Erlenmeyer y se agitó suavemente hasta disolver, el matraz se tapó con una torunda hecha de algodón y gasa. La mezcla se llevó a ebullición durante 2 minutos aproximadamente con un sistema de mechero Fisher, tripie y malla de acero, agitando frecuentemente para evitar que el medio se proyecte hacia el exterior del matraz.

4. Una vez que la mezcla se torna transparente, el matraz se retiró del fuego del mechero. Posteriormente empleando una pipeta volumétrica de 20 mL se dispense el medio dentro de cada tubo de vidrio de rosca con tapón de baquelita y se taparon. De acuerdo a las especificaciones del proveedor, sí el medio se va a usar inmediatamente no es necesaria la esterilización en autoclave.

- **Técnica de vaciado en placa**

1. Una vez preparados los tubos con el medio de cultivo, se colocaron aun calientes en un baño metabólico a una temperatura de 45 °C, con la finalidad de poder adicionar las muestras antes del que medio solidifique, ya que a 42°C el agar solidifica y para evitar la muerte de la bacteria en caso de estar presente en la muestra al inocularla debido a la alta temperatura del medio.

2. Cuando los tubos alcanzaron la misma temperatura del baño metabólico, se procedió a inocular las muestras endodónticas presentes en los tubos Eppendorf provistos de caldo de tioglicolato.

3. Las muestras se colocaron dentro de la campana de extracción y se destaparon cerca del mechero, se utilizó una micropipeta de 100 μ L con puntas estériles para adicionar 50 μ L de la muestra dentro de los tubos con el medio, flameando en cada manipulación la tapa y la boca del tubo para evitar contaminación.

4. Se agitaron los tubos perfectamente en un vortex y enseguida se hizo el vaciado a una caja Petri estéril, evitando la formación de burbujas. Se dejó enfriar las cajas a temperatura ambiente.

5. Las cajas se incubaron a 37°C por un periodo de 48 horas.

6. Pasado el tiempo de incubación, se examinó el crecimiento y se cuantificó las UFC de *Enterococcus faecalis*, los resultados se reportaron en la base de datos.

8.4 Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó con el programa SPSS para ambiente de Windows V.21. Se utilizó χ^2 de Pearson para determinar la asociación de las características del paciente con la concentración de UFC/mL de *Enterococcus faecalis* presentes en las muestras, se consideró un nivel de significancia del 95%. Se calculó estadística descriptiva: frecuencias y porcentajes.

9. RESULTADOS

Se tomaron muestras de conductos radiculares a 60 pacientes en tratamiento endodóntico para el estudio, así como los datos de sexo, edad, estado de la pieza dental y número de diente. Se obtuvieron los siguientes resultados:

En la gráfica 1 se muestra el porcentaje de la frecuencia de pacientes masculinos y femeninos que conformaron la población de estudio. No se observa una tendencia marcada entre ambos sexos.

En la gráfica 2 se muestra el porcentaje de la frecuencia de las edades de los pacientes. Se observa que el 50% de las muestras provienen de pacientes de entre 20 a 40 años, seguidas por las muestras de pacientes de 41 a 60 y la menor cantidad de muestras son de pacientes de 61 a 80 años.

En la gráfica 3 se muestra el porcentaje de la frecuencia de los dientes tratados respecto a la posición en la boca. Se clasificaron de acuerdo a la FDI en cuatro cuadrantes: cuadrante superior derecho, cuadrante superior izquierdo, cuadrante inferior derecho y cuadrante inferior izquierdo. Se observa que las muestras obtenidas provienen de los cuatro cuadrantes sin que haya una tendencia de mayor frecuencia en alguno.

En la gráfica 4 se muestra el porcentaje de la frecuencia de las piezas dentales vitales y no vitales. Se observa que el 63% de las muestras provienen de piezas no vitales, es decir, de dientes a los que en determinado tiempo pasado se les realizaron procesos endodónticos, los dientes vitales representan el 47% de las frecuencias.

En la gráfica 5 se muestra la frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto al sexo de los pacientes. Se observa que las muestras obtenidas de pacientes masculinos presentaron frecuencias más altas en los rangos de concentración bacteriana de 0-1, 101-500 y en 2001-5000, mientras que las muestras de pacientes femeninos tienen una frecuencia mayor en los rangos de 2-100, 501-1000, 1001-2000 y en incontables respectivamente.

En la gráfica 6 se muestra la frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto a los rangos de edad de los pacientes. Se observa que las muestras obtenidas de pacientes de entre 20 a 40 años presentan una mayor frecuencia en el rango de concentración más bajo, así mismo presentan una frecuencia mayor en el rango de UFC/mL incontables; sin embargo, en el análisis estadístico se encontró diferencia significativa que asocia la concentración de *E. faecalis* encontrada en las muestras respecto a los rangos de edad de los pacientes.

En la gráfica 7 se muestra la frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto a la posición del diente de los pacientes. Se observa que no existe tendencia de algún rango de concentración bacteriana respecto a un cuadrante en específico, sin embargo, el cuadrante inferior izquierdo presenta una menor frecuencia en todos los rangos de concentración.

En la gráfica 8 se muestra la frecuencia de UFC/mL de *Enterococcus faecalis* presentes en las muestras de las piezas dentales vitales y no vitales. Se observa que las frecuencias de los distintos rangos de concentración bacteriana de las piezas no vitales con excepción del rango 2001-5000, son mayores a las de las piezas vitales; sin embargo no se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar la concentración de UFC/mL respecto a las piezas vitales y no vitales.

