



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

BIOFILM: FACTOR DE FRACASO EN EL TRATAMIENTO ENDODÓNTICO

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

LILIANA HUITRÓN MORALES

**DIRECTORA: C.D.E.E. AMALIA CONCEPCIÓN BALLESTEROS
VIZCARRA**

MÉXICO D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	5
1. DESEMPEÑO DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS PATOLOGÍAS PULPARES Y PERIAPICALES	8
1.1 Vías de invasión bacteriana	9
▪ Túbulos dentinarios	
▪ Defectos en el sellado marginal	
▪ Infección periodontal	
▪ Traumatismos	
▪ Otras vías de infección	
1.2 Factores microbiológicos que establecen una infección endodóntica	11
▪ Carácter de la invasión, microbiota y número de microorganismos	
▪ Endotoxinas	
▪ Exoenzimas	
▪ Exotoxinas	
▪ Tiempo	
Microbiota del sistema de conductos radiculares en pulpas necróticas	13
1.4 Aspectos microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica	21
1.5 Microbiología de los fracasos endodónticos	23
2. DEFINICIÓN DE BIOFILM	38
3. DESARROLLO DEL BIOFILM	39
3.1 A partir de una célula planctónica	39
3.2 A partir de otro biofilm	41
3.3 Unión a la superficie	41
3.4 Adherencia con otras células y formación de microcolonias	42

3.5 Maduración dentro de una capa de exopolisacáridos	42
4. ESTRUCTURA DEL BIOFILM	43
5. PROPIEDADES DE LOS BIOFILMS	45
5.1 Heterogeneidad fisiológica	45
5.2 Fenotipos en el biofilm	46
5.3 Señales en el biofilm	46
5.4 Capacidad adaptativa	46
6. VENTAJAS DE LOS BIOFILMS	47
6.1 Resistencia frente a los antimicrobianos.....	47
7. ELIMINACIÓN DEL BIOFILM	49
7.1 Antibioticoterapia	49
7.2 Limpieza	50
7.3 Desinfección	51
CONCLUSIONES	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

INTRODUCCIÓN

Los dientes comparten el microambiente de la cavidad bucal con alrededor de 500 especies bacterianas.

Cuando el esmalte y la dentina están intactos, protegen a la pulpa. Si esa protección se rompe, algunos microorganismos pueden llegar hasta ella. Aunque hay diversos caminos para que las bacterias lleguen a la pulpa, el modo más frecuente es mediante la caries, en la cual poco a poco se aproximan hasta alcanzarla.

En esa situación el tejido pulpar impotente, no consigue impedir la infiltración y la diseminación de los microorganismos o de sus productos y comienzan a desintegrarse porciones de la pulpa. La necrosis es inevitable y se crean condiciones favorables para una infección pulpar masiva.

Con la pulpa necrosada y la cavidad pulpar contaminada por completo, los productos tóxicos bacterianos y las sustancias agresivas derivadas de la necrosis séptica de la pulpa terminan por alcanzar los tejidos perirradiculares, lo que origina las periodontitis perirradiculares. ¹

En 1890, W.D. Miller, el padre de la microbiología oral, fue el primer investigador que asoció la presencia de bacterias con las enfermedades pulpares.

Después, en 1965, Kakehashi, publicó un estudio en el que probó que las bacterias eran la causa de las enfermedades pulpares y perirradiculares.

Kakehashi expuso las pulpas dentarias de ratas con flora microbiana normal, lo cual, produjo necrosis de la pulpa y formación de lesiones perirradiculares. Mientras que en las pulpas libres de gérmenes, no se generaron cambios patológicos cuando fueron expuestas. Estas cicatrizaron y en ellas se

formaron puentes dentinarios, con independencia de la intensidad de la exposición pulpar, lo que demostró que la ausencia o presencia de bacterias era un factor determinante de las enfermedades pulpares y perirradiculares. ²

Es importante considerar que la gravedad de la mayoría de las enfermedades pulpares y perirradiculares, no solo se debe a la presencia de microorganismos sino también a la virulencia de los mismos y a la resistencia del huésped.

