

Bacterias gram negativas, presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la Universidad Antonio Nariño

Betsy Alejandra Falla Guhauña

Cod.20571722606

María Fernanda Rivera Suarez

Cod.20571823718

Yefrey Vargas

Cod.20571825782

Universidad Antonio Nariño

Programa Odontología

Facultad de Odontología

Neiva, Colombia

2023

Bacterias gram negativas, presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la Universidad Antonio Nariño

María Fernanda Rivera Suarez

Betsy Alejandra Falla

Yefrey Vargas

Proyecto de grado presentado como requisito parcial para optar al título de: **Odontólogo**

Director (a) Temático:

Dra. Ana Paola Cuellar

Director metodológico (a):

Dra. Claudia Lorena García Rojas MSc

Línea de Investigación:

Crecimiento y desarrollo

Universidad Antonio Nariño

Programa Odontología

Facultad de Odontología

Neiva, Colombia

2023

NOTA DE ACEPTACIÓN

presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la Universidad Antonio Nariño, Cumple con los requisitos para optar al título de odontólogos. Firma del Tutor
facultad de odontología de la Universidad Antonio Nariño, Cumple con los requisitos para optar al título de odontólogos. Firma del Tutor
Nariño, Cumple con los requisitos para optar al título de odontólogos. Firma del Tutor
de odontólogos. Firma del Tutor
Firma del Tutor
Firma Jurado
Firma Jurado

(Dedicatoria)

A Dios como primera medida y a nuestros padres que nos han brindado su apoyo incondicional a lo largo de este camino. A nuestros familiares por apoyarnos de una u otra manera.

Agradecimientos

Agradecemos a Dios por bendecirnos al finalizar este trabajo, por todas sus bendiciones, a nuestros padres que nos han dado su gran ejemplo de trabajo, honradez, fortaleza en aquellos momentos de dificultad y paciencia en esta formación universitaria.

También queremos agradecer a la Universidad Antonio Nariño, directivos y profesores por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestro pregrado, de manera especial, a nuestras docentes / tutor Dr. Ana Pola Cuellar y Dr. Jacqueline Olaya, como docente temático Dr. Claudia García de nuestro proyecto de investigación quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud este proyecto

Contenido

Resumen	
Abstract	4
Introducción	5
1. Antecedentes	7
1.1. Internacionale	es
1.2. Nacionales	9
2. Planteamiento del	problema
3. Justificación	
4. Objetivos	
4.1. Objetivo Gene	eral
4.2. Objetivo espe	cifico17
5. Marco referencial	
5.1. Generalidades	s18
5.1.1. Endodon	<i>cia</i>
5.1.2. Obturaci	ón21
5.1.3. Conos de	Gutapercha19
5.1.4. Bacterias	s Gram negativo20
6. Diseño metodológ	gico22
6.1. Tipo de estud	io22
6.2. Criterios de se	elección23
6.2.1. Criterios	de inclusión23
6.2.2. Criterios	de exclusión
6.3. Población	
6.3.1. Muestra	
6.4. Variables	
6.5. Procedimiento	o para análisis de datos24
6.5.1. Análisis d	de los datos:26

6	6.6. Aspectos éticos de la investigación	26
7.	Resultados y discusión	29
8.	Conclusiones	37
9.	Anexos	38
10.	Referencias Bibliográficas	42

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Contaminación de las muestras	32
Figura 2. Pantoea agglomerans	33
Figura 3. <i>Burkholderia cepacia</i>	34
Figura 4. Kingella kingae	36

Lista de tablas

	Pág
Tabla 1. Contaminación en conos gutapercha	32

Resumen

La endodoncia se reconoce como la ciencia y el arte a partir del cual se realiza un tratamiento tanto al diente como a los tejidos apicales con la intención de mantener la salud oral, en el estudio de la endodoncia se hacen fundamentales el estudio de diferentes variables entre las que se encuentran el estudio del microbiota. Debido a esta condición el presente estudio tiene como intención de analizar los Agentes gramnegativos presentes en los conos de gutapercha en el tratamiento de conducto en la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la universidad Antonio Nariño, a partir de una metodología aplicada que permite reconocer la existencia de una contaminación del 29% de la totalidad de las muestras, que permite identificar la presencia de cuatro bacterias diferentes que sin el adecuado cuidado pueden terminar afectando la salud oral y general del paciente.

Palabras clave: Gramnegativas, bacterias, conos gutapercha, endodoncia.

Abstract

Endodontics is recognized as the science and art from which a treatment is performed on both the tooth and the apical tissues with the intention of maintaining oral health, in the study of endodontics the study of different variables are fundamental, among which are the study of the microbiota. Due to this condition, the present study intends to analyze the gram-negative agents present in gutta-percha cones in the root canal treatment in the adult clinic III of the faculty of dentistry of the Antonio Nariño University, from an applied methodology that allows to recognize the existence of a contamination of 29% of all the samples, that, although it is a percentage perite recognize the presence of four different bacteria that without proper care can end up affecting the oral and general health of the patient.

Key words: Gram-negative, bacteria, gutta-percha cones, endodontics.

Introducción

Cuando la total desinfección del conducto radicular se logra por medio de la preparación química y mecánica, es importante mantener esta desinfección. En primer lugar, se debe evitar la introducción de nuevos microorganismos durante los procedimientos endodónticos, ya que su eliminación es importante. Por lo tanto, es de suma importancia que las herramientas o los materiales introducidos dentro del sistema de conductos radiculares no contribuyan a la reinfección, o incluso a la persistencia de la patología endodóntica.

Es por eso por lo que los conos de gutapercha deben estar libres de contaminación microbiana al momento de usarse. Desde la conceptualización interna la endodoncia requiere los elementos suficientes para el logro de sus objetivos considerando el conocimiento de pequeños detalles que se escapan a la vista, mediante le estudio meticuloso y prioritario de la anatomía externa e interna, logrando conjugar ambas para la obtención de conocimiento necesario para el trato de las alteraciones pulpares y sus repercusiones sobre los tejidos periapicales y de esta manera obtener procedimientos terapéuticos exitosos.

Debido a que el estudio de la endodoncia incluye el análisis de todos los pormenores en la cavidad bucal el presente trabajo de investigación busca realizar un estudio para la identificación de "bacterias Gram negativos presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la Universidad Antonio Nariño".

Este estudio tiene como motivación esencial la identificación de las bacterias Gram negativas en las cajas de conos de gutapercha, con el fin de poder adicionalmente evidenciar el nivel de cumplimiento de los protocolos de asepsia sin paciente.