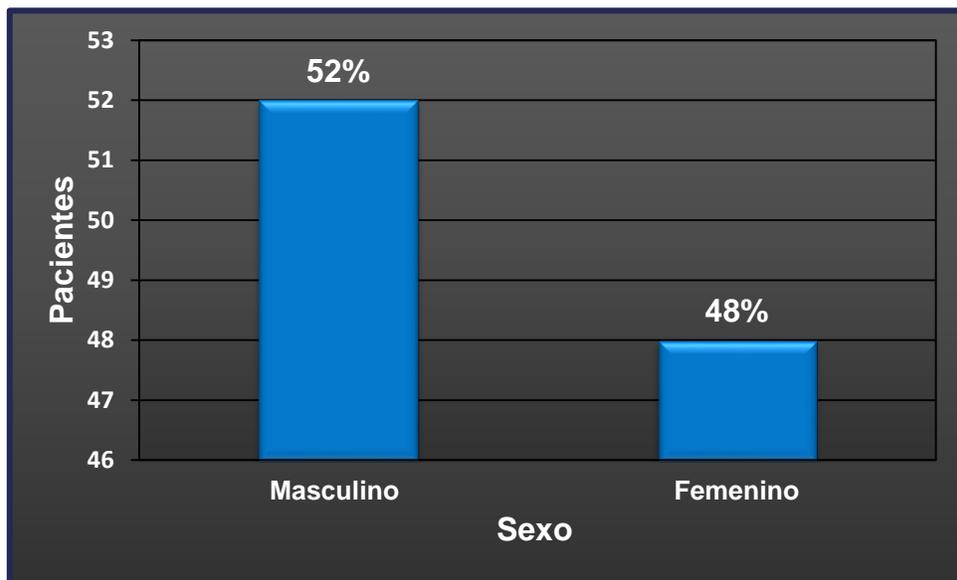
En el cuadro 1 se muestra el valor calculado por χ^2 de Pearson, comparando las UFC/mL de *E. faecalis* respecto al sexo de los pacientes. Se obtuvo un valor estadísticamente no significativo $p=.172$, lo que indica que la concentración encontrada de *Enterococcus faecalis* en las muestras es independiente al sexo del paciente.

En el cuadro 2 se muestra el valor calculado por χ^2 de Pearson, comparando las UFC/mL de *E. faecalis* respecto a la edad de los pacientes. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa $p=.042$, en la gráfica 6 se observa que los pacientes del rango de edad de 20 a 40 y de 41 a 60 años presentan mayor concentración de *Enterococcus faecalis* que los pacientes de entre 61 a 80 años.

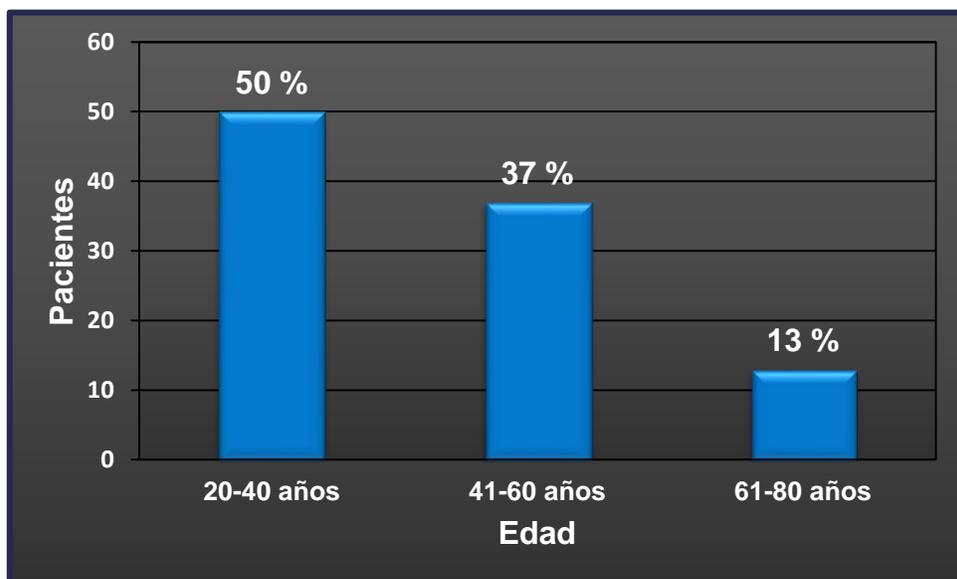
En el cuadro 3 se muestra el valor calculado por χ^2 de Pearson, comparando las UFC/mL de *E. faecalis* respecto a la posición del diente de los pacientes. Se obtuvo un valor de $p=.803$ que no representa una diferencia estadísticamente significativa, lo que indica que la concentración de *Enterococcus faecalis* presente en las muestras es independiente a la posición del diente en los cuatro distintos cuadrantes.

En el cuadro 4 se muestra el valor calculado por χ^2 de Pearson, comparando las UFC/mL de *E. faecalis* respecto a la pieza dental de los pacientes. Se obtuvo una $p=.812$, que no representa una diferencia estadísticamente significativa, lo que indica que no hay asociación entre la concentración de *Enterococcus faecalis* presente en las muestras y la condición interna del diente; sin embargo, se encontró que las frecuencias de concentración bacteriana de las piezas no vitales son mayores respecto al de las piezas vitales (gráfica 8).