Además, la variedad de microorganismos presentes en el sistema de conductos radiculares dependerá de la disponibilidad de nutrientes, del tenor de oxígeno y de las interacciones entre ellos. ¹

Por tanto, el objetivo del tratamiento endodóntico es la eliminación de los microorganismos y sus productos de degradación, así como la prevención o inhibición del crecimiento bacteriano. ³

Estudios clínicos han demostrado que la preparación biomecánica y el uso de antimicrobianos en la terapia endodóntica, son efectivos en la reducción de la carga bacteriana del sistema de conductos radiculares. Sin embargo, algunas bacterias pueden persistir a pesar de estos esfuerzos. ⁴

La principal dificultad frente a la eliminación de los microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares, es el hecho de que estos crecen como biofilms. ⁵

Costerton en 1987 definió el biofilm como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida e inmersa en un medio líquido. Posteriormente, Costerton definió el biofilm como: “una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz

extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o a la expresión de sus genes”. 6

Un biofilm desarrollado es muy resistente, y un problema cuando se precisa un entorno limpio y desinfectado. Además, los biofilms bacterianos demuestran resistencia a una amplia gama de antimicrobianos. De ahí la importancia de su estudio. 7

1. DESEMPEÑO DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS PATOLOGÍAS PULPARES Y PERIRRADICULARES.

Normalmente la pulpa dental es un tejido estéril y está principalmente involucrada en la producción de dentina y en la sensibilidad del diente.

Cualquier lesión de la pulpa puede desencadenar una respuesta inflamatoria de la misma. Si bien los irritantes pueden ser de naturaleza física o química, los microorganismos son considerados el principal agente etiológico. Las patologías pulpares y perirradiculares suelen ser el resultado directo o indirecto de la presencia de bacterias y otros microorganismos en el medio bucal.

Dado que los microorganismos desempeñan un papel primordial en la patogénesis de las lesiones pulpares y perirradiculares es preciso manejar los fundamentos de la microbiología endodóntica para entender el papel que desempeñan en estas afecciones, las vías de difusión de la infección pulpar y perirradicular, las respuestas de los tejidos ante estos agresores y los métodos utilizados para controlar y erradicar las infecciones del sistema de conductos radiculares. ⁵

Las diferentes características de los elementos constituyentes de la cavidad oral favorecen la aparición de microsistemas bacterianos específicos. Los tejidos duros dentarios actúan como barreras mecánicas defensivas impidiendo la invasión bacteriana de la pulpa. Su destrucción, parcial o completa, determina la progresión de los microorganismos hacia el interior de la cavidad pulpar. ⁸

Cuando el complejo dentino-pulpar es infectado, los tejidos reaccionan en contra de los microorganismos invasores a fin de erradicarlos. Sin embargo, si la infección no es erradicada a través de procesos naturales o procedimientos operatorios, los microorganismos invaden el complejo dentino-pulpar venciendo las defensas y causando la enfermedad pulpar; infectando la cámara pulpar, el sistema de conductos radiculares, y los tejidos del periápice debido a que el sistema de conductos radiculares está en abierta comunicación con los tejidos

perirradiculares (ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar) por las vías del foramen apical, conductos laterales y accesorios. 2,5,8

1.1 Vías de invasión bacteriana

Las bacterias y otros microorganismos pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar. En función de su magnitud y proximidad la patología se instala rápidamente o de forma prolongada. 8

▪ Túbulos dentinarios

Los túbulos dentinarios miden, aproximadamente, entre 0.5 – 1 μ de diámetro en la periferia y hasta 3-5 μ cerca de la pulpa, un calibre suficiente para permitir el paso de bacterias y otros microorganismos (el tamaño medio de las bacterias es de 1 μ , y el de las menores de 0.3 μ). 8,9 Los microorganismos, en el interior de los túbulos, avanzan más por división que por desplazamiento autónomo; su progresión puede facilitarse por la presión ejercida durante la inserción de determinados materiales de obturación o con la utilización de materiales de impresión. 8

▪ Defectos en el sellado marginal

Determinados materiales de restauración pueden facilitar la filtración de microorganismos a través de la interfase material-diente, si no son utilizados correctamente. Así, los microorganismos procedentes de la cavidad oral pueden acceder a la pulpa a través de los túbulos dentinarios subyacentes a la restauración. 8

▪ Infección periodontal

El tejido conjuntivo pulpar tiene continuación en el tejido conjuntivo periodontal a través del foramen apical principal y por conductos laterales presentes a distintos niveles de la raíz. Esta relación anatómica entre la cavidad pulpar y el periápice permite el paso, en ambos sentidos, de microorganismos desde un espacio anatómico a otro. Así, una infección pulpar puede provocar una infección periodontal secundaria y una infección de la pulpa puede tener su origen

en una patología periodontal. Sin embargo, la vía más común de migración microbiana desde el periodonto hacia la cavidad pulpar se produce a través de las foraminas o los conductos accesorios. 8

- **Traumatismos**

Los traumatismos dentales tienen su mayor incidencia en la población infantil. Desde la perspectiva microbiológica, los traumatismos que cursan con fractura del diente y, especialmente, los que causan fractura coronaria, son los de mayor importancia. Cuando la fractura de la corona afecta a esmalte y dentina, en las proximidades de la cavidad pulpar, la exposición de los túbulos dentinarios puede resultar una vía de entrada de los microorganismos presentes en la cavidad oral. Esta posibilidad tiene mayor relevancia en niños y pacientes jóvenes, puesto que presentan túbulos de mayor calibre que en los adultos. No obstante, las manifestaciones clínicas de la infección pulpar pueden hacerse patentes a mediano o largo plazo. 8