El éxito del tratamiento endodóntico se basa en adecuar los conductos por medio de una instrumentación biomecánica amparada en un buen manejo del instrumental, una apropiada desinfección de este y del campo operatorio para prevenir la contaminación del material e instrumental y así mismo evitar que los microorganismos ingresen a los conductos radiculares. La desinfección de los instrumentos y materiales de endodoncia es esencial en el mantenimiento de la cadena de asepsia y en la prevención de la introducción de microorganismos patógenos en el sistema de conductos radiculares.

Los conos de gutapercha vienen presentados en cajas esterilizadas y sueltas, pero una vez expuestos al medio ambiente del consultorio dental o incluso por el manejo del operador, pueden ser contaminados por cualquier clase de microorganismo.

La investigación se diseñó a partir de etapas las cuales corresponden a los objetivos establecidos; la primera etapa comprende obtener y verificar la condición microbiológica de conos de gutapercha en la terapia pulpar, la segunda etapa comprende establecer el grado de contaminación de los conos de gutapercha utilizados en la terapia endodóntica en la clínica de adultos de la Facultad de Odontología; la tercera etapa comprende la identificación de los microorganismos encontrados de los conos de gutapercha en sus envases, su posible contaminación una vez abiertos durante la manipulación y almacenamiento de estos y también los medicamentos a los que hace resistencia la bacteria.

1. Antecedentes

El éxito de una endodoncia se basa en la limpieza del conducto radicular, eliminando bacterias y tejido necrótico con el fin de dejar lo más aséptico posible el conducto radicular, teniendo en cuenta también la morfología exacta del conducto, una buena obturación a la longitud adecuada y consiguiendo un buen sellado apical, es por ello que el material se acompaña de instrumental estéril evitando la contaminación de microorganismos Gram positivos y Gram negativos dentro del conducto radicular; si bien es cierto; la gutapercha en la presentación de conos es el material de obturación endodóntico más común, por lo tanto deben estar previamente desinfectados para trabajar dentro del conducto radicular; de acuerdo con lo anterior otros estudios sobre este material y método de endodoncia indican lo siguiente:

1.1. Internacionales

En el estudio de Yépez evaluó la presencia de contaminación microbiana en conos de gutapercha provenientes de empaques sellados antes de ser usados en pacientes y siguiendo protocolos de asepsia; los resultados del estudio determinaron que el 7,1% de los conos de gutapercha estaban contaminados. Además, el 16,67% de las bacterias halladas eran Gramnegativas. A partir de esto, concluyó que los conos de gutapercha de empaques sellados no estaban estériles, por lo que sugirió su correcta desinfección y la revisión de los procedimientos de asepsia en la clínica (Yépez, 2018).

Gómez (2018) realizó una investigación en la que evaluó el grado de contaminación microbiana de los conos de gutapercha utilizados Clínica Estomatológica de la Universidad de Huánuco; la metodología empleada en el estudio fue de tipo descriptiva, observacional,

prospectivo, transversal en una muestra de 60 conos de gutapercha de diferentes marcas los cuales se tomaron de forma aleatoria y los cuales se sumergieron en caldo de thioglicolato y cultivadas en Agar sangre por 24 horas. Las placas se incubaron a 37 grados C durante 1 día y se contaron las colonias, para luego ser codificados en una base de datos para ser procesada por el programa estadístico SPSS versión 24, mediante estadística descriptiva. Los resultados indicaron que el 100% de la superficie de los conos de gutapercha utilizados por los estudiantes de clínica presentaron contaminación microbiológica baja, sin embargo, las bacterias de mayor prevalencia fueron los cocos y finalmente los bacilos (Gómez, 2018).

Por otro lado, Kayaoglu et al. (2019) evaluaron el grado de contaminación microbiana en empaques de conos de gutapercha sellados, antes y durante su uso en un entorno clínico, encontrando que los conos de gutapercha tomados directamente de los empaques sellados bajo condiciones asépticas presentaban contaminación microbiana. Además, que a mayor manipulación de los empaques mayor era el grado de contaminación y por ende el riesgo de fracaso del procedimiento endodóntico.

Murillo (2019) realizo una investigación para determinar el grado de contaminación bacteriana de conos de gutapercha de tres marcas comerciales antes de ser usados en procedimientos endodónticos; se analizaron quince empaques sellados de conos de gutapercha, un cono al azar por cada caja para comprobar la condición bacteriana, fueron realizadas en tres medios de cultivos infusión cerebro corazón, Agar sangre y Agar Niquerson, incubándolo por 48 horas a una temperatura de 36.5°C. Entre los resultados obtenidos dos de las quince muestras dieron positivo a contaminación y proliferación de bacteria demostrando la presencia de Staphylococcus pseudintermedius y Rhizobium

radiobacter, mientras que los conos restantes no mostraron ningún tipo de crecimiento bacteriano comprobando una condición aséptica para su uso (Murillo, 2019).

De otro lado Chang, Cabrera y García (2020) realzaron una investigación aplicada para determinar la contaminación bacteriana de conos de gutapercha en una clínica odontológica docente, el análisis se realiza sobre 16 conos gutapercha tipo beta, de empaques cerrados bajo medidas asépticas, los cuales fueron dispuestos en viales de 2ml de caldo BHI y posteriormente fueron sembrados en agar BHI, así como en medios selectivos de agar manitol salado y agar MaConkey. Pasadas 24 horas de incubación a 37°C se realiza la lectura de las placas y el contedo de UFC, el mismo procedimiento siendo ocupado para tiempos de 24, 48 y 72 horas lo que da un total de 64 conos de gutapercha tipo beta. Se observa dentro de los resultados que el nivel de contaminación bacteriana fue el mismo, tanto entre las diferentes proveedurías como a las 0, 24, 48 y 72 horas, solo se identificaron diferencias entre los tiempos de proveeduría número cinco, a manera de conclusión se evidencia que en su mayoría (62%) los organismos identificados se reconocen como Gram Negativos. (Chang, Cabrera, & García, 2020)

1.2. Nacionales

Nacif (2017) realizo un estudio para evaluar la ocurrencia de la contaminación de los conos de gutapercha almacenados en las cajas manipuladas por odontólogos y especialistas; la metodología empelada tomo una muestra de 3º tubos los cuales se incubaron durante 21 días a 37 °C en aerobiosis, y se analizaron diariamente para observar la aparición de turbidez. Los tubos que presentaron turbidez durante la inspección visual fueron llevados al vórtex durante 30 s. Las soluciones fueron expuestas a una solución salina estéril con diluciones de

diez veces hasta 10^{-3} . Para la identificación bacteriológica selectiva durante la evaluación cualitativa, se insertaron alícuotas de 0,1 ml de esas soluciones en agar cistina-lactosa deficiente en electrólitos (CLED) (Merck, Darmstadt, Alemania); los resultados indicaron que 9 cajas (9/30 = 30%) presentaron contaminación bacteriana en la tinción Gram, 4 muestras (4/15 = 13%) presentaron contaminación bacteriana, y 5 muestras (5/30) no la presentaron. Cuatro cajas (4/15 = 13%) provenían de consultorios de odontólogos, y cinco (5/15 = 17%) de especialistas (16,6%). No hubo diferencias significativas en cuanto al nivel de contaminación de los conos con respecto a su origen (p > 0,05).