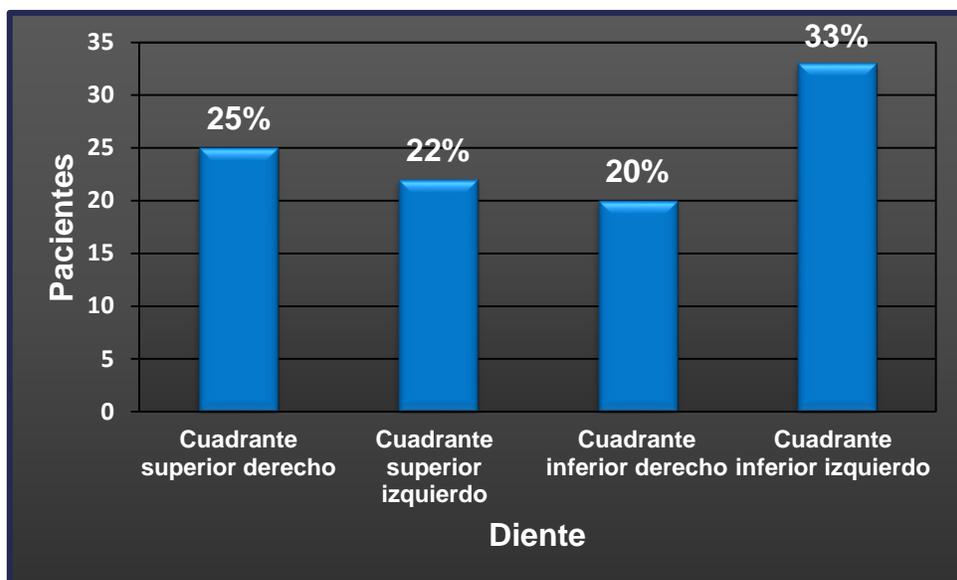
Gráfica 1. Porcentaje de la frecuencia del sexo de los pacientes.



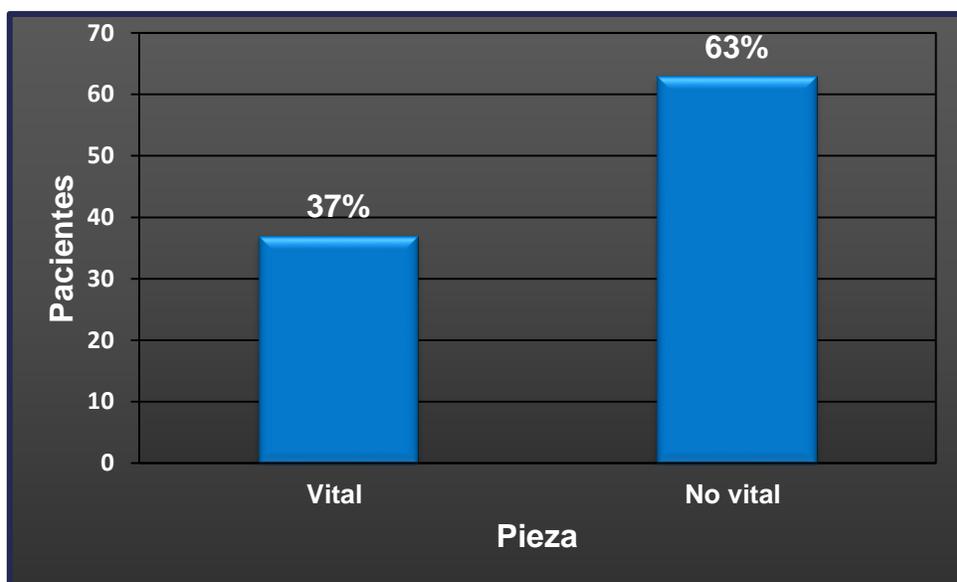
Gráfica 2. Porcentaje de la frecuencia de los rangos de edad de los pacientes.



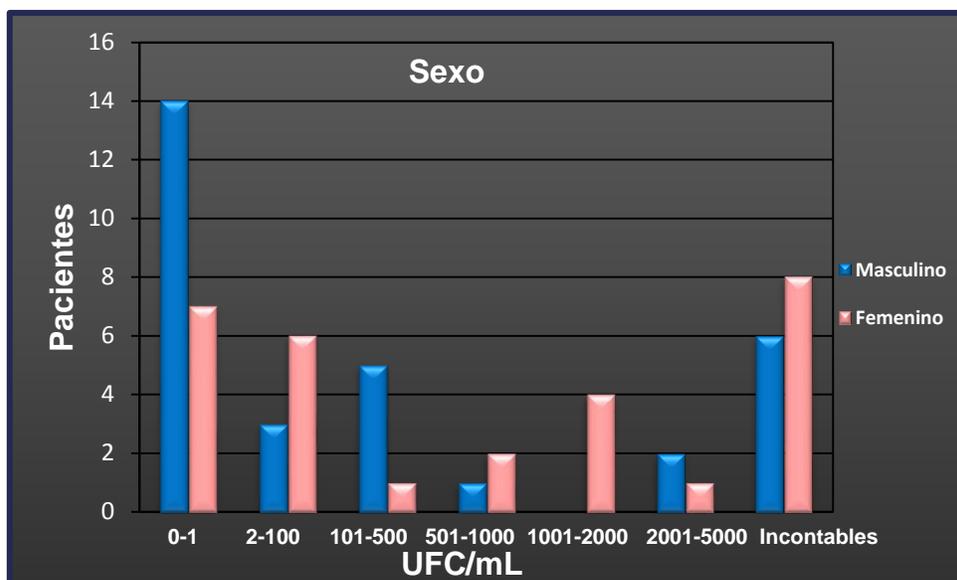
Gráfica 3. Porcentaje de la frecuencia de los dientes respecto a la posición en la boca.



