Endodoncia A C T U A L

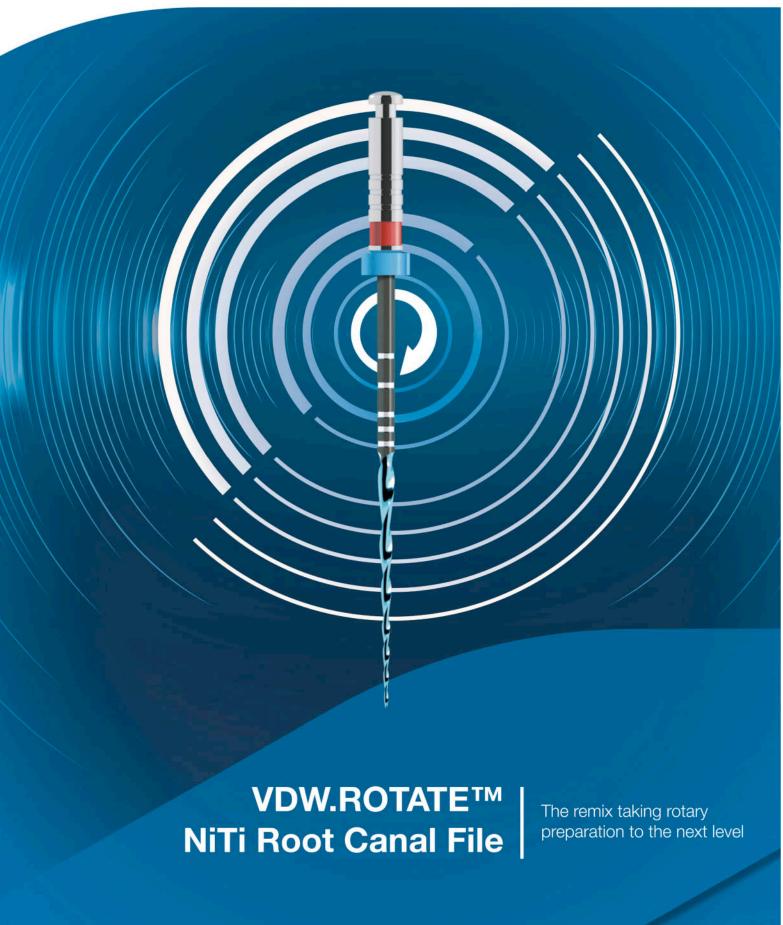


Determinación de mecanismos de resistencia a nanopartículas de plata de *E. Faecalis* por medio de análisis proteómico

Detección de genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos Análisis comparativo
de la transportación
en conductos
simulados con doble
curvatura al utilizar
instrumentos para
Glide Path rotatorios y
reciprocantes

\$150.00 M.N. \$ 18.00 USD ISSN 1870-5855
www.latindex.com
www.limbiomed.com











FUNDADOR Y EDITOR HONORARIO

Editor Dr. Marco A. Ramírez Salomón

Tel. y fax: 55-31- 99-06 y 55-31-73-79

Directorio

DIRECTOR **G**ENERAL Edgar Molina Miranda

DIRECTOR DE OPERACIONES

DIRECTOR COMERCIAL

EDITOR

DISEÑO GRÁFICO

Endodoncia Actual. Año. 16. Núm. 3. Noviembre 2021 - Enero Digital, S.A. de C.V. Boulevard A. López Mateos núm. 1384, 1er. piso, Col. Santa María Nonoalco, C.P. 03910. Tels. 5611 2666/ 5615 3688. CDMX. Editor Responsable:Marco A. Ramírez Salomón. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2004-071515352800-102. ISSN:1870-5855. Ambos otorgados por el Instituto Nacional de Derechos de Autor. Permiso SEPOMEX: PP091134. Licitud de Título y Contenido otorgado por la Comisión Calificadora de Publicaciones en trámite. El contenido de los artículos y ensayos publicados es responsabilidad exclusiva de sus autores y no reflejan necesariamente la postura de los editores. La estrictamente prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio impreso o electrónico del contenido sin anual \$400.00. Suscripción para el extranjero USD 125.00. Precio de venta al público \$150.00.

www.odontologiaactual.com

Endodoncia Actual está indizada en IMBIOMED y LATINDEX, su versión a texto completo se encuentra en :

www.imbiomed.com

Editorial

erramos 2021 con la tercera publicación, y última de cada año, en esta ocasión del volumen 16. Así es, hemos llevado lo mejor de la investigación sobre endodoncia a sus manos, por 16 años, una aventura que comenzó en 2005, y que ha dado los mejores frutos.

Esta edición se integra de tres artículos de primer orden, al principio les traemos Determinación de mecanismos de resistencia a nanopartículas de plata de E. faecalis por medio de análisis proteómico, de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con el fin de saber si la bacteria endodóntica E. faecalis es capaz de generar resistencia a AgNPs y determinar mecanismos de resistencia involucrado, ya que en endodoncia las nanopartículas de plata (AgNPs) se usan para combatir las bacterias presentes en el sistema de conductos radiculares. En segundo lugar les presentamos Detección de genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí junto con la Universidad de Guanajuato, debido a que la resistencia a los antibióticos es una emergencia de salud global y amenaza con hacer que algunas enfermedades puedan agravarse al no poderlas tratar con los antibióticos adecuados, algunos mecanismos que la predisponen se han atribuido a la transferencia de genes de resistencia, por ello es de gran importancia detectar genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos. Finalmente leeremos Análisis comparativo de la transportación en conductos simulados con doble curvatura al utilizar instrumentos para Glide Path rotatorios y reciprocantes de la Universidad Autónoma de Nuevo León, un estudio donde se comparó la transportación del conducto al utilizar limas WaveOne Gold Glider, R- Pilot, Proglider, V-Glide Path 2H y limas K en conductos simulados curvados en forma de "S" durante la realización del glide pathm para conocer las propiedades de estas herramientas toda vez que instrumentar un conducto curvo genera fuerzas que hacen que un instrumento se presione más agresivamente en la pared externa de la porción apical, lo que puede resultar en aberraciones de la anatomía del conducto como una transportación debido a la desviación del eje central de la lima. Despedimos el año con esta publicación, en espera de que pasen felices fiestas y tenga un excelente principio de año, llenos de proyectos y del amor de sus seres queridos, y por supuesto, de la fidelidad de sus pacientes. 2022 nos espera.

> Malinalli Galván Rodríguez Editor Ed. Odontología Actual



Endodoncia Actual. Año. 16. Núm. 3. Noviembre 2021 - Enero 2022.

Contenido

Determinación de mecanismos de resistencia a nanopartículas de plata de *E. faecalis* por medio de análisis proteómico

Marco Felipe Salas Orozco, Nereyda Niño Martínez, Gabriel Alejandro Martínez Castañón, Claudia Edith Dávila Pérez, Gabriela Margarita Montero Morán, Facundo Ruiz, Fernando Torres Méndez

Detección de genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos

26

Miguel Gómez Parra, Fernando Torres Méndez, Juana Guadalupe Mendoza Zapata, Jorge Alejandro Alegría Torres, Yolanda Hernández Molinar, Claudia Edith Dávila Pérez

Análisis comparativo de la transportación en conductos simulados con doble curvatura al utilizar instrumentos para Glide Path rotatorios y reciprocantes

Analí Román Montalvo, Idalia Rodríguez Delgado, Jorge Jaime Flores Treviño, Susana Gomes Acevedo, Gustavo Israel Martínez González, Elizabeth Madla Cruz











Maobin Yang Antonis Chaniotis Ashraf F. Fouad Asgeir Sigurdsson





Armando Hernández



Elisa Betancourt



Patricia Ferrari



Antonio Herrera



Gabriel Aguilar



Jessica Arellano



Rubén Dominguez



Jaime Barragán



Agastic Sartiago



















iNos preparamos para celebrar contigo los50 años!

PUEBLA 2022









Asociación Mexicana de Endodoncia

Colegio de Especialistas en Endodoncia A.C.





Jueves 9 Diciembre

Modyeievsky



Felipe Rastrepo Colombia



Chile



Maximiliano Casa

Jueves 17 Febrero

Claudia Brizuela

Chile

Jueves 10 Marzo

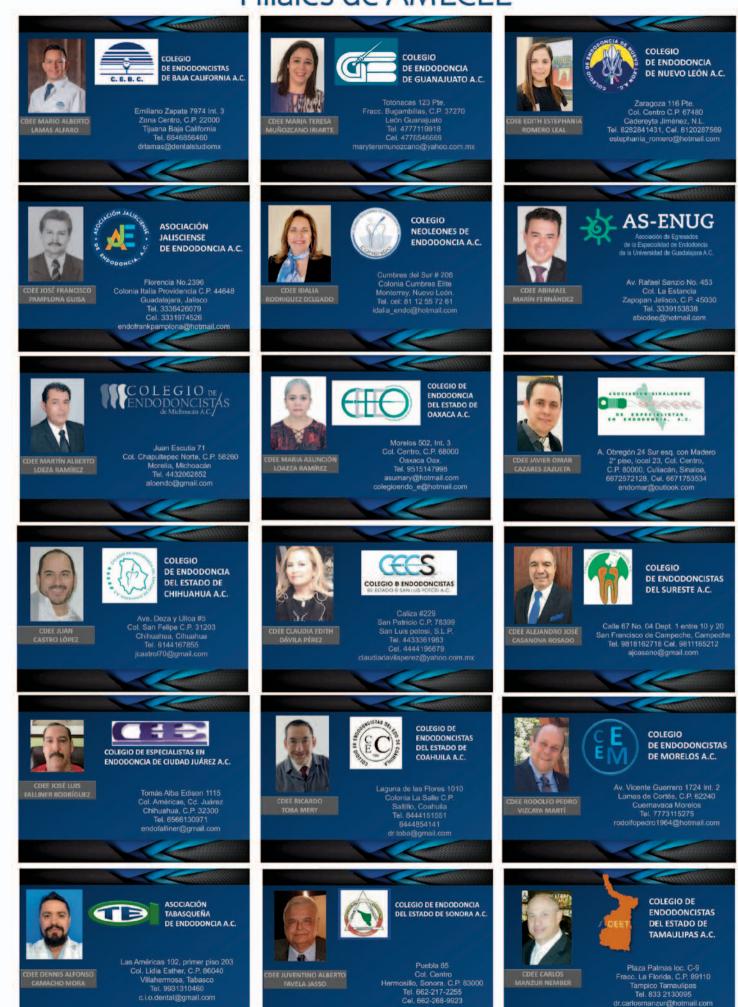


Jueves 14 Abril

2022

Conferencias en línea (SAVE)

Filiales de AMECEE



Lo mejor es ahora Excelente !!!



¿Cómo superar el Equipo de Rayos-X más vendido de los últimos 45 años?

Haciéndolo todavía mejor, más amigable e intuitivo con el usuario, ya que no requiere memorizar instrucciones en su uso normal.

Alta confiabilidad por su avanzada Tecnología SMD.



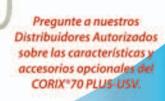
Con el SENSOR CORIX® DIGITAL, (opcional)

específicamente diseñado para este equipo, el Odontólogo podrá transitar a la **Radiografía Digital** por computadora en cualquier momento, obteniendo una imagen perfecta, en un instante y al primer disparo!!!



CORAMEX S.A.

A Division of CORIX MEDICAL SYSTEMS®
Lauro Villar No. 94-B, 02440 Mexico, CDMX
Tel. +52-55-5394-1199 • Fax: +52-55-5394-8120
www.corix.us





Determination of resistence mechanisms to silver nanoparticles of e Faecalis by means of proteomic analysis

Marco Felipe Salas Orozco

Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, SanLuis Potosí, México

Nereyda Niño Martínez

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San LuisPotosí, México

Gabriel Alejandro Martínez Castañón

Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San LuisPotosí. México

Claudia Edith Dávila Pérez

Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, SanLuis Potosí, México

Gabriela Margarita MonteroMorán

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.México

Facundo Ruiz

Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.México

Fernando Torres Méndez

Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, SanLuis Potosí, México

Resumen

Introducción: En endodoncia las nanopartículas de plata (AgNPs) se usanpara combatir las bacterias presentes en el sistema de conductos radiculares. **Objetivo:** Determinar si la bacteria endodóntica *E. faecalis* es capaz de generar resistencia a AgNPs y determinar mecanismos de resistenciainvolucrados.

Materiales y métodos: Se generó un *E. faecalis* resistente a AgNPs y se realizó la extracción de proteínas. Se seleccionaron 15 bandas para su identificación protéica con el espectrómetro de masas MALDI-TOF.