Pardo y Rodríguez realizaron una investigación para evaluar la contaminación microbiana de los conos de gutapercha en uso clínico en Bucaramanga y su área metropolitana, y cómo estos conos pueden influir en el éxito del tratamiento. Los centros de salud escogidos para este estudio se seleccionarán de forma aleatoria, donde en condiciones de esterilidad se tomaron los conos calibre 15 y 40 a partir de cajas que se encuentren en uso, estos se llevaron inmediatamente a la cámara de flujo laminar, donde se realizó una homogenización del medio líquido para así ser llevada a los agares MacConckey y Plate Count, durante 24 horas a 37°c y se realizó el recuento UFC/ml. Todos los controles positivos mostraron resultados positivos en las primeras 24 horas. Los controles negativos fueron seguidos durante 24 horas, y demostraron la eficacia de la esterilización. Se encontró que el 25% de los conos de gutapercha presentaron crecimiento microbiano. El estudio concluye que los conos se pueden contaminar fácilmente si son manipulados o almacenados incorrectamente, teniendo una mayor influencia según el calibre del cono (Pardo & Rodríguez, 2017).

2. Planteamiento del problema

El microbiota oral se reconoce como uno de los ecosistemas microbianos más antiguos en ser reconocidos; actualmente las técnicas de secuenciación y el análisis del genoma a gran escala ha permitido construir bases de datos genómicas y realizar linajes microbianos específicos y conocer que no solamente hacen parte del microbiota oral humana unos 600 o 700 taxones, sino que se estima que el número de filotipos podría estar alrededor de 19000 (Serrano, Sánchez, & Cardona, 2014). Las bacterias que se aíslan con más frecuencia de los sitios infectados de la cavidad oral, y que son también patógenos potenciales, forma un grupo pequeño de microorganismos gramnegativos, entre los que se incluyen los siguientes: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus, Campylobacter spp., Capnocytophoga spp., Eikenella corrodens, Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia y el grupo-Streptococcus milleri. E. corrodens se reconoce como un microbio patógeno oportunista en la cavidad oral (Colombia Médica, Vol 37, No 3 2006)

También la disposición de la comunidad bacteriana en el sistema de conductos son microorganismos oportunistas y patógenos presentando un problema cuando recolonizan y sobreviven en espacios particulares, permitiendo que se produzca una infección localizada e incluso migre a cualquier otro lugar del cuerpo. Microorganismos como el Enterococcus faecalis, forma biopelículas en conductos radiculares ocasionando necrosis y periodontitis apicales primarias y persistentes (Siqueira, 2010).

El uso de material endodóntico inadecuadamente esterilizado puede inducir a fracasos en la terapia, debido a que se corre riesgos de introducción de microorganismos en los sistemas de conductos radiculares. Algunos autores manifiestan que es necesario

desinfectar la gutapercha antes de la obturación de los conductos debido a que pueden aumentar el potencial de contaminación; siendo importante el uso de desinfectantes eficaces (Rodríguez, 2013) (Schmitter, Balke, Hassel, Ohlmann, & Rammelsberg, 2007).la desinfección se puede llevar a cabo de diferentes formas, por ejemplo, sumergir los conos en NaOCl al 5.25% por 1 minuto, usar NaOCl al 2.5% por el mismo tiempo, o soluciones de clorhexidina al 2% o ácido peracético al 1%.

La presencia y persistencia de los microorganismos en los conductos radiculares (tratamientos de conducto) es la principal causa de fracaso en el tratamiento endodóntico, de hecho, una deficiente restauración, limpieza inadecuada y de conformación, obturación deficiente del conducto radicular, así como el uso de materiales contaminados para estos procedimientos podrían ser una posible explicación para este problema (Morales & BB, 2020).

Ahora bien, en los conductos radiculares se usa generalmente conos Gutapercha, los cuales, gracias a sus características como biocompatibilidad, estabilidad dimensional, radiopacidad y termoplasticidad garantizan una estabilidad al procedimiento.

A pesar de que los conos de Gutapercha que se producen en condiciones asépticas y se venden en paquetes sellados (6), su desinfección es cuestionable, ya que pueden ser fácilmente contaminados durante el manejo normal del proceso (Taha, 2017)

Por otra parte, se han encontrado estudios que suscitan controversia y debate en torno a la necesidad o no de la esterilización de los conos de gutapercha, ya que el material con el cual están hechos puede salir afectado; se afirma que la contaminación ocurre sobre todo en la manipulación continua que se les da a las cajas, cuyo manejo muchas veces

puede ser inadecuado por parte del profesional o por un agente de contaminación accidental (Barreto, 2019)..

Teniendo en cuenta lo anterior, surge el siguiente interrogante para abordar la investigación

¿Existen bacterias Gram negativas presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la universidad Antonio Nariño?

3. Justificación

En odontología, el manejo de asepsia es fundamental para evitar las infecciones cruzadas, los fracasos postratamientos, la innecesaria prescripción de antibióticos y las complicaciones que ponen en riesgo la vida del paciente. En endodoncia se realizan esfuerzos durante la instrumentación y desbridamiento de los conductos radiculares para eliminar las bacterias de la pulpa infectada, pero así mismo debe mantener un control de microorganismos en los materiales utilizados durante el procedimiento. Por tanto, resulta necesario que se desarrollen estudios que demuestren las características microbiológicas de los materiales utilizados en las clínicas y de ser necesario tomar medidas que mejoren la calidad de los procesos.

Hoy en día los tratamientos endodónticos no se enfocan en eliminar una sola bacteria más bien en una estructura asociativa de una o varias estirpes bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos auto producida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato llamado biofilm o biopelícula, definida por la OMS como ecosistema bacteriano proliferante y enzimáticamente activo.

Es una labor ardua, casi utópica, teniendo en cuenta esta definición, conseguir una esterilización completa del conducto radicular, ya que múltiples son los agentes patógenos que se forman y es justo en la última irrigación que se busca antagonizar sus efectos. Una vez ejecutado este procedimiento y el conducto se encuentra listo para la obturación es trascendental evitar la recontaminación del medio.

Ingle consideraba que "lo que sale del conducto es mucho más importante de lo que entra en el". Pero si al momento de hacer la conometría o la obturación con conos de

gutapercha, que sin lugar a duda es el material sólido más utilizado, no pasa por el debido proceso de desinfección el procedimiento de irrigación final pierde su valor.