- **Otras vías de infección**

Grandes lesiones perirradiculares pueden llegar a dañar el paquete vasculonervioso de un diente vecino y provocar la necrosis de la pulpa. Las bacteremias transitorias pueden producirse por diversas razones: extracciones dentales, traumatismos, procedimientos periodontales y sobreinstrumentación de los conductos radiculares. De esta forma, los microorganismos circulantes por vía sanguínea pueden instalarse en los tejidos alterados y comenzar a multiplicarse. 8

En pacientes adultos y de edad avanzada que padezcan bruxismo es frecuente encontrar pérdida de esmalte y dentina en las caras triturantes de los dientes, acercándose a distancias inferiores a 1mm de la cavidad pulpar. Esta situación patológica facilita, también, la invasión microbiana de la pulpa. 8

1.2 Factores microbiológicos que establecen una infección endodóntica

La invasión microbiana del tejido conjuntivo pulpar y, posteriormente, de los tejidos perirradiculares es responsable de la aparición de un cuadro inflamatorio, cuyo carácter agudo o crónico depende de las características de los microorganismos como son: carácter de la invasión, microbiota, número de microorganismos, endotoxinas, exoenzimas, metabolitos, exotoxinas, tiempo y capacidad defensiva del huésped. 8

- **Carácter de la invasión, microbiota y número de microorganismos**

El número de microorganismos que colonizan la pulpa o el periápice es directamente proporcional a la magnitud de la puerta de entrada de las mismas. Cuanto más importante sea la invasión microbiana, en poco intervalo de tiempo, mayor será la respuesta inflamatoria reactiva. Sin embargo, más que el número, tiene mayor relevancia la capacidad que tengan los microorganismos de multiplicarse. Es decir, los microorganismos que tienen una elevada actividad metabólica liberan mayor contingente de exotoxinas, exoenzimas y productos metabólicos; en consecuencia, serán más virulentos. Para que la invasión por crecimiento genere una reacción inflamatoria aguda, la tasa de multiplicación debe superar el efecto bacteriostático o bactericida del sistema defensivo. 8

- **Endotoxinas.**

Las endotoxinas bacterianas pueden penetrar en la dentina por difusión, con o sin presión hidrostática, a través de la dentina. La fase mineral del hueso que es muy similar a la de la dentina, es un potente factor atrayente químico para numerosas moléculas. Las endotoxinas son las mayores moléculas liberadas en la muerte bacteriana, ya que tienen un elevado peso molecular. 8

- **Exoenzimas.**

Algunas especies bacterianas son capaces de liberar enzimas que ayudarán a la destrucción de los tejidos pulpar y periapical facilitando la progresión de la invasión bacteriana. Estas enzimas son, fundamentalmente, la heparinasa, fibrinolisisina y colagenasa. 8

- **Exotoxinas.**

Algunas bacterias gramnegativas y grampositivas son capaces de secretar unas proteínas solubles y difusibles de elevado peso molecular; estas proteínas, conocidas como exotoxinas, tienen un efecto necrótico directo sobre los tejidos con las que contactan. Las exotoxinas tienen una acción específica, son termolábiles, sensibles a la acción de las enzimas proteolíticas, presentan un poder inmunógeno elevado y se neutralizan por anticuerpos homólogos.

Las exotoxinas tienen diversas características distintivas que a veces se solapan con algunas de las acciones de las endotoxinas y exoenzimas. 8

- **Tiempo.**

Cuando las bacterias y sus productos metabólicos están presentes en bajas concentraciones, las defensas celulares son suficientemente eficaces para neutralizarlos, a pesar de que igualmente actuarán sobre los tejidos. Pero esta acción adversa se instaura gradualmente y permite que se active el sistema inmunitario específico.

Por el contrario, cuando se producen gran cantidad de agentes irritantes, se puede desviar el equilibrio entre el sistema defensivo del huésped y la agresión bacteriana. El resultado de este desequilibrio es la aparición de un cuadro inflamatorio agudo.