Resultados: El análisis proteómico mostró un aumento en el número de proteínas diferentes (1080) en comparación con el control (168). Las proteínas se clasificaron en 31 categorías, siendo las más importantes relacionadas con resistencia a AgNPs, otras relacionadas con bombas de eflujo de iones de platay cobre, otras con bombas de eflujo de antibióticos, que combaten estrésoxidativo, respuesta al estrés y reparación de ADN.

Conclusiones: *E. faecalis* es capaz de generar resistencia a AgNPs por activación de diversos mecanismos.

Palabras clave: AgNPs, E. faecalis, Análisis proteómico.

Abstract

Introduction: In endodontics, the silver particles (AgNPs) are used to combatthe bacteria present in the root canal system.

Objective: Determine if the endodontic bacterium *E. faecalis* is capable of generating resistance to AgNPs and determine resistance mechanisms involved.

Material and methods: An *E. faecalis* resistant to AgNPs was generated and the extraction of proteins was carried out.15 bands were selected for their protein identification with the mass spectrometer MALDI-TOF.

Results: Protein analysis showed an increase in the number of different proteins (1080) compared to the control (168). Proteins were classified into 31 categories, the most important being related to resistance to AgNPs, others related to silver and copper ion efflux pumps, others with efflux pumps ofantibiotics that fight oxidative stress and DNA repair.

Conclusions: *E. faecalis* is capable of generating resistance to AgNPs by activation of various mechanisms.

Key words: AgNPs, E. faecalis, Proteomic analysis.



SU LABORATORIO DENTAL DE CONFIANZA



Introducción

esde el inicio de la era de los antibióticos en 1928, diferentes factores han influido en la aparición de resistencia bacteriana. Estos factores incluyen el uso persistente e incontrolado de antibióticos recetados por médicos y por automedicación (Freire-Moran *et al.* 2011). Desde entonces, nuevos compuestos antimicrobianos y métodos para evitar o contrarrestar la resistenciaa los antibióticos por bacterias se han desarrollado.

En los últimos años, las nanopartículas (NP) se han estudiado como una alternativa al uso de antibióticos debido a su propiedades antimicrobianas a concentraciones más bajas (López-Carrizales *et al.* 2018; Slavin *et al.* 2017).

Los estudios también han demostrado que el uso de antibióticos o compuestos antimicrobianos combinados con NP mejoraron su eficacia contra bacterias resistentes (Yu *et al.*, 2019). Otra ventaja de las NP es que, a diferencia de los antibióticos, tienen diferentes mecanismos de acción (Slavin *et al.*, 2017). Por ejemplo, aunque los mecanismos exactos por los cuales las NP de plata (AgNP) ejercen su actividad no han sido completamente aclarados, se hipotetiza que laliberación de Ag + de las AgNPs afecta a diferentes objetivos en las bacterias (Slavin *et al.* 2017).

Como resultado de los diferentes mecanismos de acción antimicrobiana de las AgNP, se considera muy poco probable que las bacterias puedan desarrollar resistencia a las AgNP. El Enterococcus faecalis es un microorganismo grampositivo facultativo que puede habitar el tracto gastrointestinal de los humanos y animales. También puede estar presente en otros entornos como la cavidad bucal, el agua, las aguas residuales, el suelo y los alimentos. La presencia de E. faecalis en varios ambientes se debe a su alta capacidad de adaptación. El Enterococcus faecalis puede crecer en presencia o ausencia de oxígeno, en ambientes extremadamente alcalinos o pH ácido, durante limitaciones de nutrientes y osmolaridad elevada. Además, E. faecalis puede crecer a 45°C y es termotolerante a temperaturas tan altas como 600 durante 30 min.

El *Enterococcus faecalis* es capaz de producir infecciones refractarias tanto en el hospital (bacteriemia, infecciones del tracto urinario y endocarditis infecciosa en pacientes inmunodeprimidos) como en la cavidad oral (infección endodónticasecundaria) (Stuart *et al.*, 2006). Esto es importante ya que es probable que en un futuro cercano, los materiales dentales contengan NP con actividad antimicrobiana (Corrêa *et al.*, 2015; Samiei *et al.*, 2016). Por tanto, es importantecomprender los posibles mecanismos de

resistencia de *E. faecalis* a AgNPs paradesarrollar estrategias para prevenir la aparición de este tipo de resistencia. Algunos estudios en los que el genoma y el transcriptoma de *E. faecalis* han sido analizados, han proporcionado información en cuanto a su respuesta a diferentes tipos de estímulos dañinos (Salze *et al.*, 2020). A pesar de esto, los análisis de proteómica con respecto a la respuesta a diversos tipos de estrés en *E. faecalis* son limitados (Qayyum *et al.*, 2019). No se han realizado estudios para explorar la capacidad de *E. faecalis* para generar resistencia a las AgNP a nivel proteómico.

Objetivo

Determinar si la bacteria endodóntica *E. faecalis* es capaz de generar resistenciaa AgNPs y determinar mecanismos de resistencia involucrados.

Materiales y métodos

Síntesis de AgNP

Se sintetizaron AgNP de forma esférica o pseudoesférica con un promedio de 8-9 nm. La síntesis se inició con 0.5 g de ácido gálico (99 %; Sigma-Aldrich) disuelto en 5 ml de agua desionizado colocada en un recipiente de reacción de 10 ml. Entonces, 0.0849 g de AgNO3 (99%; Sigma-Aldrich) se disolvió en 45 ml de agua desionizada y se colocaron en un recipiente de reacción de 100 ml bajo agitación magnética. A continuación, se añadieron los 5 ml de ácido gálico a los 45 ml de solución de AgNO3. Después de esto, el pH se elevó inmediatamente a 10 con NaOH 1.0 M y se agitó durante 30 min (no se modificó el pH posteriormente).

Caracterización de las AgNP

El plasmón de resonancia superficial de la solución de AgNP fue medido usando espectroscopia UV-Vis, con un espectrómetro de fibra óptica \$2000-UV-Vis (Ocean Optics Inc.). El potencial Ey el diámetro hidrodinámico se determinó portriplicado usando un Malvern Zetasizer Nano ZS (Instrumentos Worcestershire) operando con un láser He– Ne en una longitud de onda de 633 nm y un ángulo de detección de 90°. Todas las muestras se analizaron durante 60 s a 25°C. La forma de las AgNP fue analizada por microscopia electrónica de transmisión (TEM) (JEOL JEM-1230) a una tensión de aceleración de 100 kV.

Cultivo de *E. faecalis* y medición de la actividad de las AgNP

El *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) se cultivó en agar de infusión cerebro-corazón (BHI) (Oxoid) durante 24 h a 37 °C. Este cultivo se utilizó para preparar una solución de NaCl al 0.9% con una

turbidez equivalente a 0.5 de la escala de McFarland, medida por espectrometría (Spectronic 21D; Milton Roy) usando una longitud de onda de 568 nm y una densidad óptica de 0.200. El microorganismo también se cultivó en caldo Mueller-Hinton al 50% (B&D).

Para las mediciones de concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentraciónmínima bactericida (MBC) de las AgNP, el agar BHI fue suplementado con soluciones de AgNP. Se usaron diluciones en serie de AgNP (65, 130, 260, 430y 520 µg/ml) que se incorporaron a las placas de agar BHI durante su preparación. Después, 200 µl de suspensión de *E. faecalis* con una concentración bacteriana equivalente a 0.5 de la escala de McFarland se añadió y se extendió uniformemente sobre las placas de agar. Las placas de agar se sellaron con parafilm y se incubaron durante 24 h a 37°C. La presencia o ausencia de colonias se utilizó para determinar tanto la CMI como la MBC de lasAgNPs.

Generación de resistencia a AgNP

Se seleccionó una concentración subletal de las AgNP (65 μg / ml) para permitirla recuperación y el crecimiento de E. faecalis en presencia de AgNP en agar BHI. Un inóculo (200 µl) de E. Faecalis, equivalente a 0.5 de la escala de McFarland, fue utilizado para inocular un agar BHI suplementado con AgNP a una concentración de 65 µg/ml de AgNP. La placa de agar fue incubada durante 24 h a 37 ° C. Este procedimiento se repitió (x 4) utilizando la misma concentración de AgNP. Después de la quinta resiembra, se incrementó la concentración de AgNPs en el agar hasta 130 µg/ml. El aumento de la concentración de AgNP en el agar BHI después de cada cinco repeticiones se continuó hasta que el E. faecalis pudo crecer en la CMB determinada inicalmente.

Para comprobar la generación de resistencia, la cepa

resistente y la cepa ATCCse cultivaron (a 37°C) en 10 ml de caldo Muller-Hinton a 50% complementadocon concentraciones crecientes de AgNPs (de 5 a 100 μg/ml) durante varios días hasta que se observó crecimiento. La concentración a la que se observó el crecimiento se tomó como la concentración máxima a la que las cepas podrían crecer. Este experimento se realizó por triplicado.

Separación de proteínas y análisis de espectrometría de masas

Un cultivo de *E. faecalis* resistente a AgNP cultivado en agar BHI por triplicado (24 ha 37 °C) suplementado con 260 µg/ml de AgNPs fue cosechado. Las células bacterianas se resuspendieron en 100 µl de agua MilliQ, calentados en un baño de agua a 65 °C durante 15 min. Un cultivo de *E. faecalis* ATCC pero sin resistencia a las AgNPs se utilizó como control.

Las proteínas (30 µl) obtenidas del lisado se separaron electroforéticamente enun Gel proteico prefabricado Mini-PROTEAN TGX ™ (Bio-Rad) al 12%.

Después, los geles se lavaron suavemente (4 min) con agua destilada (x 4) y setiñeron con azul de Coomassie durante 18 h. Las proteínas se analizaron cortando una banda completa de las proteínas obtenidas del *E. faecalis* resistente y control. Posteriormente, estas líneas se cortaron en 15 fragmentos y cada uno se colocó en tubos de 2 ml con agua MilliQ y fue enviado para su análisis por espectrometria de masas.

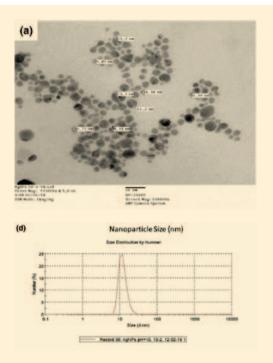
Análisis proteómico

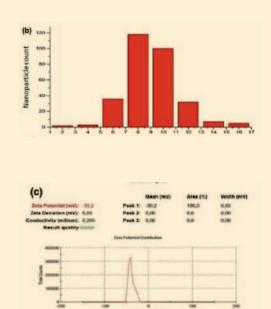
El Departamento de Biotecnología y Bioquímica, Unidad Irapuato, Cinvestav-IPN (Irapuato) realizó el análisis proteómico.

Resultados

Síntesis y caracterización de AgNPs

En este estudio, se utilizó un método simple para sintetizar las AgNP. Un pico deaproximadamente 410 nm de plasmón de resonancia de superficie confirmó la síntesis de AgNPs. Se obtuvo un potencial z de -32,9 mV (Figura 1c) con un tamaño promedio que variaba entre 8 y 9 nm (Figuras 1a y 1b). Las imágenes TEM mostraron que las AgNP eran pseudoesféricas o esféricas (Figura 1a).





Figuras 1. Caracterización de las AgNP utilizadas en este estudio. a) imágenes TEM de las AgNP b) distribución del tamaño y c) análisis de dispersión dinámica de la luz

Actividad antibacteriana y resistencia

Las mediciones iniciales de la CMI y la CMB fueron 130 y 260 µg/ml, respectivamente. Sin embargo, tanto la CMI como la CMB aumentaron a 260 y430 µg/ml, respectivamente, durante la generación de resistencia. Después de cultivar el microorganismo en caldo Muller-Hinton al 50%, se midieron diferentes concentraciones de recuperación. Después de 1 día de incubación, encontramosque *E. faecalis* ATCC y la cepa resistente se recuperaron a concentraciones de 5 y 50 µg/ml, respectivamente.

Identificación de proteínas mediante análisis proteómico

El análisis de espectrometría de masas reveló que 1080 proteínas fueronexclusivas de *E. faecalis* resistente a AgNP en comparación con solo 8 identificadas en la cepa control (Tabla 1). Las proteínas del *E. faecalis* resistentea AgNP se agruparon en 31 categorías según su proceso biológico o funciones moleculares (Figura 2). Las proteínas identificadas en el *E. faecalis* resistente a AgNP y relacionadas con el desarrollo de la resistencia se enumeran en la Tabla 2.