Por ende, la importancia de este estudio radica en ofrecer un aporte científico a la comunidad de la facultad de odontología en la Universidad Antonio Nariño, para saber qué tipo de agente microbiológicos o bacterianos se encuentran en la superficie de los conos de gutapercha, que se les coloca a los pacientes que requieran un tratamiento endodóntico.

Además, es importante conocer acerca de estos microrganismos porque pueden provenir de una infección primaria por parte del paciente, o también se pueden estar introduciendo durante el proceso de manipulación en la endodoncia.

El frecuente hallazgo de Enterococcus faecalis en canales radiculares de dientes con endodoncias fallidas implica que esta especie está íntimamente involucrada en la patogénesis y la persistencia de la periodontitis apical. Esta bacteria es frecuentemente aislada, tanto en casos de infecciones endodónticas primarias como secundarias; Estos hallazgos concuerdan con los reportados por Sundqvist et al que encontraron monoinfecciones en 19 de 24 dientes rellenos de raíz con crecimiento microbiano, 58% de anaerobios facultativos y 87% de microorganismos Gram positivos ; con esta investigación se busca generar un conocimiento tanto para los profesionales en formación, como para la clínica de adultos en la facultad de odontología de la universidad Antonio Nariño, dando a conocer la presencia de estos microrganismos y así reforzar las acciones de asepsia, evitar la introducción de los mismos durante los procedimientos, e implementar medidas en cuanto a los materiales utilizados y a utilizar, para que no contribuyan a la reinfección o a las patologías endodónticas.

4. Objetivos

4.1.Objetivo General

Determinar las Bacterias Gram negativas, presentes en los conos de gutapercha en las cajas de manipulación de la clínica de adultos III de la facultad de odontología de la universidad Antonio Nariño

4.2. Objetivo especifico

- Verificar la condición bacteriana Gram negativa de las cajas de conos de gutapercha procedentes del laboratorio.
- Identificar el grado de contaminación de las cajas de conos de gutapercha antes de ser usados en procedimientos endodónticos en la clínica de adultos de la UAN-sede Neiva
- Identificar en qué momento ocurre la mayor contaminación de los conos de gutapercha en sus envases estériles o su posible contaminación una vez abiertos durante la manipulación y almacenamiento de estos.

5. Marco referencial

5.1. Generalidades

5.1.1. Endodoncia

El tratamiento de endodoncia tiene como objetivo eliminar los microorganismos del sistema de conductos radiculares y prevenir la introducción de nuevos patógenos, como los conos de gutapercha esto fue debido a Hell en 1850 y posteriormente perfeccionada por J. Foster Fragg, y en 1867 por Bowman en la fabricación de los conos usados para el relleno del conducto radicular en el tratamiento endodóntico.

Clínicamente el tratamiento inicia con la apertura cameral, en donde se retirará todo material dental cariado o restauraciones que impiden el fácil ingreso de las limas, este procedimiento también ayudará a que el especialista tome una longitud de trabajo más exacta; una vez realizado el acceso se procede a la localización de la entrada a los conductos, en este punto se debe considerar y tomar en cuenta la anatomía dentaria interna que servirá como ayuda para la localización de estos (Soares, 2002).

Una vez localizados los conductos, el procedimiento a seguir será retirar el tejido pulpar inflamado o necrosado que se encuentra dentro del canal radicular, para eso se emplean 14 una serie de instrumentos (limas) que nos servirá de manera mecánica a la eliminación de material contaminado, que puede ser: pulpa infectada, bacterias, dentritos y otros materiales que ingresan al canal (Hinojosa, 2017).

5.1.2. Conos de Gutapercha

El material Gutapercha se reconoce como una goma parecida al caucho, traslúcida, sólida y flexible, fabricada con base en latex proveniente de árboles de género Palaquium originario del archipiélago Malayo conformado por las islas de Malasia, Indonesia, Borneo, Timor, Java y Papúa y se ha ocupado en odontología desde el siglo XIX. Los conos de gutapercha ocupados como material de relleno de los conductos radiculares han demostrado tener una composición como se evidencia a continuación:

- Gutapercha (18.9 a 21.8%)
- Oxido de zinc (56.1% a 75.3%) que proporciona rigidez
- Sulfatos de metales pesados como bario (1.5 a 17.3%) que son los radiopacadores
- Ceras y resinas (1 a 4.1%) que son plastificantes

La gutapercha se presenta en tres formas cristalinas: alfa, beta y gamma, que confieren diferentes propiedades a cada tipo de gutapercha. La forma alfa es natural y de baja viscosidad, a baja temperatura. La forma cristalina beta se obtiene por calentamiento de la forma alfa y su enfriamiento brusco. Su temperatura de fusión y viscosidad son altas. Es bajo esta forma cristalina que se presenta la gutapercha de los conos convencionales. El cloroformo, el xylol y el benceno son los mejores solventes para la gutapercha (Cohen, 1988).

Actualmente se reconocen como uno de los materiales endodónticos más ocupado, y se pueden fabricar de forma sintética, con material de relleno, agentes radiopacos, colorantes, antioxidantes, preservativos y plastificantes. Este material fue introducido en el campo endodóntico en 1867, a comienzos del siglo XX surgieron los conos fabricados con este material, siendo al día de hoy el material más utilizado en la obturación de conductos

radiculares, tal vez por la facilidad de su empleo y por lo bien que tolera los tejidos vivos. Antiguamente los conos de gutapercha se fabricaban con medidas arbitrarias, clasificándose en finos, medianos y gruesos, largos y cortos; luego se confeccionaron numerados. En la actualidad tienen prioridad los estandarizados al igual que los instrumentos, obteniéndose de esta manera una mayor concordancia con el diámetro del último instrumento ocupado en la preparación del conducto (Mejia, 2012).

Debido a su función los conos de gutapercha pueden ser divididos en principales o secundarios. En las técnicas que requieren del ajuste apical del cono se denomina conos principales o conos maestros a aquellos que sellan los 2 o 3 mm apicales del conducto. Los conos secundarios o auxiliares son necesarios para rellenar los espacios existentes entre el cono principal y las paredes en el resto del conducto radicular, para este objeto se manejan conos estandarizados o bien puntas de gutapercha de gran conicidad (Mejia, 2012).

5.1.3. Bacterias Gram negativo

Las bacterias se clasifican debido al aspecto que tienen en el microscopio y otras características, las bacterias gramnegativas se clasifican por el color que adquieren después de aplicarles un proceso químico denominado tinción de Gram, dónde adquieren un color rojo, ello debido a sus paredes celulares, las cuales se diferencian las bacterias gramnegativas de las grampositivas. Causando diferentes tipos de infecciones, y hay distintos tipos de antibióticos eficaces contra ellas (Mollinedo Patzi & Gonzáles Villalobos, 2014).