La evolución e intensidad de la respuesta del huésped depende de varios factores. El equilibrio entre ellos favorece la instauración de cuadros clínicos de evolución crónica asociados a sintomatología leve o ausente. El predominio de uno o más factores implica la activación rápida del sistema inmunitario y, por consiguiente, aparecerá un cuadro clínico agudo de sintomatología muy intensa. 8

1.3 Microbiota del sistema de conductos radiculares en pulpas necróticas

El nicho etiológico microbiano presente en las pulpas necróticas, de respiración aerobia y anaerobia facultativa, fundamentalmente se va transformando en un medio de respiración anaerobia estricta a medida que disminuye el potencial de oxidorreducción hístico lo que, al dificultar los procesos fagocíticos, facilita el desarrollo y multiplicación microbiana, especialmente de bacterias anaerobias, potenciado por simbiosis y sinergismos microbianos (Fig. 1). Las bacterias gramnegativas anaerobias estrictas tienen una elevada capacidad proteolítica y colagenolítica, por lo que contribuyen en gran medida a la destrucción del tejido conjuntivo pulpar. ⁸

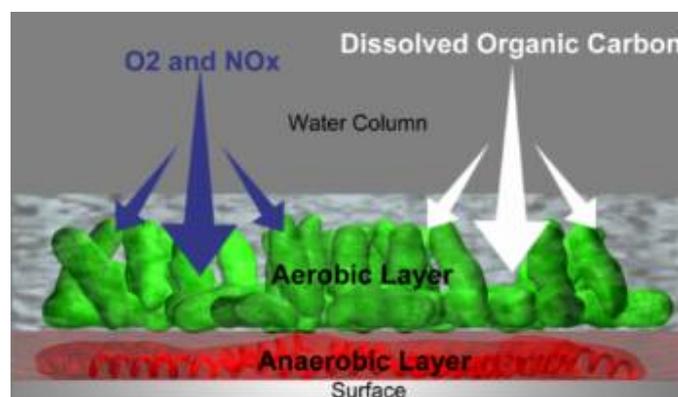


Fig.1 www.zetacorp.com/biofilm1.jpg

A pesar de que se han realizado pocas determinaciones cuantitativas de la cantidad de bacterias presentes en el sistema de conductos radiculares infectados, se estima que pueden alcanzar cifras comprendidas entre los 10^2 y 10^8 bacterias por miligramo de contenido radicular. ^{2,8}

Al igual que el grado de condición hística condiciona la prevalencia de mayor o menor porcentaje de bacterias anaerobias en el interior del sistema de conductos radiculares, las características clínicas de la corona de dientes con pulpa necrótica, también contribuyen a ello. En dientes con amplias comunicaciones entre la cavidad oral y el sistema de conductos radiculares suelen presentarse entre el 60 y 70% de bacterias estrictamente anaerobias, mientras que en dientes cerrados se alcanzan resultados cercanos al 95%. Fabricius y col.

en un estudio observaron que la proporción de anaerobios estrictos se incrementa con el tiempo. Aislaron de un 50 a un 55% de anaerobios a los 7 días y el 85% a los 70 días; porcentaje que aumentaba hasta un 95 y 98% a los 6 meses y 3 años, respectivamente.

Los estudios de Nair acerca de la localización de las bacterias en la cavidad pulpar, mediante microscopia electrónica, han permitido observar que la mayoría colonizan la luz del sistema de conductos radiculares. Se agrupan sobre el tejido pulpar necrosado, en la trama de fibras y restos hísticos. Asimismo, pueden adherirse en la dentina radicular. Cocos y bacilos constituyen pequeños nichos ecológicos que pueden constituirse en la fina trama de conductillos del tercio apical. Igualmente y dependiendo de su tamaño pueden penetrar por los túbulos dentinarios. ⁸

Existen diferentes tipos de infecciones endodónticas del sistema de conductos radiculares. Siqueira describe cuatro tipos: primaria, secundaria, persistente y extrarradicular. ⁹

La infección primaria es aquella causada por la colonización de microorganismos en el tejido pulpar necrótico. La microbiota involucrada frecuentemente depende del tiempo de infección. Más aún, se ha sugerido que la microbiota difiere según el tipo de lesión perirradicular asociada. Mientras que un amplio rango de microorganismos se asocian a lesiones perirradiculares crónicas, un grupo más restringido de especies se asocian a lesiones perirradiculares sintomáticas como la periodontitis apical aguda y el absceso perirradicular agudo. ⁹

Las infecciones secundarias son causadas por microorganismos ausentes durante la infección primaria y que han penetrado al sistema de conductos radiculares durante el tratamiento, entre citas o después de culminado el tratamiento endodóntico. Si estos microorganismos logran sobrevivir y colonizar el sistema de conductos radiculares, se establecerá la infección. ⁹

Otro tipo de infección endodóntica es la infección intrarradicular persistente. Esta es causada por microorganismos involucrados en la infección primaria o secundaria. Existen pocas especies microbianas capaces de resistir los cambios de ambiente efectuados durante la terapia endodóntica, y de esta manera involucrarse en el fracaso del tratamiento del sistema de conductos radiculares. ⁹

Por último, se describen las infecciones endodónticas extrarradiculares. Estas infecciones pueden ser primarias, secundarias o persistentes. La forma más común es el absceso perirradicular agudo. La fuente de las infecciones extrarradiculares es usualmente la infección intrarradicular.