Та	hla	1	Pro	taín	ac i	dan.	tifi.	cad	2 C	ún	ica	m	ant	-	۵n	En	tor	000	200	110	faec	alic	ΔΤ	cc	
Iа	oıa		PIO	tem	as II	uen	um	cau	dS.	un	ıca	1116	enı	Le.	en		ıег	OCC	JLLI	us	raec	alis	AI	LL	

Classification	Description	MW (kDa)	Coverage (%)	Peptides
Tuananant	Phosphate ABC Transporters	21.6	10.84	2
Transport	PTS mannose transporter subunit II AB	35.4	28.57	6
	Ribonuclease J	44.4	7.11	2
	Glutamate-ammonia ligase Type I	37.1	22.19	5
nzyme	Serine-tRNA ligase	39.0	8.19	2
	Beta-galactosidase	1153.8	12.37	10
	Glycerol dehydrogenase	40.6	12.93	3
Unknown	Tetratricopeptide repeat protein	36.4	7.91	2

Tabla 2. Proteínas identificadas en el Enterococcus faecalis resistente

Description	Score	Coverage	# Unique peptides	# PSMs	MW (kDa)
Extracellular matrix					
LysM peptidoglycan-binding domain-containing protein	113.95	33.79	13	32	91
VWA domain-containing protein	5.59	2.06	2	2	113.3
Hypoche containing protein	361.25	82.55	28	99	37.7
Transport					
Heavy metal translocating P. type A TP use	40.26	14.23	5	11	58
Cooper transport protein CopZ	63.36	75	3	15	7.3
Multidrug effect ABC transporter subunit EfrA	22.43	10.4	5	7	55.6
Multidrug effect ABC transporter subunit EfrA	37.36	19.48	9	13	64.6
Oxidative stress					
NADH peroxidase	375.2	65.77	23	102	49.5
NADH oxidase	369.52	67.65	23	102	48.1
Thioredoxin	180.44	60.58	7	42	11.6
Peroxiredoxin	42.22	38.5	6	12	21.1
Organic hydrioperoxide resistance peotein	109.77	36	8	28	13.5
A HpC/TSA family protein	54.81	41.36	8	16	17.9
Superoxide dismutase	247.97	55.94	10	64	22.7
Peptide-metionide (R)-S-oxide reductase MsrB	16.42	36.11	4	4	16.2
LysR family transcriptional regulator (Enterococcus faecalis)	6.18	8.11	2	2	29.8
Spx/MgsR family RNA polymerase-binding regulatory protein	36.36	36.29	5	10	14.6
Redox-sensing transcriptional repressor Rex (Enterococcus faecalis V583)	176.38	70.37	18	52	24.4
Copper homeostasis protein CutC	48.05	38.76	6	13	22.9
Dps family protein	70.64	35.48	6	23	17.9
Two Component system					
HAMP domain-containing histidine kinase	21.08	17.71	6	7	57.7
Cell Shape					
Rod shape-determining protein MreC	38.45	42.19	8	12	25.8
Cell cycle protein FtsW	9.42	8.1	2	3	44.1
Hypothetical protein EF0767	59.85	34.44	9	17	36.8
Stress response					
TetR family transcriptional regulator	56.02	44.21	8	15	21.6
Hypothetical protein EF0768	5.97	6.75	2	2	35.3
ABC transporter permease subunit	64.37	33.72	10	21	38.4
DNA repair					
NAD-dependent DNA ligase	99.81	35.95	20	30	75.5
Recombinase RecA	14.98	14.08	4	5	37.4
Single-stranded-DNA-specific exonuclease Recl	34.22	15.97	9	10	86.2
DNA mismatch repair protein MutS	4.69	2.7	2	2	96
Endonuclease MutS2	98.7	32.23	22	26	88.3
Endonuclease MutS2					

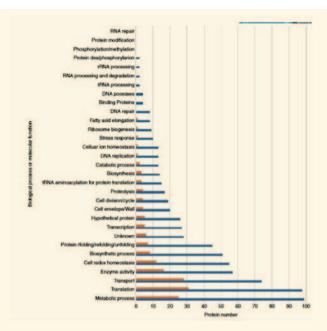


Figura 2. Gráfico de distribución de las proteínas identificadas en el *E. fae-calis* control y resistente clasificadas según su proceso biológico o función molecular.

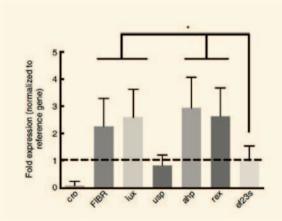


Figura 3. Análisis de la expresión génica por qPCR de genes seleccionados. Los resultados seexpresan como cambios de veces después de la normalización con el gen ef23s. Cro, sistema de dos componentes; efbA, similar a PavA adhesina de fibronectina; lux, de unión a ADN regulador de respuesta; usp, proteína de estrés universal; ahpC, alquil hidroperóxido reductasa C; rex, represor transcripcional detección redox. El asterisco representa un valor p <0.05 en comparación con la expresión normalizada = 1. Experimentos se realizaron por triplicado.

Análisis transcriptómico de genes seleccionados

Para validar los datos obtenidos en el análisis proteómico, se eligió un panel desiete genes de la Tabla 2. Las proteínas codificadas por estos genes fueron seleccionados como representativos de diferentes grupos (Figura 2), incluido el estrés oxidativo (superóxido dismutasa y peroxiredoxina AhpC); factores transcripcionales (Cro, Lux y Rex); la proteína de estrés universal; y el Pav-like adhesina de fibronectina (FIBR). Los resultados mostraron que cinco genes estaban significativamente regulados al alza en comparación con la cepa ATCC

(Figura 3). El gen que codifica la proteína de estrés universal no se modificó considerablemente, mientras que el gen que codifica CRO fue regulado a la baja.

Discusión

En este estudio, nuestro objetivo fue investigar si *E. faecalis* podría generar resistencia bajo la presión de concentraciones subletales de AgNP. Se eligió *E. faecalis* debido a su importancia en las infecciones bucales y su versatilidad para sobrevivir en condiciones de estrés (Dean *et al.*, 2020; Najafi *et al.*, 2020).

La caracterización fisicoquímica de las AgNP utilizadas en este estudio sugirió que la población de NP era homogénea y sin aglomeración esperada debido al alto valor negativo del potencial §. En el cultivo sólido y líquido suplementado con concentraciones crecientes de AgNPs, se produjo un aumento en las concentraciones de las CMI y CMB observadas inicialmente. Esto confirma el desarrollo de resistencia en *E. Faecalis*.

Las concentraciones máximas a las cuales E. faecalis pudo crecer después de generar resistencia a las AgNP en medio sólido y líquido fueron de 430 y 50 µg/ml, respectivamente. Ambas concentraciones superan la CMB reportadas anteriormente en los artículos donde se evaluó la actividad antimicrobiana de las AgNP, en el que las CMB eran de 5 y 10 µg/ml en medio líquido y sólido, respectivamente (Krishnan et al., 2015; Liao et al., 2019). Se supone que la exposición a las AgNPs limitaría el desarrollo de resistencia porque los NP actúan sobre diferentes estructuras bacterianas. Los principales mecanismos de acción de las AgNP incluyen la generación de estrés oxidativo, inactivación de enzimas por unión a aminoácidos específicos o desestabilizar la pared celular (Slavin et al., 2017).

Para determinar qué vías se activan en el *E. faecalis* resistente, se realizó un análisis proteómico en la fase estacionaria de crecimiento utilizando concentraciones subletales de las AgNPs. El análisis de las proteínas mostró que el número de proteínas identificadas en la cepa resistente expuesta a las AgNP fue 10 veces mayor en comparación con el control no tratado.

Esta diferencia puede ser causada por una disminución del metabolismo de las bacterias, ya que el crecimiento activo se reduce considerablemente, y solo las vías metabólicas relacionadas al metabolismo basal se expresan. Sin embargo cuando el *E. facealis* resistente se analizó en la fase estacionaria, se considera que necesita sintetizar más proteínas para inhibir las actividades de las AgNP. Cabe mencionar que las AgNPs, incluso en la fase estacionaria, libera Ag +, que puede causar estrés oxidativo en las bacterias, lo que obliga a éstas a continuar produciendo proteínas antiestrés.

El análisis proteómico del *E. faecalis* resistente mostró que muchos grupos de proteínas están asociados con la supervivencia. Varias de las proteínas identificadas en el *E. faecalis* con resistencia a las AgNPs tenían funciones relacionadas con contrarrestar los mecanismos antimicrobianos de las AgNPs. Tales categorías incluyen proceso metabólico, transporte, homeostasis celular redox, homeostasis celular iónica, respuesta al estrés y reparación de ADN/ARN (Khalandi *et al.*, 2017).

Uno de los procesos metabólicos activados por la exposición a AgNPs es la síntesis de biopelículas. Durante la centrifugación de las colonias de E. faecalis resistentes a AgNPs, observamos dos capas correspondientes al pellet bacteriano y otra de lo que pareciera ser algún tipo de biopelícula de color más oscuro. Entonces, planteamos la hipótesis de que E. faecalis sintetizó una matriz extracelular para evitar el contacto directo con las AgNP. Durante el análisis de las proteínas identificadas, algunas de la pared celular que serían parte de esta matriz extracelular fueron reconocidas. Por ejemplo, la unión de peptidoglicano que contiene dominio de proteína lisina (LysM) y la que contiene el dominio de von Willebrand A (VWA) (Tabla 2). Curiosamente, las proteínas que contienen LysM participan en diversas funciones como el proceso de infección (Cacaci et al., 2018), ensamblaje de la capa de esporas en Bacillus subtilis (Pereira et al., 2019), virulencia y adhesión al fibrinógeno, vitronectina, plasma y matriz extracelular en el Staphylococcus aureus (Hirschhausen et al., 2012). Finalmente, las proteínas que contienen el dominio VWA se han relacionado con la absorción de Ag + en el alga procariota Microcystis aeruginosa expuesta a AgNP (Chen et al., 2016).

La producción de una matriz extracelular por bacterias como mecanismo de defensa contra las AgNP se ha informado anteriormente. Por ejemplo, se ha informado que Escherichia coli K-12 puede producir sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que pueden reducir Ag + a AgNP. Las EPS estaban formadas por proteínas y polisacáridos, que actúan como barrera para evitar el contacto y la internalización de Ag + (Kang et al., 2014). También se ha informado que la composición de la EPS depende de la fase de crecimiento de las bacterias y condiciones de cultivo. La actividad antimicrobiana de las NP puede ser afectada por el EPS a través de tres mecanismos: (I) formación de una corona de proteínas en las superficies de las NP, (II) inmovilización de las NP por EPS, y (III) neutralización de ROS (Faghihzadeh et al., 2018). Otro estudio informó que *E. coli* pudo producir EPS, lo que permitió tasas de supervivencia del 65% y 79% cuando se expuso a ZnONP (500 mg / L) y SiO2NP (500 mg / L), respectivamente (Wang et al., 2016). En otro informe, E. coli desarrolló resistencia a las AgNP al producir flagelina para formar una matriz extracelular. La flagelina causó aglomeración de NP, evitando su contacto directo con las bacterias (Paná**č**ek *et al.*, 2018). Curiosamente, la *Pseudomonas aeruginosa* desarrolló resistencia a las AgNP al producir el pigmento piocianina, una toxina sintetizada por la bacteria para matar a los competidores bacterianos, y que tiene capacidades para reducir Ag + a Ag0 (Ellis *et al.*, 2018).

Según lo revisado en la literatura, esta es la primera vez que la EPS (compuestopor proteínas con una excelente capacidad para adherencia y secuestro de Ag +) se ha informado como un mecanismo de defensa contra las AgNP en bacteriasgram positivas. La producción de este EPS coincide con el incremento en procesos metabólicos, traducción, transcripción y aminoacilación de tRNA para la traducción de proteínas en el *E. faecalis* resistente a AgNPs.

Otra categoría relacionada con la resistencia a las AgNP son las proteínas de transporte. Específicamente, esta categoría incluye ATPasas de traslocación demetales pesados tipo P. Esta proteína es parte de una superfamilia de proteínas integrales de membrana que se pueden encontrar en todos los organismos. LasP1B-ATPasas es una de las seis subfamilias de este de ATPasas tipo P y pueden transportar una amplia gama de metales pesados como Cu2 +, Cu + / Ag +, Zn2 +, Pb2 +, Cd2 + y Co2 + (Rosenzweig Y Argüello, 2012).

También identificamos la presencia de proteínas de resistencia al cobre CopA (Tabla 2), que se puede regular al alza durante el estrés generado por la liberación de Ag + de AgNPs (McQuillan et al., 2012). Se ha informado que estetipo de proteínas transportadoras de iones se pueden regular al alza en E. faecalis al entrar en contacto con una superficie antimicrobiana de amplio espectro compuesta de elementos de Ag y Ru micro-galvánico (Clauss-Lendzianet al., 2018). Otros tipos de ATPasas en E. faecalis resistente. Por ejemplo, ATPasas para translocar Mg-, Cd- y Ca-. Esto parece indicar que la familia principal de bombas de eflujo responsable de combatir el efecto antimicrobiano de los iones de plata liberados por NP en bacterias gram positivas es la familia de ATPasas Tipo P. Este supuesto contrasta con los mecanismos utilizados porlas bacterias gram-negativas, en las que se ha reportado que el sistema de bombas de eflujo que participan en la resistencia a las Np son de la familia de resistencia-modulación-división celular (Niño-Martínez et al., 2019). Recientemente se reportó que los genes que expresan las proteínas de las bombas de eflujo responsables de la salida de Ag + se encuentran en muestrasde bacterias tomadas de infecciones endodónticas secundarias (Salas-Orozco et al., 2019b).