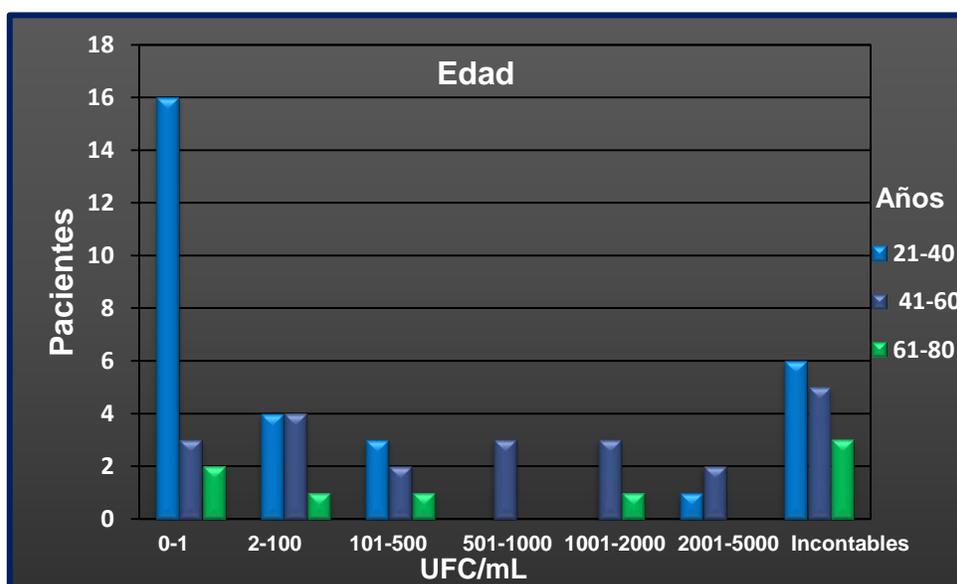
Gráfica 4. Porcentaje de la frecuencia de las piezas dentales vitales y no vitales.



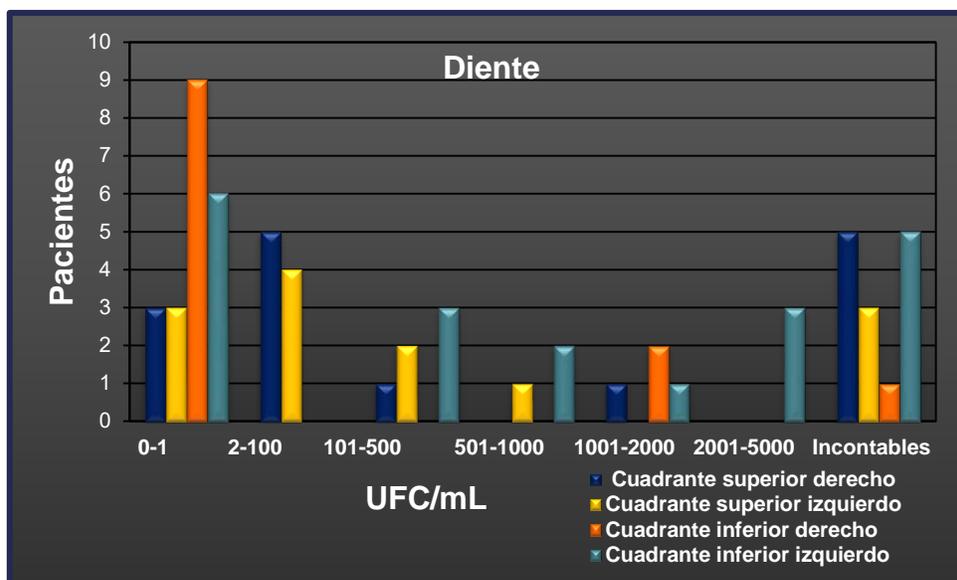
Gráfica 5. Frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto al sexo de los pacientes.



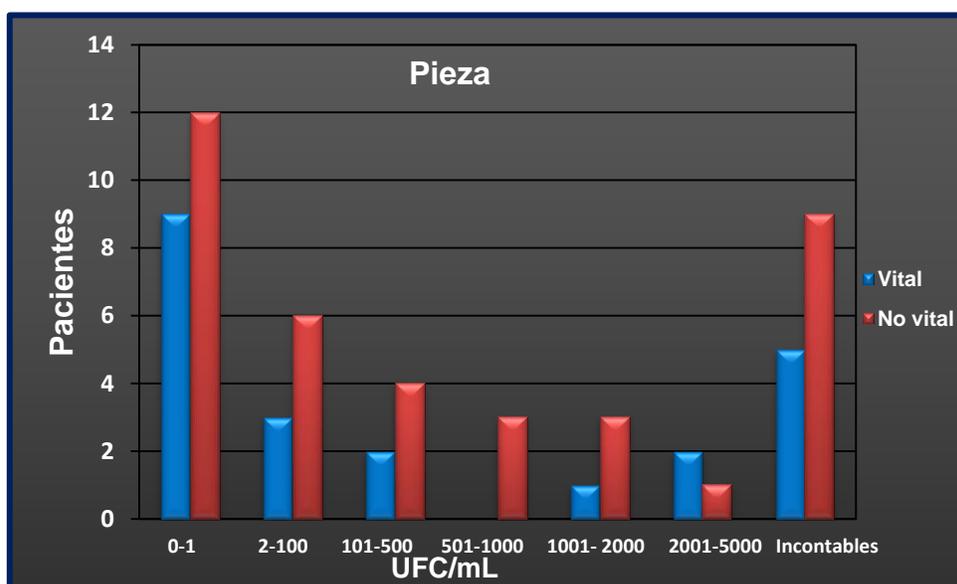
Gráfica 6. Frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto a los rangos de edad de los pacientes.



Gráfica 7. Frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* presentes en los cuadrantes dentarios.



Gráfica 8. Frecuencia de las UFC/mL de *Enterococcus faecalis* presentes en las muestras de las piezas dentales vitales y no vitales.