Este último tipo de infecciones ha tomado un considerable interés en los últimos tiempos, generado por el papel potencial de las mismas en el fracaso de la terapia endodóntica. Diversos estudios han comprobado la existencia de infección extrarradicular aún en dientes tratados endodónticamente. Debido a que los procedimientos endodónticos no quirúrgicos no tienen acceso a los tejidos perirradiculares, este tipo de infecciones constituyen una causa de fracaso endodóntico. ^{9,10, 11,12,13}

Las pulpas necróticas presentan una flora polimicrobiana caracterizada por una amplia variedad de combinaciones de bacterias, un promedio de 4-7 especies por sistema de conductos radiculares, predominantemente anaerobias y aproximadamente igual proporción de bacterias Gram positivas y Gram negativas. ^{2, 3,8,9}

Estudios recientes reportan la presencia de hongos en el sistema de conductos radiculares infectados. Los hongos no son microorganismos frecuentemente encontrados en infecciones endodónticas primarias, su presencia es más común en infecciones secundarias o persistentes, posterior a la preparación del sistema de conductos radiculares, probablemente como resultado de contaminación durante el procedimiento, o en casos de dientes obturados endodónticamente con lesiones perirradiculares resistentes al tratamiento del sistema conductos radiculares. ^{9,14}

Lana et al. analizaron las especies involucradas en las infecciones endodónticas. Sus resultados mostraron el aislamiento de 308 microorganismos en 27 de 31 sistemas de conductos radiculares (87,1%) durante la primera recolección, y 278 (90,3%) de estos fueron identificados por género y especie. ¹⁵

El número de especies aisladas en cada sistema de conductos radiculares infectados fue de 1-11 especies, con un promedio de 5 especies por sistema de conductos radiculares. Un 81,5% de los sistemas de conductos radiculares mostraron infecciones polimicrobianas. En un 88,9% de los sistemas de conductos radiculares fueron aislados microorganismos anaerobios estrictos, en un 51,8% anaerobios facultativos, en un 18,5% microaerofílicos y en un 7,4% de los sistemas de conductos radiculares se aislaron hongos. ¹⁵

Jacinto et al. evaluaron la composición de la flora bacteriana de 48 sistemas de conductos radiculares constituyendo las bacterias anaerobias estrictas más del 70% de los microorganismos aislados. ¹⁶

En la tabla I se muestran las especies aisladas hasta la fecha en diferentes estudios microbiológicos sobre conductos con pulpa necrótica. En estas investigaciones fueron empleadas desde técnicas de identificación por tinción, hasta las más recientes técnicas de hibridación de ADN. ⁹

Especies microbianas		
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Filifactor alocis</i>	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>
<i>Actinomyces m. eyeri</i>	<i>Fusobacterium necrogenes</i>	<i>Prevotella loescheii</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Prevotella oralis</i>
<i>Actinomyces viscosus</i>	<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Prevotella prevotii</i>
<i>Bacteroides capillosus</i>	<i>Gemella haemolyans</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Bacteroides forsythus</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Propionibacterium propionicus</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Haemophilus aphrophilus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Selenomonas sputigena</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Lactobacillus cateniforme</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	<i>Lactobacillus minutus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Clostridium bifermantum</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Clostridium clostridioforme</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Clostridium histiforme</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus milleri</i>
<i>Clostridium novyi</i>	<i>Peptostreptococcus asaccharolyticus</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Clostridium subterminale</i>	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Dialister pneumosintes</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Peptostreptococcus prevotii</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Peptostreptococcus productus</i>	<i>Tissierella praecuta</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Peptostreptococcus saccharolyticus</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>Eubacterium aerofaciens</i>	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	<i>Treponema maltophilum</i>
<i>Eubacterium alactolyticum</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Treponema pectinovorum</i>
<i>Eubacterium lentum</i>	<i>Prevotella bivia</i>	<i>Treponema sooranskii</i>
<i>Eubacterium limosum</i>	<i>Prevotella buccalis</i>	<i>Treponema vicentii</i>
<i>Eubacterium moniliforme</i>	<i>Prevotella buccae</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Eubacterium nodatum</i>	<i>Prevotella corporis</i>	<i>Wolinella recta</i>
<i>Eubacterium timidum</i>	<i>Prevotella denticola</i>	

Tabla I. Especies microbianas aisladas en diferentes estudios del sistema de conductos radiculares con infección primaria. 9

Dados los resultados de múltiples investigaciones se puede afirmar que el sistema de conductos radiculares puede ser altamente infectado y consecuentemente, alojar microorganismos en todas las áreas del mismo. En general, las especies más frecuentes en infecciones primarias del sistema de conductos radiculares infectados pertenecen usualmente a los géneros *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium*, *Actinomyces* y *Streptococcus*.⁹