Otro grupo de proteínas de bombas de eflujo son las proteínas de eflujo de múltiples fármacos llamadas proteínas transportadoras de eflujo ABC formada por la subunidad EfrA y subunidad EfrB, ambas subunidades fueron encontradas en el *E. faecalis* resistente a AgNPs.

La expresión de EfrA y EfrB en *E. coli* proporcionó resistencia a una amplia gamade antibióticos y productos químicos como ciprofloxacina, norfloxacina, doxorrubicina, daunorrubicina, doxiciclina, novobiocina, arbekacina, acriflavina, bromuro de etidio, tetrafenilfosfonio y safranina O (Lee *et al.*, 2003).

La presencia de esta proteína también es consistente con la coestimulación de resistencia a NP/metales y antibióticos reportados previamente. Por ejemplo, en

P. aeruginosa PAO1, la estimulación con una concentración subletal de AgNP recubierta con polivinilpirrolidona causó un aumento en la síntesis de biopelículas y una regulación positiva de genes de resistencia a antibióticos (Yang & Alvarez, 2015). Otro estudio utilizó la misma cepa bacteriana expuesta a concentraciones no letales de puntos cuánticos, y observaron un aumento de resistencia a antibióticos como la ampicilina, cloranfenicol, kanamicina y tetraciclina (Yang et al., 2012).

Es importante señalar que el aumento de la resistencia a NP también se ha asociado con un aumento de la resistencia a diversas sustancias desinfectantes como el hipoclorito de sodio, que se usa ampliamente en endodoncia (Tseng *etal.*, 2016).

Uno de los principales mecanismos antimicrobianos de las NP es la producción de ROS (Qayyum *et al.*, 2017). El *Enterococcus faecalis* tiene cuatro mecanismos moleculares para hacer frente al estrés oxidativo: catalasa, peroxidasas, una superóxido dismutasa dependiente de Mn (MnSOD) y sulfóxido de metionina (Gaca & Lemos, 2019). De estos cuatro mecanismos, solo algunasespecies de *E. faecalis* y solo bajo ciertas condiciones se muestra actividad catalasa. El *E. faecalis* resistente a AgNps usó tres de los 4 sistemas antes señalados, como se puede observar en la tabla 2.

Otras proteínas de respuesta al estrés identificadas en *E. faecalis* resistente a AgNPs incluyó a los sistemas regulatorios de dos componentes, regulación de forma celular, esporulación y respuesta a antibióticos (Tabla 2). Estas proteínaspodrían participar en menor medida en la generación de resistencia a las AgNPs.Por ejemplo, las proteínas que pertenecen a los sistemas regulatorios de dos componentes regulan la expresión de una amplia variedad de proteínas potencialmente involucradas en la orquestación y regulación de diferentes mecanismos de defensas contra AgNPs (Salas-Orozco *et al.*, 2019a).

Además, las mutaciones en estos sistemas reguladores fueron asociadas con una mayor resistencia a Ag+ en *Cupriavidus metaliduranos* (Mijnendonckx *et al.*,2019). Por otro lado, la regulación de la forma de la célula bacteriana es un mecanismo que ya se ha vinculado a la generación de resistencias a NPs. Por ejemplo, *E. coli* pudo desarrollar resistencia a ZnONPs al reducir el tamaño de sus células y con una mayor forma circular en comparación con los controles (Zhang *et al.*, 2018).

En el presente estudio, observamos un aumento en el número de proteínas confunciones de reparación del ADN en el *E. faecalis* resistente (Tabla 2). Estas proteínas incluyen a la ADN ligasa dependiente de NAD, que tiene la función devolver a unir los extremos del ADN durante los rompimientos de una sola cadena o de doble cadena (Hale *et al.*, 2015), la proteína RecA está involucrada en larecombinación homóloga y la reparación de ADN (Tham *et al.*, 2016), la exonucleasa RecJ que participa en la recombinación homóloga y reparación de errores en el ADN (Han *et al.*, 2006) y MutS, MutS2 y MutL están implicados también en la reparación de errores en el ADN (Eisen, 1998).

En cuanto a la expresión de los genes analizados, los resultados mostraron quelos genes que codifican FIBRN, ahp, lux y rex fueron regulados al alza. Por el contrario, la usp y la cro no presentaron ningún cambio en su expresión (Figura 3), lo que sugiere que estos genes pueden no estar involucrados en la respuestade las bacterias al estrés AgNP; o quizás, en la fase de crecimiento en la que seanalizaron las bacterias, ya no se expresan.

Conclusión

Estos resultados nos muestran que es posible que *E. faecalis* desarrolle resistencia a las nano partículas de plata en un periodo relativamente corto de tiempo. La resistencia se genera a través de una diversidad de mecanismos. Esto nos invita a reevaluar el uso a corto y largo plazo de las nano partículas deplata como agentes antimicrobianos en el ámbito dental.

Referencias bibliográficas

- 1.Cacaci, M., Giraud, C., Leger, L., Torelli, R., Martini, C., Posteraro, B. *et al.* (2018). Expression profiling in a mammalian host reveals the strong induction of genes encoding LysM domain-containing proteins in Enterococcus faecium. Scientific Reports, 8, 1–11.
- 2.Chen, S., Jin, Y., Lavoie, M., Lu, H., Zhu, K., Fu, Z. et al. (2016). A new extrace-llular von Willebrand A domain-containing protein is involved in silver uptake in Microcystis aeruginosa exposed to silver nanoparticles. Applied Microbiology and Biotechnology, 100, 8955–8963.
- 3. Clauss-Lendzian, E., Vaishampayan, A., de Jong, A., Landau, U., Meyer, C., Kok, J. *et al.* (2018). Stress response of a clinical *Enterococcus Faecalis* isolate subjected to a novel antimicrobial surface coating. Microbiological Research, 207, 53–64.
- 4.Comenge, Y., Quintiliani, R., Li, L., Dubost, L., Brouard, J.-P., Hugonnet, J.-E. et al. (2003). The CroRS two-component regulatory system is required for intrinsic β-lactam resistance in *Enterococcus Faecalis*. Journal of Bacteriology, 185, 7184–7192.
- 5.Corrêa, J.M., Mori, M., Sanches, H.L., Cruz, A.D., Poiate, E. & Poiate, I.A.V.P. (2015). Silver nanoparticles in dental biomaterials. International Journal of Biomaterials, 2015, 1–9. https://doi. org/10.1155/2015/485275.
- 6.Cui, J., Sun, Q., Duan, M., Liu, D. & Fan, W. (2020). Establishment and characterization of silver-resistant *Enterococcus Faecalis*. Folia Microbiologica, 65(4), 721–733.
- 7.Dean, Z., Maltas, J. & Wood, K.J.P. (2020). Antibiotic interactions shape short-term evolution of resistance in *E. Faecalis*. PLoS Pathogens, 16, e1008278.
- 8.Eisen, J.A. (1998) A phylogenomic study of the MutS family of proteins. Nucleic Acids Research, 26, 4291–4300.
- 9.Ellis, D.H., Maurer-Gardner, E.I., Sulentic, C.E. & Hussain, S.M. (2018) Silver nanoparticle antibacterial efficacy and resistance development in key bacterial species. Biomedical Physics & Engineering Express, 5, 015013, https://doi.org/10.1088/2057-1976/aad5a7.
- 10. Ezraty, B., Aussel, L. & Barras, F. (2005) Methionine sulfoxide reductases in prokaryotes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Proteins and Proteomics, 1703, 221–229.
- 11.Faghihzadeh, F., Anaya, N., Astudillo-Castro, C. & Oyanedel-Craver, V. (2018). Kinetic, metabolic and macromolecular response of bacteria to chronic nanoparticle exposure in continuous culture. Environmental Science: Nano, 5, 1386–1396. 12.Freire-Moran, L., Aronsson, B., Manz, C., Gyssens, I.C., So, A.D., Monnet, D.L. & Cars, O. (2011). Critical shortage of new antibiotics in development against multidrug-resistant bacteria—Time to react is now. Drug Resistance Updates, 14, 118–124.
- 13.Gaca, A.O. & Lemos, J.A. (2019). Adaptation to adversity: the intermingling of stress tolerance and pathogenesis in Enterococci. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 83, e00008-00019.
- 14. Hale, M.R., Brassington, C., Carcanague, D., Embrey, K., Eyermann, C.J., Giacobbe, R.A. *et al.* (2015). From fragments to leads: novel bacterial NAD+-dependent DNA ligase inhibitors. Tetrahedron Letters, 56, 3108–3112.
- 15.Han, E.S., Cooper, D.L., Persky, N.S., Sutera, V.A. Jr, Whitaker, R.D., Montello, M.L. *et al.* (2006). RecJ exonuclease: substrates, products and interaction with SSB. Nucleic Acids Research, 34, 1084–1091.
- 16.Hegde, P.S., White, I.R. & Debouck, C. (2003). Interplay of transcriptomics and proteomics. Current Opinion in Biotechnology, 14,647–651.
- 17.Hofmann, B., Hecht, H.-J. & Flohé, L. (2002). Peroxiredoxins. Biological Chemistry, 383, 347–364.
- 18. Huang, T., Holden, J.A., Heath, D.E., O'Brien-Simpson, N.M. & O'Connor, A.J.J.N. (2019) Engineering highly effective antimicrobial selenium nanoparticles through control of particle size. Nanoscale, 11, 14937–14951.
- 19.Kang, F., Alvarez, P.J. & Zhu, D. (2014) Microbial extracellular polymeric substances reduce Ag+ to silver nanoparticles and antagonize bactericidalactivity. Environmental Science and Technology, 48, 316–322.
- 20.Kellogg, S.L. & Kristich, C.J. (2016). Functional dissection of the CroRS two-component system required for resistance to cell wall stressors in *Enterococcus Faecalis*. Journal of Bacteriology, 198, 1326–1336.
- 21.Khalandi, B., Asadi, N., Milani, M., Davaran, S., Abadi, A.J.N., Abasi, E. *et al.* (2017) A review on potential role of silver nanoparticles and possible mechanisms of their actions on bacteria. Drug Research, 11, 70–76.
- 22. Krishnan, R., Arumugam, V. & Vasaviah, S. K. J. J. N. N. (2015). The MIC and MBC of silver nanoparticles against $\it Enterococcus Faecalis$ a facultative anaerobe. Journal of Nanomedicine and Nanotechnology, 6, 285.
- 23.La Carbona, S., Sauvageot, N., Giard, J.C., Benachour, A., Posteraro, B., Auffray, Y. et al. (2007). Comparative study of the physiological roles of three peroxidases (NADH peroxidase, alkyl hydroperoxide reductase and
- 24.Lee, E.-W., Huda, M.N., Kuroda, T., Mizushima, T. & Tsuchiya, T. (2003) EfrAB, an ABC multidrug efflux pump in *Enterococcus Faecalis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 47, 3733–3738.
- 25.Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q. *et al.* (2019). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. International Journal of Nanomedicine, 14, 1469.
- 26.López, G., Latorre, M., Reyes-Jara, A., Cambiazo, V. & González, M.J.B. (2012) Transcriptomic response of *Enterococcus Faecalis* to iron excess. BioMetals, 25, 737–747
- 27.Lopez-Carrizales, M., Velasco, K.I., Castillo, C., Flores, A., Magaña, M., Martinez-Castanon, G.A. *et al.* (2018). In vitro synergism of silver nanoparticles with antibiotics as an alternative treatment in multiresistant uropathogens. Antibiotics. 7. 50.