Las bacterias gramnegativas están encerradas en una cápsula protectora. Esta cápsula ayuda a evitar que los glóbulos blancos que son los encargados de combatir las

infecciones infieran las bacterias. Bajo estas capsulas las bacterias gramnegativas tienen una membrana externa que las protege contra ciertos antibióticos como la penicilina. Al deteriorarse, esta membrana libera sustancias tóxicas llamadas endotoxinas, que contribuyen a la gravedad de los síntomas en las infecciones por bacterias gramnegativas (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

Algunas de las infecciones producidas por bacterias comprenden las siguientes:

- Brucelosis
- Infecciones por Campylobacter
- Enfermedad por arañazo de gato
- Cólera
- Infecciones por Escherichia coli (E. coli)
- Infecciones por Haemophilus influenzae
- Infecciones por Klebsiella
- Enfermedad del legionario
- Tosferina (pertusis)
- Peste
- Infecciones por Pseudomonas
- Salmonella
- Shigelosis
- Tularemia
- Fiebre tifoidea

Las bacterias gramnegativas son cada vez más resistentes a los antibióticos, y pueden ser resistentes debido a la forma natural a determinados antibióticos, la adquisición de genes de bacterias que se han vuelto resistentes y por la mutación de los genes (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

6. Diseño metodológico

6.1.Tipo de estudio

Para el desarrollo del presente estudio se llevará a cabo un diseño experimental. Según Hernández Sampieri et al (2014) un diseño es un plan que se desarrolla para poder obtener la información que se busca en una investigación y así responder a la pregunta planteada, en este caso, se busca saber si hay bacterias Gram negativas presentes en conos de gutapercha en las cajas manipuladas de la clínica de adultos de la UAN procedentes de los laboratorios.

El estudio se desarrolló en el laboratorio de especialidades Clinizad ubicado en la ciudad de Pasto, pero cuenta con sedes en Ipiales y Cali, debido a que este cuenta con los elementos necesarios para la identificación no solo de los microorganismos que están presente en los conos de gutapercha, sino también precisar si existe resistencia por parte de alguno de estos hacia los antibióticos.

Este laboratorio se reconoce como idóneo toda vez que cuenta con la certificación *Bureau Veritas* manteniéndola desde 2013, dónde se identifica que se cuenta con la capacidad para prestación de servicios de laboratorio clínico de primer, segundo y tercer nivel de complejidad, en las áreas de biología molecular, citometría de flujo, especialidades, hematología, infecciosas, inmunología, microbiología, microscopia, parasitología y química.

Los resultados fueron enviados sellados y con doble empaque, aclarando en la empresa transportadora la relevancia de mantener una temperatura no superior a los 32°C.

6.2. Criterios de selección

6.2.1. Criterios de inclusión

Se analizará únicamente los conos provenientes de las cajas de conos de gutapercha de 1° serie (15-20-25-30-35-40) totalmente sellados de la marca Dentsply/Maillefer, que poseen los estudiantes de séptimo semestre en sus cajas o loncheras de materiales.

6.2.2. Criterios de exclusión

Conos de gutapercha por fuera de la caja donde provienen o que no presente embalaje plástico

Conos que lleguen al laboratorio abiertos o manipulados.

Estudiantes de clínica I, II, IV, V

Cajas de conos de gutapercha sin registro Invima

Cajas de cono con fechas vencidas

6.3. Población y muestra

La muestra es de tipo no probabilística por conveniencia, dado que analizaron 28 cajas de conos de gutapercha de 1° serie (15-20-25-30-35-40) de Dentsply/Maillefer en el que se tendrá en cuenta 1 cono.

6.4. Variables

VARIABLE	INDICE	INDICADORES	S	TIPO	ESCALA
Contaminación		Presencia	del	Cualitativo	Nominal
microbiana de conos de		crecimiento			
gutapercha					

		microbiano o ausencia de el		
Bacterias Gram negativo	Tinción	Gram +	Cualitativo	Nominal
	Gram	Gram -		

6.5. Procedimiento para análisis de datos

El proceso de recolección de muestras se realizó en turno de los estudiantes de séptimo semestre en horario 5 pm, a 28 estudiantes en clínica, tomando los conos de gutapercha de primera serie de la marca Maillefer que tuvieran en sus loncheras de materiales a través de pinzas de básicos estériles, guantes de látex estériles y tubos de ensayo estériles donde fueron empacados, sellados, una vez recolectada la muestra se empacaron en una bolsa estéril y fueron enviados al laboratorio.

Las muestras recolectadas se cultivaron en medio "agar sangre", el cual es un medio de aislamiento especialmente diseñado para facilitar el crecimiento de CROCREIN microorganismos exigentes, bacterias Gram gran negativas y todas las especies en muestras de origen clínico.

Aquí las bacterias pueden tintarse mediante "tinción de Gram" ya sea tinciones azul violeta (tinciones moradas) y safranina (tinciones color rosa /rojo /grosella), a partir de la tinción de las paredes celulares de las bacterias Gram positivas y Gram negativas; para el caso de las Gram negativas estas se visualizan de color rosa, rojo o grosella.

El fundamento del Agar Sangre parte de la infusión de musculo de corazón y la peptona otorgan al medio un alto valor nutritivo que permite el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, aun de aquellos que son nutricionalmente exigentes. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el Agar es el agente solidificante.

Para el uso del Agar de sangre es necesario suspender 40 g del polvo, que contiene infusión de musculo de corazón, peptona, cloruro de sodio y Agar, conservando un pH entre 7.1 y 7.5, en 1 litro de agua purificada. Se dejó reposar por cinco minutos y se mezcla perfectamente hasta la obtención de una suspensión homogénea. Se coloca la solución con agitación frecuente a calentar, y hervor por un minuto, luego se esteriliza a 121°C durante 2%.

Para la preparación del Agar de sangre se agrega 5-10% de sangre ovina desfibrinada estéril al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50°C para homogenizarse y distribuirlo en las placas Petri estériles, dónde se colocan las muestras de los conos de gutapercha.

Adicionalmente, con la intención de buscar la mayor cantidad de microorganismos se realiza el análisis de las muestras se realiza un cultivo adicional en tioglicolato, el cual es un medio de cultivo que tiene por sus componentes la calidad nutricional del caldo tripteína soya, el cual permite el desarrollo de una amplia variedad de microorganismos incluidos los nutricionalmente exigentes. Adicionalmente se observa que las bacterias estrictamente aerobias, crecen en la parte superior, mientras que las anaerobias facultativas o anaerobias estrictas crecen en las profundidades del medio.

Las sustancias reductoras como el tioglicolato de sodio y sisteína proporcionan una anaerobiosis suficiente y debido a los grupos SH de estos compuestos se neutralizan los efectos bacteriostáticos de los derivados mercuriales, arsenicales y de otros metales pesados. La presencia de una baja cantidad de agar retarda la dispersión de CO2 y O2.