Sin embargo, pareciera que no todas las especies presentes en las infecciones endodónticas son capaces de producir la enfermedad. Evidencias científicas sugieren que un restringido grupo de especies microbianas presenta mayor prevalencia en las diferentes formas de lesiones perirradiculares.⁹

La tabla II presenta los principales microorganismos asociados a formas específicas de lesiones perirradiculares.⁹

Infecciones primarias		Infecciones secundarias o persistentes***	Infecciones extrarradiculares****
Lesión perirradicular crónica*	Absceso perirradicular agudo**		
<i>Bacteroides</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Treponema</i>	<i>Treponema</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Prevotella</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobacterium</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Propionibacterium</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	
<i>Streptococcus</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	
<i>Eubacterium</i>			
<i>Actinomyces</i>			
<i>Campylobacter</i>			
Referencias:			
* Sundqvist 1976, 1992, Baumgartner 1991, Gomes 1996, Haapasalo 1986, Le Goff 1997, Machado 2000, Rocas 2001, Siqueira 2000			
** Machado 2000, Rocas 2001, Siqueira 2001a,2001b,2001c, Sundqvist 1989, van Winkelhoff 1985			
*** Molander 1998, Peciulene 2000, Sundqvist 1998, Waltimo 1997, Siren 1997			
**** Happonen 1986, Sjogren 1988			

Tabla II. Género de patógenos endodónticos comúnmente asociados a diferentes formas de lesiones perirradiculares. Tomado de Siqueira, 2002. 9

La información obtenida por las múltiples investigaciones llevadas a cabo en infecciones primarias del sistema de conductos radiculares conlleva a señalar el carácter mixto y complejo de la microbiota del sistema de conductos radiculares. Con el continuo avance en las técnicas microbiológicas se hace inminente la identificación de cada vez más especies involucradas en las infecciones pulpares y perirradiculares, así como su repercusión en el perfeccionamiento de la terapéutica endodóntica. 9

1.4 Aspectos microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica

La periodontitis apical crónica es una lesión periapical asintomática que solo se manifiesta en la radiografía. Las bacterias y sus endotoxinas que alcanzan la región perirradicular desde la pulpa necrótica, causan una reacción inflamatoria y producen desmineralización extensa del hueso trabecular y cortical. ²

La resorción ósea apical, identificada radiográficamente como una imagen radiolúcida, es una característica diagnóstica importante de la periodontitis apical crónica. Por lo tanto, el objetivo del tratamiento endodóntico es eliminar los microorganismos del sistema de conductos radiculares y prevenir la sobreinfección del mismo. ^{2,8,9}

Cuando el tratamiento es capaz de realizar esta desinfección de forma apropiada, usualmente cicatriza la lesión periapical por regeneración ósea; proceso que se caracteriza por una reducción gradual y finalmente la resolución de la imagen radiolúcida periapical, observada en las subsecuentes radiografías de control del tratamiento. ⁹

La periodontitis apical crónica constituye un factor de gran influencia en el pronóstico del diente endodónticamente tratado, estableciéndose su tasa de éxito entre 62-86%, disminuyendo su tasa de éxito entre 10-25% en comparación al diente sin periodontitis apical crónica. ⁹

En la tabla III se pueden observar los resultados de algunos de los estudios de pronóstico del diente endodónticamente tratado, que comparan la tasa de éxito entre dientes sin periodontitis apical crónica y con periodontitis apical crónica. ⁹

Estudios	Sin PAC	Con PAC	N
Strindberg 1956	88.8%	67.9%	479 r
Seltzer et al. 1963	92.4%	75.6%	2335
Egstrom et al. 1964	88.3%	66.5%	306
Kerekes & Tronstad 1979	93.6%	84.3%	501 r
Molven & Halse 1988	91%	68%	207
Akerblom & Hasselgren 1988	98%	62%	64
Sjogren 1990	96%	86%	471
Friedman 1995	93%	69%	142

Tabla III. Comparación de la tasa de éxitos en estudios de casos de dientes tratados endodónticamente con presencia o ausencia de Periodontitis Apical Crónica. ⁹

En la mayoría de los casos, el fracaso endodóntico es atribuido a la persistencia de infección intrarradicular, cuando los procedimientos del tratamiento no cumplen con los estándares satisfactorios para el control y eliminación de esta microbiota, o se suscita la recontaminación del sistema de conductos radiculares por vía coronaria. ^{9,10,11,13,17}

Los microorganismos persistentes en el sistema de conductos radiculares pueden haber estado presentes originalmente en la pulpa necrótica y sobrevivir a los procedimientos de limpieza químico-mecánica. ^{9,10,11,13} Estos pudiesen estar localizados en ramificaciones y áreas no instrumentadas del sistema de conductos radiculares. ^{9,12} En la mayoría de los casos, el fracaso del tratamiento endodóntico es el resultado de la persistencia de microorganismos en la porción apical del sistema de conductos radiculares. ^{9,10,11,12,13}