- 28.McQuillan, J.S., Groenaga Infante, H., Stokes, E. & Shaw, A.M. (2012). Silver nanoparticle enhanced silver ion stress response in Escherichia coliK12. Nanotoxicology, 6, 857–866.
- 29. Mijnendonckx, K., Ali, M.M., Provoost, A., Janssen, P., Mergeay, M., Leys,
- 30.N. *et al.* (2019) Spontaneous mutation in the AgrRS two-component regulatory system of Cupriavidus metallidurans results in enhanced silverresistance. Metallomics, 11, 1912–1924.
- 31.Najafi, K., Ganbarov, K., Gholizadeh, P., Tanomand, A., Rezaee, M.A., Mahmood, S.S. *et al.* (2020) Oral cavity infection by *Enterococcus Faecalis*:virulence factors and pathogenesis. Reviews in Medical Microbiology, 31,51–60.
- 32.Niño-Martínez, N., Salas Orozco, M.F., Martínez-Castañón, G.-A., TorresMéndez, F. & Ruiz, F. (2019) Molecular mechanisms of bacterial resistance to metal and metal oxide nanoparticles. International Journal ofMolecular Sciences, 20, 2808.
 33.Panáček, A., Kvítek, L., Smékalová, M., Večeřová, R., Kolář, M., Röderová, M.
- 33.Panáček, A., Kvítek, L., Směkalová, M., Večeřová, R., Kolář, M., Röderová, M. et al. (2018) Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. Nature Nanotechnology, 13, 65–71.
- 34.Pereira, F.C., Nunes, F., Cruz, F., Fernandes, C., Isidro, A.L., Lousa, D. *et al.* (2019) A LysM domain intervenes in sequential protein-protein and protein-peptidoglycan interactions important for spore coat assembly in Bacillus subtilis. Journal of Bacteriology, 201, e00642-18.
- 35. Qayyum, S., Oves, M. & Khan, A.U. (2017) Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. PLoS One, 12, e0181363.
- 36.Salas-Orozco, M.F., Martínez, N.N., Martínez-Castañón, G.-A., Méndez, F.T., Patiño-Marín, N. & Ruiz, F. (2019b). Detection of genes related to resistance to silver nanoparticles in bacteria from secondary endodontic infections. Journal of Nanomaterials, 2019, 1–7. https://doi.org/10.1155/2019/8742975.
- 37.Salas-Orozco, M., Niño-Martínez, N., Martínez-Castañón, G.-A., Méndez, F.T., Jasso, M.E.C. & Ruiz, F. (2019a). Mechanisms of resistance to silver nanoparticles in endodontic bacteria: a literature review. Journal of Nanomaterials, 2019, 1–11. https://doi.org/10.1155/2019/7630316.
- 38 Salze, M., Giard, J.-C., Riboulet-Bisson, E., Hain, T., Rincé, A. & Muller, C. (2020). Identification of the general stress stimulon related to colonization in *Enterococcus Faecalis*. Archives of Microbiology, 202, 233–246.
- 39. Samiei, M., Farjami, A., Dizaj, S.M. & Lotfipour, F. (2016). Nanoparticles for antimicrobial purposes in endodontics: a systematic review of in vitro studies. Materials Science and Engineering C, 58, 1269–1278.
- 40.Shao, C., Shang, W., Yang, Z., Sun, Z., Li, Y., Guo, J. *et al.* (2012). LuxS-dependent Al-2 regulates versatile functions in *Enterococcus Faecalis* V583. Journal of Proteome Research, 11, 4465–4475.
- 41. Shevchenko, A., Tomas, H., Havli, J., Olsen, J.V. & Mann, M. (2006). In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. Nature Protocols, 1, 2856–2860.
- 42. Slavin, Y.N., Asnis, J., Häfeli, U.O. & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. Journal of Nanobiotechnology, 15, 1–20.
- 43.Stuart, C.H., Schwartz, S.A., Beeson, T.J. & Owatz, C.B. (2006). *Enterococcus Faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. Journal of Endodontics, 32, 93–98.
- 44.Tham, K.-C., Kanaar, R. & Lebbink, J.H. (2016). Mismatch repair and homeologous recombination. DNA Repair, 38, 75–83.
- 45.Tseng, C.-C., Tsai, Y.-H., Hu, A., Liou, J.-W., Chang, K.-C & Chang, H.-H.(2016). Altered susceptibility to the bactericidal effect of photocatalytic oxidation by TiO2 is related to colistin resistance development in Acinetobacter baumannii. Applied Microbiology and Biotechnology, 100, 8549–8561.
- 46. Verneuil, N., Sanguinetti, M., Le Breton, Y., Posteraro, B., Fadda, G., Auffray, Y. et al. (2004). Effects of the *Enterococcus Faecalis* hypR gene encoding a new transcriptional regulator on oxidative stress response and intracellular survival within macrophages. Infection and Immunity, 72, 4424–4431.
- 47.Vesić, D. & Kristich, C.J. (2013) A Rex family transcriptional repressor influences H2O2 accumulation by *Enterococcus Faecalis*. Journal of Bacteriology, 195, 1815–1824.
- 48.Wang, Q., Kang, F., Gao, Y., Mao, X. & Hu, X. (2016) Sequestration of nanoparticles by an EPS matrix reduces the particle-specific bactericidal 49.activity. Scientific Reports, 6, 21379.
- 50.Yan, X., Budin-Verneuil, A., Verneuil, N., Gilmore, M.S., Artigaud, S., Auffray, Y. *et al.* (2015). Transcriptomic response of *Enterococcus Faecalis* V583 to low hydrogen peroxide levels. Current Microbiology, 70, 156–168.
- 51.Yang, Y. & Alvarez, P.J. (2015). Sublethal concentrations of silver nanoparticles stimulate biofilm development. Environmental Science & Technology Letters, 2, 221–226.
- 52. Yang, Y., Mathieu, J.M., Chattopadhyay, S., Miller, J.T., Wu, T., Shibata,
- 53.T. *et al.* (2012) Defense mechanisms of Pseudomonas aeruginosa PAO1against quantum dots and their released heavy metals. ACS Nano, 6, 6091–6098.
- 54.Yu, H., Sun, H., Yin, C. & Lin, Z. (2019). Combination of sulfonamides, silver antimicrobial agents and quorum sensing inhibitors as a preferred approach for improving antimicrobial efficacy against Bacillus subtilis. Ecotoxicology and Environmental Safety, 181, 43–48.
- 55.Zhang, R., Carlsson, F., Edman, M., Hummelgård, M., Jonsson, B.G., Bylund, D. *et al.* (2018). Escherichia coli bacteria develop adaptive resistance to antibacterial ZnO nanoparticles. Advanced Biosystems, 2, 1800019.
- 56.Zuber, P. (2009). Management of oxidative stress in Bacillus. Annual Review of Microbiology, 63, 575–597.

Detección de genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos

Detection of antibiotics resistant genes in acute alveolar abscess

MsC Miguel Gómez Parra

Maestría en Endodoncia, UASLP, San Luis Potosí, México

PhD Fernando Torres Méndez

Maestría en Endodoncia, UASLP, San Luis Potosí, México

MsC Juana Guadalupe Mendoza Zapata

Facultad de Enfermería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

PhD Jorge Alejandro Alegría Torres

Departamento de Farmacología, Universidad de Guanajuato

PhD Yolanda Hernández Molinar

Maestría en Endodoncia, UASLP, San Luis Potosí, México

PhD Claudia Edith Dávila Pérez

Maestría en Endodoncia, UASLP, San Luis Potosí. México

Resumen

Introducción: La resistencia a antibióticos es una emergencia de salud global y amenaza con hacer que algunas enfermedades puedan agravarse al no poder ser tratadas con los antibióticos adecuados, algunos mecanismos que la predisponen se han atribuido a la transferencia de genes de resistencia.

Objetivo: Detectar genes de resistencia a antibióticos en abscesos alveolares agudos.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio transversal, descriptivo y prospectivo, incluyendo 19 pacientes conórganos dentarios con diagnóstico de absceso apical agudo, a los cuales se les tomó muestra del exudado purulento, realizando extracción, purificación y amplificación del ADN con genes de resistencia *bla*TEM y *bla*SHV.

Resultados: En la detección de los genes de resistencia a antibióticos el gen *bld*TEM se encontró en el 81.3% de las muestras, el gen *bla*SHV no se detectó.

Conclusiones: Se detectó la presencia del gen de resistencia a antibióticos *bla*TEMen bacterias de exudados periapicales, no se detectó el gen *bla*SHV.

Palabras clave: 16S rRNA, Genes de resistencia, blaTEM, blasSHV.

Abstract

Introduction: Antibiotic resistance is a global health emergency and threatens to cause some diseases to be aggravated by not being able to be treated with the appropriate antibiotics, some mechanism that predispose it have been attributed to the transfer of resistance genes.

Objective: Detect genes resistant to antibiotics in acute alveolar abscess.

Materials and methods: A cross-sectional, descriptive and prospective study was carried out, including 19 patients with dental organs with a diagnosis of acute apical abscess, from whom a purulent exudate sample was taken, extracting, purifying and amplifying the DNA with oligos blaTEM and *blaSHV* resistance genes.

Results: In the detection of antibiotic resistance genes, the blatem gene was found in 81.3% of the samples, the blashy gene was not detected.

Conclusions: The presence of the *bla*TEM antibiotic resistance gene was detected in bacteria from periapical exudates, the *bla*SHV gene was not detected.

Keywords: 16S rRNA, Resistance genes, blaTEM, blasSHV.

Introducción

a resistencia a los antibióticos es un fenómeno de crucial importancia en el tratamiento de enfermedades causadas por microorganismos patógenos. La excesiva prescripción de antibióticos y la automedicación hace difícil que se limite su uso, lo perocasiona que el no atacar a las bacterias co-

que ocasiona que el no atacar a las bacterias correctas, les da la oportunidad dehacerlas resistentes. Esta resistencia se considera multifactorial, algunos

mecanismos se han atribuido a la transferencia de genes de resistencia, otros se pueden presentar de forma intrínseca o por mutaciones genéticas.¹ El conocimiento de que las bacterias presentes en las infecciones endodónticas expresen genes que las hagan resistentes alas diferentes terapias antibióticas podría traducirse en una elección de planes de tratamiento más efectivos, menores recidivas, menor probabilidad de agudizaciones, así como no incrementar el uso injustificado de antibióticos sistémicos y sus respectivas consecuencias en el estado de salud general de los pacientes.

Objetivo

Detectar genes resistentes a betalactámicos en bacterias de exudados periapicales.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y prospectivo, incluvendo 19 pacientes con órganos dentarios con diagnóstico de absceso apical agudo basado en la presencia de dolor espontáneo, exacerbado a la masticación, e inflamaciónlocalizada o difusa, necrosis pulpar y detección radiográfica de ensanchamiento del ligamento periodontal y/o lesión periapical. Se excluyeron pacientes que hayan recibidoterapia antibiótica 3 meses antes de la toma de muestra y con enfermedades sistémicas. Se tomó muestra de exudado purulento, previo consentimiento informado aprobado porel Comité de Ética e Investigación de la Facultad de Estomatología con la clave CEI-FE-023-018. Las muestras se colocaron en PBS almacenándolas a -20°C, para posteriormente realizar la extracción y purificación del ADN, mediante el Wizard® Genomic DNA Purification Kit. Posteriormente se verificó y cuantificó la presencia de ADN en un espectofotómetro Nano-Drop™ Se procedió a realizar la amplificación con losoligos para el gen 16S rRNA y para los genes de resistencia *bla*TEM y *bla*SHV, utilizandouna mezcla maestra con buffer 5x, MgCl₂ 25 mM, oligo sentido y antisentido 10 uM c/u, ADN Taq Polimerasa 5u/uL, dDNTP's 10 mM, muestra de ADN1 ml, utilizando las siguientes condiciones de ciclado: una desnaturalización inicial a 95°C por 2 min, seguida por ciclos de desnaturalización por 30 seg, alineación a 60°C por 1 min, variando esta temperatura a 54°C para los genes de resistencia, una extensión a 72°C por un min, concluyendo con una extensión final a 72°C. Se procedió a realizar la electroforesis en gel de agarosa al 2% a 85 V por 60 minutos mediante una fuente de poder PowerPacTM Basic Power Supply de Bio-Rad. La observación del gel se realizó en el fotodocumentador EnduroTM Gel Documentation System. (Fig. 1)

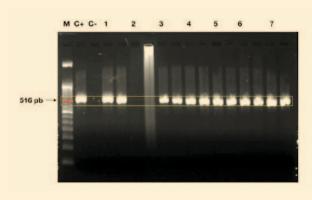


Fig. 1. Gel de agarosa al 2% para el gen de resistencia **bla**TEM

Resultados

Se realizó la prueba exacta de Fischer con el programa estadístico SPSS versión 24, entre la presencia del gen *bld*TEM y las variables cualitativas en cuanto a los síntomas presentes en los pacientes, sin encontrar resultadosestadísticamente significativos (p>0.05) (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de la presencia del gen *bla*TEM en abscesos alveolares agudos con variables cualitativas.

Síntoma	Gen <i>bla</i> TEM n(%)	Valor-P1					
Dolor espontáneo	12 (75)	.137					
Dolor a percusión	16 (100)	N/A					
Dolor a palpación	16 (100)	N/A					
Dolor a masticación	16 (100)	N/A					
Inflamación extraoral	5 (31.3)	1.678					
Inflamación intraoral	16 (100)	N/A					
Linfoadenopatía	3 (18.8)	.852					
Malestar general	4 (25)	1.231					
p <0.05, Prueba Exacta de Fischer.1							

Tabla 2. Amplificación de genes de resistencia blaTEM y blaSHV.