Cuadro 1. Prueba de χ^2 de Pearson. UFC/mL vs Sexo.

Determinación	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	10.898 ^a	6	.092
Razón de verosimilitudes	12.754	6	.047
Asociación lineal por lineal	1.863	1	<u>.172</u>
N de casos válidos	60		

Asociación significativa a $p \leq 0.05$ **Cuadro 2.** Prueba de χ^2 de Pearson. UFC/mL vs Edad.

Determinación	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	17.615 ^a	12	.128
Razón de verosimilitudes	20.659	12	.056
Asociación lineal por lineal	4.126	1	<u>.042</u>
N de casos válidos	60		

Asociación significativa a $p \leq 0.05$

Cuadro 3. Prueba de χ^2 de Pearson. UFC/mL vs Diente.

Determinación	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	32.793 ^a	18	.018
Razón de verosimilitudes	38.536	18	.003
Asociación lineal por lineal	.062	1	<u>.803</u>
N de casos válidos	60		

Asociación significativa a $p \leq 0.05$ **Cuadro 4.** Prueba de χ^2 de Pearson. UFC/mL vs Pieza.

Determinación	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.558 ^a	6	.736
Razón de verosimilitudes	4.514	6	.607
Asociación lineal por lineal	.056	1	<u>.812</u>
N de casos válidos	60		

Asociación significativa a $p \leq 0.05$

10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Desde la última década del siglo XX se tuvo una transformación en la salud general y la salud oral, incomparable en la historia. Sin embargo, a pesar de los notables logros, millones de personas en todo el mundo han sido excluidas de los beneficios del desarrollo socioeconómico y los avances científicos que han mejorado la atención médica y la calidad de vida. Los determinantes sociales, económicos, políticos y culturales de la salud son importantes y se puede argumentar que se puede lograr una mejor salud mediante la reducción de la pobreza.

Los sistemas de salud, incluidos los de salud oral, tienen un papel importante que desempeñar. En los países en vías de desarrollo en particular, cada vez más organizaciones de desarrollo social, fundaciones privadas y organizaciones no gubernamentales se están volviendo activas en el sector de la salud oral.

La salud oral es esencial para la salud general y la calidad de vida. Es un estado de ausencia de dolor bucal y facial, de infección oral y llagas, de enfermedad periodontal, caries dental, pérdida de dientes, cáncer oral y de garganta; entre otras enfermedades y trastornos que limitan la capacidad de un individuo para morder, masticar, hablar, sonreír y para su bienestar psicosocial. Los factores de riesgo para las enfermedades orales incluyen una dieta poco saludable, el consumo de tabaco, el consumo nocivo de alcohol y una higiene oral deficiente.⁴⁷

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de *Enterococcus faecalis* en muestras periodontales de procesos endodónticos y su posible relación con algunos datos clínicos del paciente. Se sabe que las infecciones endodónticas suelen ser de origen polimicrobiano, sin embargo, se ha reconocido a este patógeno como el principal agente involucrado en los fracasos endodónticos.

Por otra parte, aún no se tienen registros exactos que comprueben si ciertas características del paciente como lo es el sexo, la edad, la integridad de la pieza dental y su ubicación en las arcadas dentarias tienen algún papel preponderante relacionado con la presencia de *E. faecalis* en los tratamientos endodónticos, cuya finalidad es resarcir el daño del tejido pulpar y preservar el órgano dental afectado.

Enterococcus faecalis es la bacteria que se aísla con mayor frecuencia en los dientes con fracaso endodóntico (80 a 90%), su persistencia en el conducto radicular representa un problema terapéutico importante. Se asocia con diferentes enfermedades periodontales y periapicales; se encuentra en el 40% de las infecciones endodónticas primarias, así como en el 77% de las infecciones secundarias persistentes.^{48, 49}

En el ámbito de salud oral se tienen perfiles muy diferenciados en función del sexo, las mujeres son las que poseen más hábitos saludables de higiene y autocuidado dental. Se cepillan los dientes más frecuentemente, usan pasta dental fluorada e hilo de seda dental más a menudo y acuden con mayor regularidad al dentista que los hombres.⁵⁰

Sin embargo, en las muestras obtenidas en el estudio, el 52% corresponden a pacientes masculinos y el 48% provienen de pacientes femeninos, por lo cual no hubo una diferencia representativa en la frecuencia entre el sexo de los pacientes que acudieron a recibir tratamiento endodóntico. En el análisis estadístico no se encontró un valor significativo que asocie el sexo del paciente con la concentración de UFC/mL de *Enterococcus faecalis* $p=.172$, lo que sugiere que su presencia y concentración son independientes del sexo de los pacientes que conformaron el estudio.

La edad es un factor importante para la salud oral ya que desde el nacimiento, desarrollo y envejecimiento del organismo se llevan a cabo procesos dinámicos de modificaciones morfológicas, funcionales y bioquímicas que tienen lugar y se reflejan en la cavidad bucal. La pérdida de la estructura dental es un proceso fisiológico que ocurre con el paso del tiempo. Sin embargo, debe considerarse patológico cuando el grado de la misma crea alteraciones funcionales, estéticas y sintomáticas.