Las influencias ambientales que operan en el sistema de conductos radiculares durante el tratamiento permiten que ciertos microorganismos sobrevivan, y dependiendo de diversos factores, induzcan al fracaso del mismo. Para sobrevivir al tratamiento del sistema de conductos radiculares, los microorganismos deben soportar las medidas de desinfección y adaptarse a un ambiente con pocos nutrientes disponibles. Por lo tanto, las pocas especies que

tienen esta capacidad pueden estar involucradas en el fracaso del tratamiento del sistema de conductos radiculares. 6,7,9,10,12,18

Las bacterias localizadas en áreas tales como istmos, ramificaciones, deltas, irregularidades y túbulos dentinarios pueden a veces no ser afectadas por los procedimientos de desinfección endodóntica. Es probable que el suministro de nutrientes a las bacterias ubicadas en las ramificaciones y deltas apicales se mantenga inalterado después del tratamiento endodóntico.

Sin embargo, las bacterias presentes en los túbulos dentinarios e istmos pueden sufrir una drástica reducción del sustrato. En algunas regiones anatómicas, las bacterias quedan atrapadas por el material de obturación y generalmente mueren o se evita que proliferen hacia los tejidos perirradiculares. 9,12

Nair et al. en el 2005 observaron que en 14 de 16 dientes tratados endodónticamente presentaron infección periapical después de la instrumentación, irrigación y obturación. Los microorganismos fueron localizados en áreas inaccesibles como istmos, ramificaciones, deltas, conductos accesorios. 12

1.5 Microbiología en los fracasos endodónticos

Desde los primeros estudios, tales como el de Bender y Seltzer en 1952, se ha reportado la presencia de microorganismos resistentes a la terapia endodóntica. En esta investigación se evidenció la presencia de crecimiento microbiano, el cual consistía básicamente en hongos y bacterias tales como *Enterococcus spp.* y *Streptococcus spp.* 19

Doce años más tarde, Engstrom y Frostell reportaron crecimiento microbiano en dientes tratados endodónticamente en un porcentaje de un 38%. En el mismo se demostró que la microbiota predominante era básicamente anaerobios facultativos y anaerobios estrictos. 20

Estos resultados son confirmados posteriormente por estudios como el realizado por Goldman y Pearson en 1969 donde fue evaluada la microbiota intrarradicular posterior a la limpieza endodóntica en 563 casos dando como resultado que un 23,6% presentó cultivos positivos. ²¹

Nair et al. en 1990 publican el primer trabajo de análisis de la microbiota de dientes con periodontitis apical crónica persistente a través de biopsia, uso de microscopio de luz y microscopio electrónico.

En esta investigación, fueron evaluados nueve casos, los cuales presentaban lesiones periapicales entre 4 y 10 años posteriores al tratamiento del sistema de conductos radiculares. En seis de ellos se observó presencia de microorganismos en la porción apical del sistema de conductos radiculares. Cuatro de los casos presentaron bacterias y en dos se evidenciaron organismos similares a hongos. Uno de los casos presentó características histopatológicas sugerentes de una respuesta de cuerpo extraño a nivel del periápice. Sin embargo, en este estudio no se identificaron por género y especie los microorganismos detectados.

²²

En 1996, Gomes et al. investigaron la sensibilidad de la microflora endodóntica a los procedimientos biomecánicos del tratamiento del sistema de conductos radiculaes. Para ello, fueron evaluados 42 sistemas de conductos radiculares tomándose muestras en todos los casos antes de la limpieza y conformación y, entre siete y diez días posteriores a dicho procedimiento.

En las primeras muestras, fueron aisladas 51 especies bacterianas diferentes. Posterior a la terapia endodóntica el micro-ambiente cambia de diversas formas. El principal efecto puede ser el cambio en la anaerobiosis. En este estudio se determinó un significativo descenso entre las especies anaerobias de la primera y segunda evaluación.

En la segunda evaluación, se detectaron microorganismos tales como *Enterococcus faecalis*, *Propionibacterium acnes*, *Veillonella parvula*,

Streptococcus parasanguis, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, entre otros. Se observaron especies individuales de un mismo grupo presentándose en un mismo caso entre la muestra 1 y 2, por ejemplo, *Streptococcus intermedius*, así como especies que disminuyen y otras que aumentan entre la primera y segunda muestra.

En algunos casos, las especies detectadas se mantuvieron al mismo nivel en la muestra 2, es el caso de *Bacteroides ureolyticus*, *Eubacterium alactolyticum*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Fusobacterium necrophorum*, *Propionibacterium - propionicus*, *Staphylococcus epidermidis* y *E. faecalis*.