En general este permite que los organismos mayormente los anaerobios sean identificados debido a que posee un indicador redox que es la resazurina de sodio con

color rosa fucsia en presencia de oxigeno. Debe ser conservado a una temperatura entre los 4-8°C en su empaque original, evitando la exposición a la luz directa, no debe ser congelado con la intención de preservar el medio.

Para su procedimiento fue necesario sembrar los conos de gutapercha en el caldo ocupando un asa calibrada de 10 ul, a 35-37°C durante 24 horas.

6.5.1. Análisis de los datos:

Para el análisis de la información recolectada desde las pruebas de laboratorio, en un primer momento se pasa cada uno de los resultados de cada prueba a una tabla Excel permitiendo identificar cuales de estas presentan crecimiento de agentes microbianos sean estos gramnegativos o grampositivos.

Posteriormente se identifica el porcentaje de muestras que han tenido contaminación, el tipo de microorganismos más comunes, y si existe alguna resistencia a los antibióticos por parte de estas para ahondar en el proceso de análisis.

Luego de que la información se ha recolectado desde la tabla Excel se realiza un proceso de contraste entre los antecedentes y los hallazgos con la intención de identificar el momento que en mayor medida puede propender a la contaminación de los conos de gutapercha.

6.6. Aspectos éticos de la investigación

Según la resolución 8430 de octubre 4 de 1993 que en el titulo II "de la investigación en seres humanos", Capitulo 1 "de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos", articulo 11 define la investigación sin riesgo como aquella en la que no se

realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables biológicas, fisiológicas, sicológicas o sociales de los individuos que participan en el estudio (MINSALUD, 1993).

Adicionalmente, se tiene en cuenta el Artículo 63 de la resolución 8430 que obedece al titulo IV referente a la Bioseguridad de las investigaciones y al capítulo I de la investigación con microorganismos patógenos y material biológico que pueda contenerlos. Teniendo en cuenta que las instituciones dónde se haga investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos debe tener las siguientes características:

- a) Contar con las instalaciones y equipo de laboratorio de acuerdo con las normas técnicas, que al efecto emita este Ministerio, que garanticen el manejo seguro de tales gérmenes.
- Elaborar un manual de procedimientos para los laboratorios de microbiología y ponerlo a disposición del personal profesional, técnico, de servicios y de mantenimiento.
- c) Adiestrar al personal sobre la manipulación, transporte, utilización, descontaminación y eliminación de desechos.
- d) Determinar la necesidad de vigilancia médica del personal que participa en las investigaciones y en su caso, implementarla.
- e) Establecer un programa de supervisión y seguimiento de seguridad en los laboratorios de microbiología.

- f) Disponer de bibliografía actualizada y un archivo sobre la seguridad de los equipos, la disponibilidad de sistemas de contención, normas y reglamentos, riesgos involucrados y otros aspectos relacionados.
- g) Cumplir con las demás disposiciones que determine este Ministerio.

Todos elementos que son cumplidos a cabalidad por Clinizad, clínica de especializades.

7. Resultados y discusión

A continuación, se presentan los resultados obtenidos del análisis de las 28 cajas de conos de gutapercha de la referencia de 1° serie (15-20-25-30-35-40) totalmente sellados de la marca Dentsply/Maillefer, como se indica a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Contaminación en conos gutapercha

Cantidad de muestras	Crecimiento de Bacterias gram positivas o gram negativas	Tipo de Bacteria	Observaciones
2	-	Pantoea agglomerans	resistentes pero su Marcador de resistencia demuestra posible productora de Beta Lactamasa tipo AmpC
2	_	Burkholderia cepacia	Resistente al Antibiótico Ceftazidime
2	-	Myroides odoratus/odoratimimus	No presenta
1	_	Pantoea agglomerans	No presenta
1	_	Kingella kingae	No presenta
20	No	No presenta	No presenta

Fuente: Autor a partir de resultados medio Agar Sangre

De acuerdo con la tabla 1 no se identifican presencia de bacterias Gram negativo en la muestra de estudio

Pantoea agglomerans
Burkholderia cepacia
Myroides odoratus/odoratimimus
Pantoea agglomerans
Ringella kingae
No presenta

Figura 2. Contaminación de las muestras

Fuente: Autor a partir de resultados medio Agar Sangre

De la totalidad de muestras analizadas (n=28), el 28,5% no presentaron contaminación, en su totalidad por bacterias gramnegativas, consecuentemente el 71.42% no presentaron ningún tipo contaminación lo que indicaría un adecuado manejo.

Dentro del proceso de identificación de bacterias Gramnegativas fue necesario además de ocupar un medio solido como es el Agar de Sangre, descrito con antelación en el proceso metodológico, acompañar este proceso de un análisis líquido que se realiza para el caso con caldo de tioglicolato, debido a que como un aporte adicional, se precisó la necesidad de identificar qué tipo de bacteria era, para definir si la contaminación se había presentado en la manipulación del cono o en el contacto con las muestras biológicas.

Para esta identificación es necesario considerar que una de las principales bacterias evidenciadas corresponde con la *Pantoea agglomerans* la cual es un bacilo Gram negativo que causa esencialmente infecciones nosocomiales, descrito en casos de meningitis neonatal y artritis séptica, la cual crece en medios ricos en glucosa, por lo que ocasionalmente genera infecciones relacionadas con la intravenosa de sueros, y que puede

generar brotes de bacteriemia en los hospitales, se ha referido la resistencia a antibióticos betalactámicos, que puede motivar el carbanemes en algunos casos. Para el caso, desde el laboratorio se encuentra resistencia de este microorganismo a Ceftazidime (Cruz, Cazacu, & Allen, 2007; Dutkiewicz, Mackiewicz, Lemieszek, Golec, & Milanowski, 2016).

Adicionalmente se encuentra que la *P. agglomerans* es una enterobacteria aislada de forma frecuente en plantas, frutas y vegetales que se ha encontrado en heces humanas y de animales, a continuación, una indica una muestra de este patógeno y su vista desde un microscopio (Dutkiewicz, Mackiewicz, Lemieszek, Golec, & Milanowski, 2016).



Figura 3. Pantoea agglomerans

Fuente: Segado, et al, 2012

Dentro del área odontológica, de acuerdo con el estudio de Gaetti, et al (2010) se puede identificar que, este agente patógeno generalmente no tiene aparición en la cavidad bucal, consecuentemente puede concluirse la existencia de una contaminación externa específicamente en el análisis de esta bacteria.