Gen de resistencia	Presencia n(%)	Ausencia n(%)	Total n(%)
blaTEM	13 (81.3)	3 (18.8)	16 (100)
blaSHV	0	16 (100)	16 (100)

En la detección de los genes de resistencia a antibióticos, el gen *bla*TEM se encontró en el 81.3% de las muestras, el gen *bla*SHV no se presentó en ninguna muestra. (Tabla 2)

Discusión

En el presente estudio la fase inicial consistió en una fase diagnóstica, depacientes con sintomatología que indicaba un absceso alveolar agudo, los cuales eran sometidos a un examen clínico y radiográfico para determinar su estado; realizada la

evaluación se detectó que el dolor a la percusión, palpación y masticación se encontraron presentes en todos los pacientes, esto debido a la inflamación generada enlos tejidos perirradiculares ante el ataque bacteriano y las defensas del huésped.² La resistencia a antibióticos ha sido estudiada desde el siglo pasado, en una revisión sistemática evidencian que la búsqueda de genes de resistencia se ha ido reproduciendoen diferentes ambientes orales como son: saliva humana, líquido crevicular, placa dental, intraconducto, dorso de lengua así como abscesos, siendo la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) el método más utilizado, 3,4,5 la cual se utilizó en el presente estudio. Los genes de resistencia mayormente estudiados en el campo endodóntico corresponden a genes de resistencia a penicilinas (β -lactamasas), tetraciclinas y macrólidos. En el presente trabajo, se investigaron los primeros mencionados, debido a que en el área endodóntica, las penicilinas corresponden a los antibióticos de primera elección demostrando una eficacia clínica ideal.7 En un estudio reportan la presencia delgen blaTEM en un 17%-43% de las muestras, lo cual contrasta con lo

detectado en el presente trabajo en donde se tuvo un mayor porcentaje (81.3%).⁸ La diferencia se adjudica a que la muestra fue intraconducto, sin embargo, en otro trabajo reportan un 24% la presencia de este gen, en muestras tomadas con un protocolo similar al presente estudio.⁹ Estos datos coinciden también con otro reporte en donde detectaron en infecciones endodónticas primarias un 87.1% el gen de resistencia *bla*TEM.¹⁰ En cuantoal gen de resistencia *bla*SHV, se ha encontrado hasta en un 80% en enterobacterias,¹¹ las cuales forman parte esencial de la microbiota de los abscesos alveolares agudos; sinembargo en la presente investigación ninguna de las muestras fue positiva para este gen.

Conclusión

Se logró detectar con un alto porcentaje (81.3%) la presencia del gen de resistencia a antibióticos *bla*TEM en bacterias de exudados periapicales, sin embargo no se detectó el gen *bla*SHV.

Referencias bibliográficas

- 1.Moraes LC, Só MVR, Dal Pizzol T da S, Ferreira MBC, Montagner F. Distribution of genes related to antimicrobial resistance in different oral environments: A systematic review. J Endodont. 2015;41(4):434–41.
- 2.Nair PNR. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. Periodontol 2000. 1997;13(1):121–48.
- 3. Jungermann GB, Burns K, Nandakumar R, Tolba M, Venezia RA, Fouad AF. Antibiotic resistance in primary and persistent endodontic infections. J Endodont. 2011;37(10):1337–44.
- 4.Sundsfjord A, Simonsen GS, Haldorsen BC, Haaheim H, Hjelmevoll S-O, Littauer P, et al. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. Apmis. 2004:112(12):815–37.
- 5.Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2015;13(1):42–51.
- 6.Livermore DM. Defining an extended-spectrum -lactamase. Clin. Microbiol. and Infect. 2008;14(1):3–10.
- 7.Lins RX, de Oliveira Andrade A, Hirata Junior R, Wilson MJ, Lewis MAO, Williams

- DW, et al. Antimicrobial resistance and virulence traits of Enterococcus faecalis from primary endodontic infections. J Dentist. 2013;41(9):779–86.
- 8.Rôças IN, Siqueira JF. Antibiotic resistance genes in anaerobic bacteria isolated from primary dental root canal infections. Anaerobe. 2012;18(6):576–80.
- 9.Rôças IN, Siqueira JF. Detection of antibiotic resistance genes in samples from acute and chronic endodontic infections and after treatment. Archiv Oral Biol. 2013:58(9):1123–8.
- 10.Domínguez-Pérez RA, De la Torre-Luna R, Ahumada-Cantillano M, Vázquez-Garcidueñas MaS, Pérez-Serrano RM, Martínez-Martínez RE, et al. Detection of the antimicrobial resistance genes blaTEM-1, cfxA, tetQ, tetM, tetW and ermC in endodontic infections of a Mexican population. J Global Antimicrob Resistan. 2018;15:20–4.
- 11. Iwahara K, Kuriyama T, Shimura S, Williams DW, Yanagisawa M, Nakagawa K, et al. Detection of cfxA and cfxA2, the -Lactamase Genes of Prevotella spp in clinical samples from dentoalveolar Infection by Real-Time PCR. J Clin Microbiol. 2006;44(1):172–6.





TRATAMIENTO INTEGRAL DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL



CEPILLO DENTAL

- Cepillo dental con cerdas suaves.
- Clínicamente probado en remover la placa debajo de la línea de las encías.
- Estimulador de punta sintética para masaje de encías.

PASTA DENTAL Y ENJUAGUE DENTAL

- Acción Dual Antiplaca (CHX + CPC).
- · Antiséptico de amplio espectro.
- Clorhexidina al 0.12% eficacia al 99% para eliminación de gérmenes y bacterias.
- No contine alcohol.
- Frescura y sabor agradable con efecto terapéutico.

SÍGUENOS EN:

- **★** @SunstarGumMx
- sunstargum_mx

latam.gumbrand.com



Análisis comparativo de la transportación en conductos simulados con doble curvatura al utilizar instrumentos para Glide Path rotatorios y reciprocantes

Comparative analysis of transportation in simulated canals with double curvature when using rotary and reciprocating glide path instruments

Analí Román Montalvo
Idalia Rodríguez Delgado
Jorge Jaime Flores Treviño
Susana Gomes Acevedo
Gustavo Israel Martínez González
Elizabeth Madla Cruz
Posgrado de Endodoncia, Facultad de Odotología, Universidad Autonóma
de Nuevo León

Introducción

n paso vital en el proceso de instrumentación es la preparación del glide path para permitir que todos los instrumentos subsiguientes se muevan suavemente desde el orificio coronal del conducto en una progresión sin obstrucciones

hasta la constricción apical. El glide path, en endodoncia, es un camino radicular sin interferencias que es reproducible por las limas utilizadas sucesivamente en el conducto y comienza desde la entrada al orificio coronal hasta el extremo fisiológico (constricción apical). Su diámetro mínimo debe ser el equivalente al de una lima #10 para que permita el paso de esta de manera holgada.(1)

El glide path, en endodoncia, es un camino radicular sin interferencias que es reproducible por las limas utilizadas sucesivamente en el conducto y comienza desde la entrada al orificio coronal hasta el extremo fisiológico (constricción apical). Su diámetro mínimo debe ser el equivalente al de una lima #10 para que permita el paso de esta de manera holgada.(2)

Se consigue un glide path de manera exitosa cuando la lima que lo forma puede entrar por el orificio y seguir las paredes lisas del canal sin interrupciones hasta el final; la falta de establecimiento de glide path puede resultar en la formación de escalones, obstrucción de los conductos radiculares, transportación, formación zip y perforación. Todos estos errores pueden llevar a un desbridamiento incompleto del sistema de conductos radiculares y a una disminución de las tasas de éxito de la terapia endodóntica.(3)

En los últimos años han salido al mercado nuevos sistemas de limas para la realización del glide path, ahora con un movimiento reciprocante el cual se sabe que tiene una mayor resistencia a la fatiga cíclica y por lo tanto a la fractura, lo cual es algo que se busca al momento de comprar limas. Aunque se han realizado mejoras notables en relación con los instrumentos de endodoncia y se han diseñado una variedad de nuevos instrumentos, es muy difícil para el dentista juzgar objetivamente las capacidades de todos estos instrumentos. La lima Pro-Glider (Dentsply Sirona; Ballaigues, Suiza) es un instrumento rotatorio para preparación de glide path fabricado con alambre NiTi de memoria (M-wire), que proporciona una mayor resistencia a la fatiga cíclica en comparación con los instrumentos NiTi convencionales. El instrumento ProGlider tiene un diámetro de punta de 0.16 en el D0, una conicidad progresiva que oscila entre el 2 y el 8% y una forma de sección transversal cuadrada.(4) La lima R-PILOT en 2008, Yared propuso el uso de instrumentos NiTi con movimiento reciprocante, lo que se informó que aumentaba la resistencia a la fatiga cíclica al exponer el instrumento a valores de tensión más bajos que la rotación continua.(5) El instrumento R-Pilot (VDW; Munich, Alemania) introduce el movimiento reciprocante en la preparación del glide path. Este instrumento está fabricado en aleación M-Wire y tiene un diámetro de punta de 0.12 mm con una conicidad constante del 4% y una sección transversal en forma de "S".(6) La lima WaveOne Gold Glider es otro instrumento reciprocante para glide path, el WaveOne Gold Glider (Dentsply Sirona; Ballaigues, Suiza), tiene un diámetro en su punta D0 es de 0.15 mm y conicidades variables de 2-6 % con diámetros máximos de ranura de D1 de 0.170 mm, de D8 de 0.413 y de D16 de 0.850 mm. El WaveOne Gold Glider está fabricado con alambre

Resumen

Introducción: Instrumentar un conducto curvo genera fuerzas que hacen que un instrumento sea presionado más agresivamente en la pared externa de la porción apical. Esto puede resultar en aberraciones de la anatomía del conducto como una transportación debido a la desviación del eje central de la lima. Objetivo: Comparar la transportación del conducto al utilizar limas WaveOne Gold Glider, R- Pilot, Proglider, V-Glide Path 2H y limas K en conductos simulados curvados en forma de S durante la realización del glide path. Metodología: Se rellenaron con tinta los conductos en forma de "S" de 50 bloques de entrenamiento y se obtuvieron imágenes de preinstrumentación utilizando un estereomicroscopio. Se dividieron en 5 grupos y en todos se utilizó primero una lima K #10 y posteriormente, en cada uno, una lima diferente para la realización de glide path. Se utilizó Proglider, V-Glide Path 2H, WaveOne Gold Glider, R-Pilot y lima K #15. Las imágenes de posinstrumentación se tomaron utilizando exactamente las mismas condiciones que las de las imágenes de preinstrumentación, y ambas imágenes se superpusieron. Se midieron las diferencias a lo largo del conducto en forma de S para los aspectos mesial y distal para evaluar la transportación. Resultados: Se observaron diferencias significativas (p=0.026) solamente en el tercio medio del conducto, siendo la lima de menor transportación la Proglider (0.021±0.009 mm), seguida de la WaveOne Gold Glider (0.025±0.011 mm); el resto de las limas como la manual (0.035±0.019 mm), la V-Glide Path 2H (0.049±0.026 mm) y la R-Pilot (0.053±0.024±) difirieron significativamente de las dos primeras. Conclusiones: Todos los instrumentos de glide path, sin importar su aleación o su movimiento, presentaron cierto grado de transportación dentro del conducto. Sin embargo, las limas para glide path Proglider y WaveOne Gold Glider presentaron significativamente menor grado de transportación en el tercio medio del conducto al compararlas con las limas NiTi R-Pilot. V-Glide Path 2H.

Palabras clave: *Glide Path, Proglider, V- Glide Path 2H, x, WaveOne Gold Glider,R-Pilot.*

Abstract

Introduction: Instrumentation of a curved canal generates forces that cause an instrument to be pressed more aggressively into the outer wall of the apical portion. This can result in aberrations of the canal anatomy as a transport due to the deviation of the central axis of the file. AIM: To compare canal transportation using WaveOne Gold Glider, R-Pilot, Proglider, V-Glide Path 2H and K files in simulated S-shaped canals during glide path realization. Methods: The S-shaped canals of 50 trainingblocks were filled with ink and preinstrumentation images were obtained using a stereomicroscope. They were divided into 5 groups and all of them used first a file K#10 and then using in each one a different file for the realization of glide path. Proglider, V- Glide Path 2H, WaveOne Gold Glider, R-Pilot and file K #15 were used. The post-instrument images were taken using exactly the same conditions as the pre-instrumentation images, and both images were superimposed. Differences along the "S"-shaped canal were measured for mesial and distal aspects to assess transportation. **Results:** Significant differences (p=0.026) were observed only in the middle third of the duct, with the file with the least transport being the Proglider (0.021±0.009 mm) followed by the Wave One Gold Glider (0. 025±0.011 mm); the rest of the files such as the manual (0.035±0.019 mm). the V-Glide Path 2H (0.049±0.026 mm) and the R-Pilot (0.053±0.024±) differed significantly from the firsttwo. Conclusions: All glide path instruments regardless of alloy or movement had some degree of transport within the canal. However, the Proglider and Wave One Gold Glider glide path files showed significantly less transport in the middle third of the canal when compared to the NiTi R-Pilot files. V-Glide Path 2H.