Según datos de la OMS, el 90% de la población adulta padece de algún tipo de caries y el no tratarla adecuadamente puede desencadenar en patologías que ponen en riesgo la integridad o pérdida de la pieza dental. Estudios internacionales han encontrado diferencias en la prevalencia de enfermedades pulporradiculares en cuanto a la edad, han revelado que es mayor en edades entre los 21 y 40 años, seguidos por adultos de 41 a 60 años y disminuyen en pacientes de hasta 80 años, sin embargo en esta edad es donde la pérdida de piezas dentales es mayor.^{51, 52}

En los datos obtenidos de las muestras de procesos endodónticos se ven reflejadas las estadísticas reportadas sobre la incidencia de patologías pulpares en los distintos rangos de edad de los pacientes, del total de las 60 muestras, el 50% pertenecen a individuos de entre 20 a 40 años, seguidos por el 37% en el rango de 41 a 60 años y por último los pacientes de 61 a 80 años con el 13%. El análisis estadístico indica que hay una diferencia estadísticamente significativa $p=0.042$ entre la concentración de UFC/mL de *Enterococcus faecalis* respecto a los 3 rangos de edad establecidos en el estudio, por lo que se puede asociar la prevalencia de *E. faecalis* y su concentración presente en las muestras con la edad de los pacientes, es decir, los pacientes de 20 a 40 y de 41 a 60 años presentan mayor frecuencia de UFC/mL que los pacientes de 61 a 80 años respectivamente.

Las causas del fracaso en los tratamientos de endodoncia se deben en la mayoría de los casos, cuando los procedimientos realizados al interior de los canales radiculares no logran un nivel satisfactorio de control y eliminación de la infección, esto se debe a la remoción incompleta del tejido pulpar y de los microorganismos presentes en el sistema de canales radiculares.

Si bien la preparación biomecánica reduce significativamente la microbiota, ésta no elimina por completo las bacterias en los conductos laterales, accesorios, istmos y deltas apicales; por lo que la elección de la sustancia irrigante y la medicación a usar será importante para abarcar zonas que durante la instrumentación no sean accesibles, así como un buen sellado apical, ya que la persistente multiplicación y migración de las bacterias en los conductos contribuye al fracaso del tratamiento.^{49, 53-54}

La prevalencia de *Enterococcus faecalis* y su relación con el fracaso endodóntico se debe tanto a sus características morfológicas, fisiológicas y factores de virulencia que posee. Dado que por su tamaño (0.5-0.8 μm) puede infiltrarse e invadir los túbulos dentarios (1-4 μm) una vez que se haya producido una lesión o daño en el periodonto, seguido por su capacidad de crecer en anaerobiosis y con requerimientos nutricionales críticos, puede permanecer en el interior de los dientes.

Otra característica distintiva de *E. faecalis* es su capacidad de desarrollarse y tolerar pH alcalinos que normalmente inhiben otras bacterias, lo que lo hace resistente a las sustancias irrigantes como el NaOCl, gluconato de clorhexidina y a la pasta de Ca(OH)_2 que actúan como antibacterianos intensos.⁵⁵

Se ha dilucidado que algunos de sus factores de virulencia son factores esenciales para su prevalencia y persistencia en las enfermedades periodontales y periapicales, como lo son la sustancia de agregación, proteínas de superficie y la gelatinasa; que actúan en la unión a la dentina y en la formación de biofilm, esto contribuye a su supervivencia tanto fuera del diente como en los conductos ya obturados. Una vez que *E. faecalis* ha invadido los conductos radiculares del diente, sus citolisinas se encargan de destruir a las células circundantes y de defensa presentes en el sitio, la hialuronidasa provoca daño tisular en el tejido pulpar.^{56, 57}

La presencia de *Enterococcus faecalis* en las infecciones endodónticas primarias, así como en las infecciones secundarias persistentes se debe a su resistencia adquirida a diversos antibióticos como la vancomicina, clindamicina, amoxicilina, tetraciclina, ampicilina, cloranfenicol y eritromicina. Todas estas características le confieren gran importancia como principal agente etiológico asociado con la causa de retratamientos de conductos radiculares y los casos fallidos de procesos endodónticos.⁵⁸

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que el 63% de las frecuencias de muestras fueron obtenidas de piezas dentales no vitales y el 47% restante pertenecen a muestras que proceden de piezas dentales vitales, esto se puede relacionar con el alto porcentaje que existe en los dientes con fracaso endodóntico (80 a 90%) de los casos, en los que *E. faecalis* está presente. Las frecuencias de concentración bacteriana encontradas en los dientes no vitales son mayores, a excepción del rango de 2001 a 5000 de UFC/mL, que las halladas en las muestras de dientes vitales, esto sugiere que la presencia de *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares de la pieza dental que ya había sido tratada en el pasado tuvo un tratamiento endodóntico fallido.

A pesar de lo anterior, en el análisis estadístico no se encontró diferencia estadística $p=.812$, que asocie la frecuencia de concentración de *E. faecalis* con las piezas dentales no vitales. Sin embargo, es evidente que la prevalencia de *Enterococcus faecalis* en los dientes tanto vitales como no vitales, funge de una manera clínico-patológica importante.

Los dientes y sus estructuras de soporte son necesarios para la trituración de los alimentos, el habla y la expresión facial. Cada tipo de diente tiene una forma diferente y cumple una función en particular. La cavidad bucal está constituida por dos arcadas: la arcada superior o maxilar y la arcada inferior o mandibular, cada una de las arcadas se divide en dos hemiarcadas, de tal manera que la cavidad

bucal queda dividida en cuatro partes que corresponden al cuadrante superior derecho, superior izquierdo, inferior derecho e inferior izquierdo.

Algunos estudios reportan que los dientes posteriores (molares y premolares) son extraídos principalmente por problemas y complicaciones de caries. Se tiene registrado que los dientes posteriores tienden a presentar con mayor frecuencia algún tipo de patología pulpar, siendo los cuadrantes inferior derecho e inferior izquierdo los más afectados.^{59, 60}

De las 60 muestras recolectadas en el presente estudio, el 25% correspondieron al cuadrante superior derecho, el 22% al cuadrante superior izquierdo, el 20% al cuadrante inferior derecho y el 33% al cuadrante inferior izquierdo. No se encontró diferencia estadísticamente significativa $p=.803$ que asocie a un cuadrante o cuadrantes con la frecuencia de UFC/mL de *E. faecalis* presentes en las muestras, lo que sugiere que *Enterococcus faecalis* prevalece e invade por igual los dientes de todos los cuadrantes que conforman la cavidad bucal.

11. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican la presencia de *Enterococcus faecalis* en las muestras de procesos endodónticos del estudio, se sugiere que su concentración se asocia con la edad de los pacientes y con el estado de la pieza dental. Se encontró que el sexo del paciente y la ubicación del diente no tienen relación con la prevalencia de *E. faecalis* presente en las muestras.

12. PERSPECTIVAS

- Medir la concentración de *Enterococcus faecalis* al inicio del tratamiento endodóntico y después de este antes de que el diente sea obturado.
- Comparar la concentración de *Enterococcus faecalis* presente en los conductos radiculares utilizando diferentes sustancias irrigantes.
- Comparar la concentración de *Enterococcus faecalis* presente en los conductos radiculares en pacientes que sigan un tratamiento prescrito de antibióticos diferente.

13. REFERENCIAS

1. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Patología humana. 7ª ed. España: Elsevier; 2004.
2. Robbins R, Cotran R. Patología estructural y funcional. 8ª ed. España: Elsevier; 2010.
3. Koneman W, D Allen S, M. D, Janda W, Schreckenberger P, Winn W. Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas. 6ª ed. España: Editorial Médica panamericana; 2008.
4. Pastrana J, García de Casasola G. Fisiopatología y patología general básicas para ciencias de la salud. 1ª ed. España: Elsevier; 2013.
5. Díaz M, Pérez, Rodríguez C, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2010; 48(2)147-161.
6. Kouidhi B, Zmantar T, Mahdouani K, Hentati H, Bakhrouf A. Antibiotic resistance and adhesion properties of oral *Enterococci* associated to dental caries. BMC Microbiology. 2011; 11:155.
7. Rojas N, Chávez E, García F. Bacteriología diagnóstica. Costa Rica: Facultad de microbiología; 2006.
8. Mitchel NR. Compendio de Robinson y Cotran: Patología estructural y funcional. 8ª ed. España: Elsevier; 2012.

9. Brooks F, Butel J, Morse S. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg 18^a ed. México: Manual moderno; 2004.
10. Sirvent F, García E. Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia. *Endodoncia*. 2010; 28 (4): 241-256.
11. Garza R, Hernández K, Mejía A. Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM. *Lab Acta*. 2002; 14:11-20.
12. Ledesma P, Parada R, Vallejo M, Marguet E. Factores de virulencia de cepas de *Enterococcus* aisladas de aves silvestres y de corral en la Patagonia. 2015; *Analecta Vet*; 35 (1): 6-12.
13. Cercenado E. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29(5): 59-65.
14. Padilla C, Núñez M, Padilla A, Lobos O. Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes muestras clínicas en la Región del Maule, Chile. *Rev Chil Infect*. 2012; 29 (1): 55-61.
15. Caraffini A, Nobile C, Figueroa M, Vargas M, Tacchini M. Factores de virulencia de *enterococcus spp.* y su relación con la resistencia a antibióticos. *Bioquím patol clín*. 2010; 73:9.
16. Kouidhi B, Zmantar T, Mahdouani K, Hentati H, Bakhrouf A. Antibiotic resistance and adhesion properties of oral *Enterococci* associated to dental caries. *BMC Microbiology*. 2011; 11:155.

17. Conde D, Sorli L, Morales J, Knobel H, Terradas R, Mateu-de J, et al. Características clínicas diferenciales entre las bacteriemias por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28(6): 342–348.
18. Kau A, Martin S, Lyon W, Hayes E, Caparon E, Hultgren S. *Enterococcus faecalis* Tropism for the Kidneys in the Urinary Tract of C57BL/6J Mice. *Infect Immun*. 2015; 73(4): 2461-2468.
19. Hansen K, Hertz F, Rasmussen S, Frimodt-Møller N. UTI-Related Bacteremia Due to *Enterococcus faecalis*: A Retrospective Case Control Study of Potential Risk Factors. *epidemiology (sunnyvale)*. 2015; 5: 188.
20. Gijo j, Kumar K, Gopal S, Kumari S, Kaso B. *Enterococcus faecalis*, a nightmare to endodontist: A systematic review. *Afr J Microbiol Res*. 2015; 9(13): 898-908.
21. Rivas M, Yulany S, Daboin I, Díaz C, Salas E, Urdaneta L. Frecuencia de aislamiento y susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* en pacientes endodónticos. *Rev Od Los Andes*. 2012; 7(1): 15-23.
22. Ardila C, Maggiolo S, Dreyer E, Armijo J, Silva N. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. *AMC*. 2014; 18(4): 415-423.
23. Castellanos P, Simancas V, Díaz A, Pupo S. Eliminación de *Enterococcus faecalis* por medio del uso de hipoclorito de Sodio, clorhexidina y MTAD en conductos radiculares. *Av Odontoestomatol*. 2014; 30(5): 263-270.