De otro lado también se encontró presencia de *Burkholderia Cepacia* en el 7% (n=2) de las muestras, este es un complejo que se encuentra conformado por 22 especies conocidas como patógenos oportunistas en personas inmunocomprometidas, especialmente en aquellas que tienen fibrosis quística. También suelen aislarse de infecciones nosocomiales y su erradicación es compleja debido a la capacidad que tienen para resistir los antibióticos, para el caso se evidencia que este patógeno que, aunque no existe indicador de resistencia a antibióticos, si se reconoce a esta bacteria como posible productora de beta lactamasa tipo AmpC, las cuales son enzimas sintetizadas por las bacterias que son un mecanismos de defensa contra los antibióticos beta lactámicos (Coenye, Vandamme, Govan, & LiPuma, 2001).

El mecanismo de acción se fundamenta en la unión irreversible al antibiótico, inhabilitando la capacidad de romper la pared bacteriana y permitiendo a la bacteria continuar con su crecimiento, aun en presencia del antibiótico. En la actualidad, dada la gran cantidad de diferentes betalactamasas que se han identificado, se implementaron dos clasificaciones, la de Ambles que incorpora caracterización molecular, y la Bush, que incluye parámetros fenotípicos (LiPuma, 2005).

Figura 4. Burkholderia cepacia



Fuente: Thrmofisher, 2023

La *B. Cepacia* comprende en general 24 especies que se definen como patógenos oportunistas, con una distribución ambiental amplia, se ha reportado a nivel internacional como uno de los principales contaminantes de productos farmacéuticos estériles y no estériles, especialmente los de contenido acuoso. Estos se definen como Gramnegativos, móviles por presencia de uno o más flagelos, no formadores de esporas, aeróbicos y no fermentadores de glucosa (Mahenthiralingam, Urban, & Goldberg, 2005).

Desde los resultados se puede inferir que la contaminación por *B. Cepacia* corresponde en buena medida de una combinación propia del cono gutapercha, lo que implicaría que su manipulación fue apropiada (Mahenthiralingam, Urban, & Goldberg, 2005).

Así mismo, se reconoce presencia de *Kingella kingae* el cual es un colonizador común de la orofaringe en niños de edades tempranas que puede dar lugar a una infección invasiva, principalmente infecciones osteoarticulares. La infección invasiva afecta en su

mayor parte a niños de corta edad, sobre todo menores de dos años. Las infecciones por *K. kingae* son probablemente infradiagnosticadas, dada la dificultad de crecimiento de esta bacteria en los medios de cultivo habituales y la falta de búsqueda sistemática mediante técnicas moleculares. Según documentos recientes, es la bacteria que causa con más frecuencia infecciones osteoarticulares en niños (Illán, et al, 2018).

La *K. kingae* es uno de los microorganismos gramnegativos más frecuentes en la vida humana, causante de infecciones oseas, endocarditis y bacteremia y algunas ocasiones, causa también neumonía, apiglotitis, meningitis y abscesos e infecciones oculares. Como se ha mencionado con antelación, los más afectados son los niños, entre 6 meses y 4 años (Principi & Esposito, 2015).

Figura 5. Kingella kingae



Fuente: Araya y Camponovo, 2006

Cómo se evidencia en la figura anterior la *K. kingae* tienen extremos cortos, no poseen flagelos, pueden agruparse en pares, e inclusive cadenas, y en ocasiones resisten la decoloración de la tinción de Gram, confundiéndose con grampositivos. De manera generalizada desde el estudio no se encuentra resistencia a ningún tipo de antibiótico y

debido a su presencia en las partes óseas del ser humano se puede argumentar su contaminación desde la manipulación en el laboratorio (Yagupsky, 2015).

Finalmente es necesario reconocer la presencia de *Myroides* odoratus/odoratimimus en el 14% de las muestras (n=2). Frente a su análisis es necesario reconocer que las infecciones por este tipo de bacterias son muy poco frecuentes y generalmente se generan en la piel y tejidos blandos de pacientes que tienen algún grado de inmunocompromiso. Estos microorganismos son comunes y se pueden aislar sustancialmente en el agua, el suelo, los alimentos y en las plantas de tratamiento de aguas residuales, no obstante, durante los últimos 20 años se han encontrado en infecciones del tracto urinario, infecciones de piel y tejidos blandos, siendo los antibióticos la principal respuesta para tratar este tipo, resultando difícil la producción de una biopelicula y la resistencia intrínseca del organismo en muchas clases de antibióticos (White, y otros, 2001).

De manera generalizada es relevante considerar que la contaminación bacteriana de los conos de gutapercha se produce de manera generalizada por la constante exposición que se tiene de los mismos durante el trabajo clínico, es decir, debido a su manipulación. Si bien, el proceso de análisis demuestra una contaminación relativamente baja del 29% lo cierto es que es necesario volverse mucho más consiente con respecto a la bioseguridad, manteniendo un equilibrio entre el proceso de manipulación de los conos de gutapercha, y el manejo de sus paquetes.

Otra posible explicación al porcentaje de contaminación se debe precisamente a que los conos de gutapercha son los elementos más ocupados en procesos endodónticos, estos se acaban rápidamente lo que hace que no sean susceptibles de contaminación por

medio ambiente, en consecuencia, una mayor exposición se traduce en mayor contaminación.

8. Conclusiones

De acuerdo con el estudio realizado se puede construir las siguientes conclusiones:

- Los conos de gutapercha se reconocen como uno de los elementos endodónticos más
 ocupados en la actualidad, debido a lo cual su contaminación puede ser inferior por
 el poco tiempo que se encuentran en uso, sin que ello implique necesariamente la
 disminución de protocolos.
- La microbiota de la boca es supremamente relevante para el mantenimiento no solo
 de la salud oral sino de la salud general, debido a lo cual el estudio de los
 microorganismos que pueden ponerse en contacto con la misma resulta de vital
 importancia.
- Dentro de los hallazgos se logra identificar que el porcentaje de contaminación es
 relativamente bajo, siendo las principales bacterias *Pantoea agglomerans*, *Burkholderia Cepacia Kingella kingae Myroides odoratus/odoratimimus* las cuales
 si bien representan una amenaza para la salud humana no se encuentran
 tradicionalmente en la cavidad bucal.
- Una preocupación adicional que aparece en el estudio, que, si bien no hace parte del mismo, es precisamente que en algunas bacterias existe resistencia a los antibióticos lo que implicaría la realización de tratamientos mucho más intrincados para la eliminación de las mismas.
- Se reconoce la necesidad de darle continuidad a este tipo de procesos para poco a
 poco ir reconociendo cuales son las causas de las principales enfermedades
 endodónticas, y consecuentemente sus posibles soluciones.