Keywords: *Glide Path, Proglider, V- Glide Path 2H, x, WaveOne Gold Glider, R-Pilot.*

dorado (Gold Wire) que ha recibido un tratamiento termomecánico y tiene una sección transversal en forma de paralelogramo, al igual que todos los instrumentos WaveOne Gold.(7) Las limas V-Glide Path 2H (SS White, Lakewood, NJ) son otros instrumentos de NiTi con aleación CM-Wire lo que presenta una memoria controlada y permite que la lima permanezca flexible, incluso en los conductos más curvos. Tiene una punta no cortante y presenta

una conicidad variable lo que ayuda a preservar la dentina en toda la zona pericervical comenzando en su D0 con 0.17 mm y con una conicidad de 4 % hasta el D4; después del D5 al D12 presenta una conicidad de 2 % y a partir del D13 cambia a una conicidad 0 %, terminando en su D16 a 49 mm.(8) Tienen un diseño de sección transversal parabólica que combina alta eficiencia y flexibilidad, a la vez que son seguras y resistentes a la fractura.(9)

Por lo tanto, en esta investigación se busca analizar y comparar la transportación de los diferentes instrumentos para glide path reciprocantes WaveOne Gold Glider y R-Pilot, las limas rotatorias Proglider y V-Glide Path 2H y las limas manuales tipo K. Bajo esta problemática se establece la siguiente pregunta de investigación:

¿Habrá una diferencia significativa en la transportación durante la realización de glide path en conductos simulados con doble curvatura entre las limas WaveOne Gold Glider, R-Pilot, Proglider, V-Glide Path 2H?

Materiales y métodos

Se utilizaron 50 bloques de acrílico transparente con un conducto simulado con doble curvatura (en forma de "S") ISO 0.15 mm, taper 0.02, con una longitud de trabajo de 16 mm. (S-Shaped Endo Training Block, Dentsply Maillefer). Los bloques se numeraron y los conductos radiculares simulados se tiñeron mediante inyección de tinta azul. Se tomó una fotografiía inicial del bloque sin instrumentar con el Esteroescopio Stemi 305 Zeiss, a una distancia de 8.6 cm con un aumento de 10x y las imágenes se guardaron como archivos JPEG. Posteriormente, los conductos radiculares simulados se lavaron con agua destilada para eliminar la tinta y los bloques se dividieron aleatoriamente en 5 grupos (n = 10) para comenzar su instrumentación. Todos los cubos se instrumentaron hasta longitud de trabajo la cual es de 16 mm. Se dividieron en 5 grupos, distribuidos de la siguiente manera: Grupo 1: 10 cubos de acrílico transparente con doble curvatura en forma de S se instrumentaron primero con lima manual de acero inoxidable K #10 y posteriormente con lima reciprocante Wave One Gold Glider (Dentsply Maillefer); Grupo 2: 10 cubos de acrílico transparente con doble curvatura en forma de S se instrumentaron primero con lima manual de acero inoxidable K #10 (Dentsply Maillefer) y posteriormente con lima reciprocante R-pilot (VDW); Grupo 3: 10 cubos de acrílico transparente con doble curvatura en forma de S se instrumentaron primero con lima manual de acero inoxidable K #10 (Dentsply Maillefer) y posteriormente con lima rotatoria Proglider (Dentsply Maillefer); Grupo 4: 10 cubos de acrílico transparente con doble curvatura en forma de "S" se instrumentaron primero con lima manual de acero inoxidable K #10 (Dentsply Maillefer) y posteriormente con lima rotatoria V- Glide Path 2H (SSWhite), y Grupo 5: 10 cubos de acrílico transparente con doble curvatura en forma de S se instrumentaron con lima manual de acero inoxidable K #10 y #15 (Dentsply Maillefer).

Todas las etapas de preparación para cada uno de los grupos fueron realizadas por la misma persona. Se utilizó un juego de instrumentos nuevos para la preparación de cada bloque. Se utilizó agua destilada para la irrigación durante la instrumentación en todos los grupos.

Posteriormente se tiñeron los conductos radiculares con tinta roja utilizando una jeringa de 5 ml con una punta de irrigación Pro Rinse de 30 ga y de 25 mm de largo. Se tomaron las fotografías posinstrumentación con las mismas características que las imágenes preinstrumentación, las cuales son utilizando el Esteroescopio Stemi 305 Zeiss a una distancia de 8.6 cm con un aumento de 10x. y las imágenes se guardaron como archivos JPEG.

Las imágenes previas y posteriores a la preparación se transfirieron al programa Adobe Photoshop 2020 para la superposición de ambas imágenes. Se detectaron nueve zonas de medición a lo largo de los conductos y se evaluaron mediante la agrupación de estas en 3 tercios: como zonas 1, 2 y 3 en el tercio apical en el cual se encuentra la primera curvatura, zonas 4, 5 y 6 en el tercio medio en el que se encuentra la segunda curvatura y por último zonas 7, 8 y 9 en el tercio cervical en el cual se encuentra el trayecto recto del conducto.

La cantidad de resina extraída de los lados interno y externo de los conductos se midió con el programa Adobe Illustrator 2020. La cantidad de transporte se calculó como el valor absoluto de la diferencia entre la cantidad de resina eliminada del aspecto interno y externo de los conductos, método propuesto por Keskin et al. 2018.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa *IBM Statistics 24*. Para el análisis estadístico de datos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con 95 % de confiabilidad (1-α: 0.95), además de pruebas HSD de Tukey para evaluar la diferencia entre los grupos.

Resultados

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los diferentes tipos de limas, tanto en el tercio apical (p=0.1542) como en el tercio cervical (p=0.4697). Respecto a la transportación en el tercio medio, se concluye que si se observaron diferencias significativas (p=0.026), siendo la lima de menor transportación la Proglider (0.021±0.009 mm) seguida de la Wave One Gold Glider (0.025±0.011 mm); el resto de las limas como la manual (0.035±0.019 mm), la V-Glide Path 2H (0.049±0.026 mm) y la R-Pilot (0.053±0.024±) difirieron significativamente de las dosprimeras. (Tabla 1 y figura 1)



Complementando nuestra mejor TECNOLOGÍA CONTRA LA GINGIVITIS

Enjuague bucal Colgate PerioGard®

- Digluconato de clorhexidina al 0.12%.
- Alta sustantividad: se mantiene activo por hasta 8 horas, y se libera gradualmente.⁽¹⁾
- Reducción del 99% de los microorganismos bucales que causan la gingivitis.⁽²⁾

Crema Dental Colgate PerioGard®

- Ayuda a prevenir el sangrado gingival en hasta el 66.7%.⁽³⁾
- Actúa sobre los causantes de la gingivitis, principalmente en regiones a las que no puede llegar el paciente.⁽⁴⁾
- Previene la recolonización bacteriana.⁽⁵⁾



NUEVA

gingival.

que garantizan la eliminación

biopelícula sin agredir el tejido

profunda y eficiente de

Colgate
PerioGard*
CITRATO DE ZINC 2%

FORMULA ESPECIALIZADA
OUE AYUDA A PREVENDE
GINGIVITIS
PLACA BACTERIANA
MAL ALIENTO

UTILICE EL PRODUCTO BAJO ORIENTACIÓN DE SU ODONTÓLOGO

SIN ALCOHOL

ENCÍAS SALUDABLES

GENGINA SAUDINA

Inferences: (1) if Bonescott P Lokem, G Rollu and ITN, Puts. (1) 763-Respition of chorhosodine in the human or centry after mouth mise. Arch Chair Bot May: 19(3): 205-212. (2) the Aborquentique Prize Head. TW, Mari H, Mulleri Sanchies K. Ito W. Reduction of shilwary S. Aureus and mutans group streptococci by a preprocedula inforcessing use and matomal inhibitory distinction of chloriesastine and per gypyridineapy. Quitesserve Int. 2004 Sec. 355: 835-80. (3) Williams C., Moster K. et al. (1998) Efficacy of a greeter fee contamining and citrate for the control leagues and groupeuts. Compendic Control Ratio. Enter 1905 Supplies 3.5 (4) Holl D.S., Serenivastin PR., Zhang YB, 6200 W. The affects of a and citrate dentifice on bacterial found do on: surfaces. Oral Health Prev Dect. (8) 1347-5 55 KW. Parasid. A. Hyatan, N. Rob. A.R. Rets. IRK. Seeminasan: Effects of bottlipadies on marodo- and hacterial for all environments. Data on File: Colgate Patricial Company Study.

Aut. S.S.A. No. 193300202C5467 Material para uso exclusivo del odontólogo



_

	Proglider		Manula		WaveOne Gold Glide		R-Pilot		V-Glide Path	
Zona	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
1	0.042	0.015	0.070	0.017	0.036	0.017	0.051	0.017	0.055	0.014
2	0.041	0.026	0.035	0.022	0.028	0.015	0.025	0.017	0.030	0.015
3	0.014	0.009	0.019	0.011	0.025	0.015	0.038	0.018	0.023	0.019
4	0.012	0.011	0.030	0.010	0.026	0.015	0.048	0.028	0.030	0.023
5	0.022	0.011	0.038	0.026	0.027	0.012	0.050	0.024	0.053	0.029
6	0.031	0.012	0.038	0.023	0.022	0.013	0.060	0.023	0.064	0.031
7	0.018	0.014	0.178	0.494	0.018	0.014	0.045	0.019	0.042	0.025
8	0.023	0.018	0.019	0.017	0.015	0.009	0.036	0.017	0.033	0.014
9	0.025	0.021	0.020	0.019	0.012	0.009	0.030	0.016	0.029	0.011

Tabla 1. Estadística descriptiva de la transportación por zona y tiip de lima

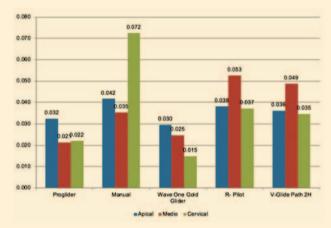


Figura 1: Medida de la transportación por tercio y tipo de lima

Figura 1: Se dividieron las 9 zonas en 3 tercios. El tercio apical comprende la zona 1,2 y 3 y es donde se encuentra la primera curvatura del conducto. El tercio medio comprende la zona 4, 5 y 6 y es donde se encuentra la segunda curvatura del conducto. El tercio cervical comprende la zona 7, 8 y 9 y es donde se encuentra el trayecto recto del conducto. En este gráfico se compara la media de la transportación de cada tercio de las diferentes limas.

Discusión

Los dientes naturales son los mejores especímenes para evaluar los efectos de la conformación de la instrumentación, pero son muy difíciles de estandarizar debido a las diferentes curvaturas, el diámetro inicial del conducto y la dureza de la dentina.(10) Otros investigadores argumentaron que cuando se utilizan dientes naturales, las variaciones anatómicas de estos dientes afectan los resultados más que las limas de NiTi.(11) Por esta razón y considerando estas condiciones, se utilizaron los conductos simulados en forma de S para eliminar las variaciones

anatómicas que tienen los dientes naturales. El uso de bloques de resina permite la estandarización de las dimensiones de los conductos radiculares simulados. Existen diversos estudios en los cuales utilizan conductos simulados de resina en forma de "S", comparando fácilmente las capacidades de modelado de las limas NiTi utilizando imágenes pre y post instrumentación de los conductos.(10, 12, 13, 14) Sin embargo, los resultados de estos estudios que utilizaron conductos simulados deben llevarse a las condiciones clínicas con cuidado debido a las diferencias entre la resina y la dentina. (12, 13, 14) Se decidió utilizar conductos en forma de S en el presente estudio debido a las dificultades inherentes a la preparación de conductos con esta forma sin causar deformaciones como consecuencia de la presencia de las 2 curvaturas para los endodoncistas.(15, 16, 17, 18)

Se ha establecido en previas investigaciones que una recomendación muy importante para la instrumentación segura y efectiva del NiTi rotatorio de los conductos curvos es crear primero

NITRILE



POWDER FREE **GUANTES DE NITRILO**

Los quantes Ah Kim Pech son fabricados 100% Sintético de Nitrilo, bajo la más alta calidad Premium al ofrecer un quante desechable, bajo en polvo seguro, no esterilizado, ambidiestro y eficaz. Además, contamos con 4 diferentes tallas ajustándose perfectamente a cada usuario para brindarle todos los beneficios del confort y precisión sin estorbar a la hora de utilizarlo.