24. Estrela C, Sousa M, Silveira D, Gonçalves A, Oliveira T, Djalma J. A Preliminary Study of the Antibacterial Potential of Cetylpyridinium Chloride in Root Canals Infected by *E. faecalis*. Braz Dent J. 2012; 23(6): 645-653.
25. Alamo J, Guardia S, Mendoza R, Guerra L. Efectividad de tres irrigantes sobre el número de colonias de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares in vitro. KIRU. 2015; 12(1): 8-12.
26. Girón J, Pérez R. Tratamiento de las infecciones por enterococo. Rev Clin Esp. 2003; 203(10): 482-485.
27. Schell C, Sparo M, Bernstein J, Grenóvero S, Delpech G, Pourcel G, et al. Factores de virulencia y multirresistencia en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas. Univ Nac Plata. 2014; Art. de Inv.
28. Campo-del R, Tenorio C, Rubio C, Castillo J, Torres C, Gómez R. Aminoglycoside-modifying enzymes in high-level streptomycin and gentamicin resistant *Enterococcus spp.* in Spain. Int J Antimicrob Agents. 2000; 15(3):221-226.
29. Causse M, Álvarez de Luna F, García A, Rodríguez F, Casal M. Sensibilidad a los antimicrobianos de *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes en la provincia de Córdoba (España). Rev Esp Quimioterap. 2006; 19 (2): 140-143.
30. Cohen B, Kramer I. Fundamentos científicos de odontología. 1ª ed. España: Salvat; 1981.
31. Riojas M. Anatomía dental. 3ª ed. México: Manual moderno; 2014.

32. Scheid R, Weiss G. Woelfel. Anatomía dental. 8ª ed. México: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
33. Echeverría J, Pumarola J. El manual de odontología. 2ª ed. España: Elsevier; 2008.
34. Lima de M. Endodoncia. Ciencia y tecnología tomo 3. 1ª ed. Venezuela: Amolca; 2016.
35. Torabinejad M, Walton R. Endodoncia. Principios y práctica. 4ª ed. España: Elsevier; 2010.
36. Soares I, Goldberg F. Endodoncia. Técnica y fundamentos. 1ª ed. España: Médica panamericana; 2002.
37. Cohen S, Burns R. Vías de la Pulpa. 9ª ed. España: Elsevier; 2002.
38. Nageswar R. Endodóncia avanzada. 1ª ed. Mexico: Amolca; 2011.
39. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 7ª ed. España: Elsevier; 2014.
40. DeLong L, Burkhart N. Patología oral y general en odontología. 2ª ed. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
41. Stefanello A, González P, Prates R. Odontología restauradora y cosmética. 1ª ed. Brasil: Amoeca; 2005.
42. Estrela C. Control de infección en Odontología. 1ª ed. Brasil: Artes Médicas Ltda.; 2005.

43. Negroni M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2ª ed. México: Médica panamericana; 2009.
44. Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Diagnóstico Microbiológico. 12ª ed. España: Médica panamericana; 2009.
45. Nollet L, De Gelder L. Handbook of Water Analysis. 13ª ed. USA: Taylor & Francis Group, LLC; 2011.
46. Atlas R. Handbook of Media for Environmental Microbiology. 2ª ed. USA: Taylor & Francis Group, LLC; 2005.
47. Organización Mundial de la Salud. Estrategias para la prevención de enfermedades orales y la promoción de la salud. 2017 [Internet]. México: OMS; 2017. [Consultado el 5 de agosto de 2017]. Disponible en: http://www.who.int/oral_health/strategies/en/#
48. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E, Briceño E. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. Acta odontol venez. 2009; 47(1).
49. García G, García R, Perea L. Comparación in vitro de la actividad antimicrobiana de AhPlus, RSA y Ledermix contra *Enterococcus faecalis*. Rev Odont Mex. 2013; 17(3): 156-160.
50. Mazarro G. Análisis de las diferencias de género en el cuidado bucodental. Rev Gaceta Dental. 2012; 241: 114-124.

51. Webb D, Barrientos S, Méndez C, Rodríguez A. Frecuencia y características de hallazgos endodónticos en radiografías panorámicas digitales. *Odontoestomatol Montevideo*. 2017; 19(29).
52. Pineda E, Segura A. Factores asociados a la supervivencia del diente con endodoncia en pacientes mayores de 20 años, atendidos en una IPS privada en el periodo 2006 a 2012. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2014; 25(2): 283-298.
53. Herrera A, Corona M, Vara F, Gutiérrez D, Alavez S. Comparación de la eficacia de los irrigantes OxOral® y NaOCl en la eliminación de *Enterococcus faecalis*. *Rev Odontol Mex*. 2017; 21(4): 241-244.
54. Rodríguez C, Oporto G. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura. *Rev Odontol Mex*. 2015; 19(3): 181-186.
55. Weckwerth P, Ordinola R, Ricci R, Tanomaru M, García A, Hungaro M. In Vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. *Braz Dent J*. 2013; 24(5): 474-476.
56. Pinheiro E, Mayer M. *Enterococcus faecalis* in Oral Infections. *J Interdiscipl Med Dent Sci*. 2014; 3: 160.
57. Khalifa L, Shlezinger M, Beyth S, Houry Y, Copenhagen S, Beyth N, et al. Phage therapy against *Enterococcus faecalis* in dental root canals. *J Oral Microbiol*. 2016; 8(32): 157.

58. Komiyama E, Lepesqueur L, Yassuda C, Samaranayake L, Parahitiyawa N, Balducci I, et al. *Enterococcus* Species in the Oral Cavity: Prevalence, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility. PLOS ONE. 2016; 11(9).
59. Canché L, Alvarado G, López M, Ramírez M, Vega E. Frecuencia de patologías pulpares en el CDFU Humberto Lara y Lara. Rev Tamé 2015; 4(11): 387-39.
60. Medina C, Pontigo A, Pérez E, Hernández P, De la Rosa R, Navarete J, et al. Principales razones de extracción de dientes permanentes en una muestra de adultos mexicanos. Rev Invest Clin. 2013; 65(2): 141-149.