9. Anexos

Anexo 1. informe de resultados



VALORES DE REFERENCIA



Clinizad Pasto: Sede Operativa San Ignacio Cra. 33 # 12a 32 – 44, Local 203 7 24 43 87 Opción cero (0 NOMBRE: N. DE ORDEN: 03081073 DOCUMENTO: EDAD-GENERO: LABORATORIOS DE ESPECIALIDADES CLINIZAD SAS - CLINIZAD EMPRESA: FECHA ATENCION: { SEDE: San Ignacio FECHA IMPRESION: PASTO CONSULTA EXTERNA MUNICIPIO: SERVICIO:

RESULTADO

MICROBIOLOGIA

EXAMEN

CULTIVO PARA MICROORGANISMOS - GERMENES COMUNES (MIC)

Tipo de Muestra: Guatapercha (Tratamiento de conducto)

Cultivo negativo en medio solido (agar sangre) y liquido (caldo tioglicolato). No hay crecimiento de microorganismos gram negativos o gram positivos.



MICROBIOLOGIA

CULTIVO PARA MICROORGANISMOS - GERMENES

COMUNES (MIC) Tipo de Muestra: Gualapercha (Tratamiento de conducto)

Micropropanismo: Kingella kingae

Su habital normal son has vice respiratorias adas en humanos. Es un patiçaeno oportunista, patificalamente en mitras jóvenes. Se aisia de sanore, hueso, últeras comesies, tidavente foneses, liquido sinovial y nasofaringe. La mayoria de las capas son sensibles a muchos agentes antimicrobianos, induvendo la penicilina.

















10. Referencias Bibliográficas

- Alghamdi, F. &. (2020). The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. . Cureus , 12(3), e7257. doi:https://doi.org/10.7759/cureus.7257
- Barreto, L. (2019). Control bacteriano de conos de gutapercha de tres marcas comerciales. Obtenido de Trabajo de grado Facultad Piloto de Odontología Universidad de Guayaquil:

 http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39996/1/BARRETOluis.pdf
- Carvalho, C., & Batista, S. (2020). *Decontamination of Gutta-percha Cones employed in Endodontics*. Porto Allegre: PUBMED.
- Chang, A., Cabrera, M., & García, C. (2020). *Determinación de contaminación bacteriana* en conos de gutapercha en una clínica dental docente. Lima, Perú: Universidad Cientígica del Sur.
- Coenye, T., Vandamme, P., Govan, J. R., & LiPuma, J. J. (2001). *Taxonomy and identification of the Burkholderia cepacia complex*. Journal of clinical microbiology, 39(10), 3427-3436.
- Cohen, E. (1988). *ENDODONCIA*. *LOS CAMINOS DE LA PULPA*. Buenos aires: 4a. edición ed. Médica Panamericana.
- Corona-Tabares, M. G., Barajas-Cortez, L., Villegas-Medina, O., Quiñónez-Zárate, L. A., & Gutiérrez-Dueñas, I. (2014). *Manual de Endodoncia básica*. México: Ecorfan.
- Cruz, A. T., Cazacu, A. C., & Allen, C. H. (2007). *Pantoea agglomerans, a plant pathogen causing human disease*. Journal of clinical microbiology, 45(6), 1989-1992.
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., & Milanowski, J. (2016). Pantoea agglomerans: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. . Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 23(2).
- Espinoza, C. (2019). "Efectividad de desinfectantes odontológicos en conos de gutapercha. Universidad Nacional de Chimborazo, 2019". Riobamba (Ecuador): Universidad de Chimborazo.
- Gómez, K. (2018). GRADO DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA DE LOS CONOS DE GUTAPERCHA UTILIZADOS EN LA CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD DE HUÁNUCO 2017. Lima (Peru): Universidad de Huanaco.

- Hinojosa, M. (2017). EFICACIA DE DIFERENTES SOLUCIONES DESINFECTANTES EN CONOS DE GUTAPERCHA ANTES DE LA OBTURACION ENDODONTICA EN LA CLINICA ODONTOLOGICA DE LA UNIVERSIDAD ANDINA NESTOR CACERES VELASQUEZ, JULIACA. Revista científica de investigación, 5-12.
- LiPuma, J. J. (2005). *Update on the Burkholderia cepacia complex*. Current opinion in pulmonary medicine, 11(6), 528-533.
- Marceliano, A. (2017). *Contaminación de los conos de gutapercha para uso clinico*. Medellin: Univerisdads de antioquia.
- Marceliano, N. (2017). Contaminación de los conos de gutapercha para uso clínico por parte de odontólogos y endodoncistas. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 28(2), 327-340.
- Mahenthiralingam, E., Urban, T. A., & Goldberg, J. B. (2005). *The multifarious*, multireplicon Burkholderia cepacia complex. Nature Reviews Microbiology, 3(2), 144-156.
- Mejia, G. (2012). Puntas de Gutapercha. Odontologo Moderno.
- Mollinedo Patzi, M. A., & Gonzáles Villalobos, C. (2014). *Bacterias gram negativas*. . Revista de Actualización Clínica Investiga, 49, 2609.
- Morales, G., & BB, M. (2020). Comparison of disinfection of different brands of guttapercha tip with sodium hypochlorite. *Revista de la Asociación dental mexicana*, 23-354.
- Principi, N., & Esposito, S. (2015). *Kingella kingae infections in children*. BMC infectious diseases, 15, 1-7.
- Rodríguez, S. P. (2013). Desinfección de los conos de gutapercha. Sus efectos en el ajuste apical. *e-universitas UNR Journal*, *6*(01), 1666-1672.
- Schmitter, M., Balke, Z., Hassel, A., Ohlmann, B., & Rammelsberg, P. (2007). The prevalence of myofascial pain and its association with occlusal factors in a threshold country non-patient population. Clinical oral investigations, 11, 277-281.
- Serrano, H., Sánchez, M., & Cardona, N. (2014). *Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica*. Revista CES Odontología ISSN 0120-971X.

- Soares, I. J., & Goldberg, F. (2002). *Endodoncia. Técnica y fundamentos*. . Ed. Médica Panamericana.
- Soares, I. (2002). *Endodoncia: técnicas y fundamentos*. Buenos Aires (Argentina): Medica Panamericana.
- Taha, M. (2017). Descontaminación rápida de conos de gutapercha utilizando diferentes agentes químicos. Mosul (Irak): Pubmed.
- Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2008). *Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas*. Infectio, 12(3), 227-232.
- Yagupsky, P. (2015). *Kingella kingae: carriage, transmission, and disease.* Clinical microbiology reviews, 28(1), 54-79.
- Vishwanath, V., & Rao, M. (2019). *Gutta-percha in endodontics A comprehensive review of material science* . Karnataka (India): PUBMED
- White, V., Fischbein, K., Dunk, T., Williams, W., Reuben, J., & Salomon, J. (2001). Identification accuracy of Gram-negative bacilli in the BD PhoenixTM automated microbiology system. . In 101st General Meeting of the American Society for Microbiology, May .