Fuerza y protección superior para aplicaciones húmedas o secas Ambidiestros / Ambidextrous Libre de polvo / Powder free No Estéril / Non sterile Desechable / Single use only



Negro/Black





Disponibles en:





Azul









SÍGUENOS EN:

TEL: 01800 777 11 33









un glide path. La aparición de modificaciones y transportación en los conductos parece reducirse significativamente cuando se realiza un glide path previo a la instrumentación rotatoria.(16)

Está observado que todos los instrumentos endodónticos, independientemente de la aleación utilizada durante su fabricación, tienden a enderezarse en el interior del conducto radicular (19) Varios estudios han demostrado que los sistemas de limas de glide path rotatorio de NiTi exhiben menos transportación del conducto que las limas manuales tipo K de acero inoxidable.(20)

El presente resultado concuerda en cierta parte con estudios anteriores que muestran que los instrumentos rotatorios de NiTi causan menos desviación de las paredes del conducto en comparación con las limas manuales de acero inoxidable (10, 21, 22). En este estudio se encontró que las limas de NiTi Proglider y WaveOne Gold Glider tuvieron una diferencia significativa en cuanto a una menor transportación sobre la limas manuales de acero inoxidable tipo K en el tercio medio. Lo cual concuerda con el estudio realizado por Zheng et al., en el 2018, en el que compararon la lima Proglider, PathFile y lima manual tipo K en 60 conductos mesiales mandibulares. Ellos encontraron que después de la preparación de glide path, los 2 grupos de limas rotatorias NiTi Proglider y PathFile mostraron significativamente menos transporte del conducto que el grupo de lima manual tipo K, solo que a diferencia del presente estudio, ellos encontraron esta diferencia significativa en todos los niveles y no solo en el tercio medio.(22) En otro estudio realizado encontraron que las limas NiTi Proglider y One-G presentaban significativamente una menor transportación que la lima manual tipo K en el tercio apical, y no encontraron diferencia significativa entre las 3 en el tercio medio y coronal.(23)

Sin embargo, en el presente estudio no se encontró diferencia significativa al comparar las mismas limas manuales tipo K con las limas rotatorias NiTi R-Pilot y V-Glide Path. Esto puede deberse a que los resultados se compararon por tercios y al promediarse las 3 zonas dentro de cada tercio se pudo haber beneficiado la lima manual. Aun así observamos que al comparar cada zona individualmente, la lima manual fue la que mostró la medida más alta de transportación entre todas las limas utilizadas en el estudio, la cual se observa en la zona 7 (Figura 1). Por lo tanto, los instrumentos rotatorios de NiTi parecen ser más apropiados para la preparación del glide path, especialmente la lima Proglider y WaveOne Gold Glider.

En otro estudio en el que utilizaron la microtomografia computarizada compararon la lima R-Pilot, WaveOne Gold Glider y Proglider, los autores no encontraron ninguna diferencia significativa entre las 3 limas en cuanto a la transportación en el tercio apical. Sin embargo, las limas WaveOne Gold Glider y R-Pilot (comparados con Proglider) crearon una transportación significativamente menor en el tercio medio y cervical.(24) Lo cual difiere de los resultados obtenidos, en los cuales no se encontró diferencia significativa en el tercio apical y tercio coronal pero sí la hubo en el tercio medio en el cual la lima Proglider y WaveOne Gold Glider se encontraron significativamente por encima de la R-Pilot. Estos resultados diferentes pueden deberse a que en el presente estudio se utilizaron cubos de resina simulados con doble curvatura y en el otro estudio utilizaron dientes naturales con una curvatura estandarizada.

Además de la anatomía del conducto, el diseño de la sección transversal y el diseño de la punta del instrumento se han identificado como factores que pueden influir en los resultados de la preparación. El diseño de la sección transversal influye en varios factores que afectarán a la distribución de la tensión, el momento polar de inercia, la profundidad de la flauta, el área del núcleo interno continuo y el terreno radial y la superficie periférica de la base.(26) En el presente estudio cada instrumento presentaba un diseño de sección transversal distinto. La lima Proglider y la lima tipo K presenta una forma cuadrada, la lima WaveOne Gold Glider de paralelogramo, la R-Pilot en forma de S y la V-Glide Path en forma parabólica. En este caso se obtuvo mejores resultados con los instrumentos con sección transversal en forma cuadrada y de paralelogramo, pero se necesitan más estudios en los que investiguen la relación de la sección transversal con la transportación del conducto.

Conclusiones

Con la metodología utilizada en este estudio se puede concluir que todos los instrumentos para glide path sin importar su aleación o su movimiento presentan cierto grado de transportación dentro del conducto. Sin embargo, las limas para glide path Proglider y WaveOne Gold Glider presentaron significativamente menor grado de transportación en el tercio medio del conducto al compararlas con las limas R-Pilot y V- Glide Path 2H.

UNIFORMESMÉDICOS



TECNOLOGÍAS















32 Boutiques en México, una en España.

gallantdale

Referencias bibliográficas

1.Khatavkar R, Hedge V. Importance of patency in endodontics. Endodontology. 2010;22(1):85-91.

2.West J. The endodontic glide path: Secrets to rotatory success. Dent Today. 2010; 29(9):11-16.

3.Mounce R. An excellent glide path, the road to smoother endodontics. JDOH. 2004;94(3):51-68.

4.Elnaghy AM, Elsaka SE. Evaluation of the mechanical behaviour of PathFile and ProGlider pathfinding nickel-titanium rotary instruments. Int Endod J. 2015;48(9):894-901.

5.Yared G. Canal preparation using only one Ni-Ti rotary instrument: preliminary observations. Int Endod J. 2008;41(4):339-344.

6.kim et al., 2018

7.Keskin C, İnan U, Demiral M, Keles, A. Cyclic fatigue resistance of R-Pilot, WaveOne Gold Glider, and ProGlider glide path instruments. Clin Oral Investig. 2018;22(9):3007-3012.

8. Chang SW, Shim KS, Kim YC, Jee KK, Zhu Q, Perinpanayagam H. Cyclic fatigue resistance, torsional resistance, and metallurgical characteristics of V taper 2 and V taper 2H rotary NiTi files. Scanning. 2016; 38(6):564-570.

9.Shenoi PR, Luniya DA, Badole GP, Makade CS, Kubde R, Khode RT. Comparative evaluation of shaping ability of V-Taper 2H, ProTaper Next, and HyFlex CM in curved canals using cone-beam computed tomography: An. Indian J Dent Res. 2017;28(2):181-186.

10.Ajuz NC, Armada L, Gonçalves LS, Debelian G, Siqueira JF. Glide path preparation in S-shaped canals with rotary pathfinding nickel-titanium instruments. J Endod. 2013;39(4):534-537.

11.Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. J Endod. 2001; 27(1):1-6.

12.Bürklein S, Poschmann T, Schäfer E. Shaping ability of different nickel- titanium systems in simulated S-shaped canals with and without glide path. J Endod. 2014;40(8):1231- 1234.

13.Keskin C, Sariyılmaz E, Demiral M. Shaping ability of Reciproc Blue reciprocating instruments with or without glide path in simulated S-shaped root canals. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects. 2018;12(1):63-67.

14.0 Özyürek T, Yılmaz K, Uslu G. Shaping Ability of Reciproc, WaveOne GOLD,

and HyFlex EDM Single-file Systems in Simulated S-shaped Canals. J Endod. 2017;43(5):805-809.

15.Allen MJ, Glickman GN, Griggs JA. Comparative analysis of endodontic path-finders. J Endod. 2007;33(6):723-726.

16.Berutti E, Cantatore G, Castellucci A, Chiandussi G, Pera F, Migliaretti G, et al. Use of nickel-titanium rotary PathFile to create the glide path: comparison with manual preflaring in simulated root canals. J Endod. 2009;35(3):408-412.

17.Bonaccorso A, Cantatore G, Condorelli GG, Schafer E, Tripi TR. Shaping ability of four nickel-titanium rotatory instruments in simuloated S-shaped canals. J Endod. 2009;35(6):883-886.

18. Yoshimine Y, Ono M, Akamine A. The shaping effects of three nickel-titanium rotary instruments in simulated S-shaped canals. J Endod. 2005;31(5):373-375.

19. Young GR, Parashos P, Messer HH. The principles of techniques for cleaning root canals. Aust Dent J. 2007;52(1):52–63

20.Alovisi M, Cemenasco A, Mancini L, Paolino D, Scotti N, Bianchi CC, Pasqualini D. Micro-CT evaluation of several glide path techniques and ProTaper Next shaping outcomes in maxillary first molar curved canals. Int Endod J. 2017;50(4);387–

21. Gergi R, Rjeily JA, Sader J, Naaman A. Comparison of canal transportation and centering ability of twisted files, Pathfile-ProTaper system, and stainless steel hand K-files by using computed tomography. J Endod 2010;36(1):904–907.

22.Zheng L, Ji X, Li C, Zuo L, Wei X. Comparison of glide paths created with K-files, PathFiles, and the ProGlider file, and their effects on subsequent WaveOne preparation in curved canals. BMC Oral Health. 2018;18(1):149-152.

23.Van Der Vyver PJ, Paleker F, Vorster M, De Wet FA. Micro computed to-mographic evaluation of two single rotary glide path systems. Int Endod J. 2019;52(3):352-358.

24.Aydin ZU, Keskin NB, Özyürek T, Geneci F, Ocak M, Çelik HH. Microcomputed assessment of transportation, centering ratio, canal area, and volume increase after single- file rotary and reciprocating glide path

25.instrumentation in curved root canals: a laboratory study. J Endod. 2019;45(6):791-796.

26.Iqbal MK, Kohli MR, Kim JS. A retrospective clinical study of incidence of root canal instrument separation in an endodontics graduate program: a PennEndo database study. J Endod. 2006;32(11): 1048–1052.

En equipos de Rayos-X INTRA-ORALES y SENSORES DIGITALES

Hemos contado 18 marcas que aparecieron para luego desaparecer y otras que no pueden vender sus productos a Estados Unidos...

¿SERÁ POR ALGO? Corix ha estado presente en el mercado DESDE HACE 46 AÑOS... ¿SERÁ POR ALGO?

Corix Medical Systems®, #1en Radiología Dental y Veterinaria.



A Division of CORIX MEDICAL SYSTEMS®

Lauro Villar No. 94-B, 02440 Mexico, CDMX Tel. +52-55-5394-1199 • Fax: +52-55-5394-8120 www.corix.us







Y PONEMOS A SU DISPOSICION NUESTRA ACOSTUMBRADA AMPLIA GAMA DE SERVICIOS.

- Radiología Dental Digital y Tomografía Volumétrica
- Fotografía Clínica Digital y Estudios Orthokinéticos
- Estereolitografía, Modelos Médicos en 3D
- Análisis Cefalométrico Dolphin Imaging[®]
- Anatomía Patológica y Patología Bucal
- Escaneo Intraoral 3shape®
- Bondeado Digital Indirecto Biotransfer 3D[®]
- Modelos Virtuales en 3D y Modelos de Yeso
- Guías Quirúrgicas DRD3D[®]
- Aparatología para Ortodoncia,Ortopedia y Odontopediatría
- Alineadores Dentales Invissiblen®





DRD DIAGNÓSTICO 3D

Del Dr. Antonio Gual Sill

INTERLOMAS © Blvd. Interlomas 5, L -10 P. B. 55.5290.1084 // 55.5290.0226

DEL VALLE © Uxmal 805 - 5. 55.5605.8652 // 55.5605.6531

IZTACALCO Av. Río Churubusco No. 775 55.5648.2256 // 55,5648,8493 NEZAHUALCÓYOTL Adolfo López Mateos 481 P - 1. 55.2232,8084 // 55,2232,8085

PEDREGAL SJ © C. Santa Teresa 13, N3, L - 18 55.5135.5425 // 55.5135.4221

POLANCO Mariano Escobedo No. 375 D -1304, 55,5203,5169 // 55,5545,4542

ECATEPEC Av. Central 50, M. 44 L-7, P. B.

Av. Central 50, M. 44 L-7, P. B. 55.5774.9280 // 55.5774.9283

LINDAVISTA VALLEJO ©
Calz. Vallejo 1111, Local 23
55.5567.7724 // 55.5567.7733

DEL VALLE EXPRESS Uxmal 605, Planta Baja. 55.5605.8652 // 55.5605.6531 COAPA ®

Prol. Div. del Norte 4344, L - 30 55.5678,4860 // 55.5677.5336

ROMA Puebla 170, Roma Nte. 55.5162.3811 // 55.5162.3813