Este estudio confirmó la susceptibilidad de bacterias específicas a los procedimientos biomecánicos de la terapia endodóntica. Concluyendo que ciertas especies son menos resistentes que otras a estos procedimientos. ²³

Molander et al. en 1998 evaluaron el estado de la microbiota intrarradicular de 100 casos de periodontitis apical crónica persistente. Todos los dientes presentaron tratamiento del sistema de conductos radiculares con no menos de cuatro años postoperatorios. Los fracasos fueron clasificados según el criterio de Strindberg, y todos se presentaron asintomáticos. El tamaño de las lesiones fue establecido radiográficamente y fue de 2 mm. en 14 casos, entre 3 y 5 mm. en 56 casos y 5 mm. en 30 casos.

Los resultados demostraron la presencia de microbiota dentro del sistema de conductos radiculares en 68 de los 100 casos estudiados, detectando 117 especies microbianas. En la mayoría de los sistemas de conductos radiculares, fueron aisladas de 1-2 especies (85%) con predominio de anaerobios facultativos Gram positivos (69%). El microorganismo detectado con mayor frecuencia fue *Enterococcus spp.*, en 32 dientes. En 20 de los casos el crecimiento fue muy abundante. También fueron aisladas en cantidades importantes *Lactobacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* *Fusobacterium spp.*, *Prevotella spp.* y *Candida albicans*.

Concluyen estos autores que generalmente las bacterias anaerobias facultativas son menos sensibles a la actividad antimicrobiana que los anaerobios estrictos y, por lo tanto, es de esperarse que persistan más frecuentemente en el sistema de conductos radiculares después de un tratamiento endodóntico inadecuado. Cuando los microorganismos anaerobios facultativos han estado en una fase latente con baja actividad metabólica por un período de tiempo, los cambios en las condiciones nutricionales desencadenan su crecimiento.

5,9,10,11,12,13,24,25,26

Sundqvist et al. en 1998 evaluaron 54 dientes con tratamiento del sistema de conductos radiculares y lesión periapical persistente, los cuales fueron seleccionados para repetición de tratamiento cinco años después de haber sido tratados.

Los resultados de este trabajo apuntaron que la microflora en la mayoría de los casos consistió en una sola especie, así como señalaron microorganismos predominantemente Gram positivos con aproximadamente igual proporción de anaerobios facultativos y estrictos. ²⁷

Más tarde en el 2002 Noiri et al. examinaron la participación de extraradicular biofilm en dientes con periodontitis apical aguda y crónica. ^{10,13}

Posteriormente, Siren et al. analizaron la relación entre los procedimientos endodónticos y la presencia de microorganismos específicos en el sistema de conductos radiculares infectados.

En este trabajo se estudiaron ochenta casos de los cuales el 33% mostró presencia de *Enterococcus faecalis* como única especie. Otras bacterias entéricas anaerobias facultativas fueron identificadas, entre las cuales se encuentran *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella oxytoga*, *Acinetobacter spp.* y *Pseudomonas aeruginosa*, en los cuales, cuatro de diez casos correspondieron a infecciones producidas por una sola especie. Estas

bacterias entéricas fueron encontradas con mayor frecuencia en casos de citas múltiples.

Algunas especies frecuentemente asociadas a las bacterias entéricas que se encontraron en este estudio fueron *Streptococcus spp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens*.²⁸

En el año 2003, fue llevado a cabo por Pinheiro et al., un estudio enfocado a la identificación de la microbiota del sistema de conductos radiculares de dientes tratados endodónticamente con periodontitis apical crónica persistente.

Para este estudio fueron analizados 60 casos bajo técnicas microbiológicas avanzadas en los cuales se evidenció crecimiento microbiano en 51 de las muestras. Se demostró la presencia de infección producida por una sola especie en 28 casos, ocho casos presentaron dos especies y 15 casos presentaron infección polimicrobiana (3 especies o más).

Así mismo fueron relacionadas las especies aisladas a diversas variables, tales como, tipo de diente, tiempo del tratamiento (años), calidad de restauración coronaria, presencia de dolor, inflamación, dolor a la percusión, trayecto fistuloso y calidad de la obturación endodóntica.

Del total de bacterias aisladas, un 57,4% correspondieron a anaerobios facultativos y un 83,3% a especies Gram positivas. El género más frecuentemente aislado fue *Enterococcus spp.*, seguido de *Streptococcus spp.* y *Actinomyces spp.*

Los microorganismos anaerobios estrictos detectados en este estudio correspondieron al 42,6% de los casos, siendo los más frecuentes *Peptostreptococcus spp.* asociadas frecuentemente a síntomas clínicos. *Prevotella spp.* y *Fusobacterium spp.* estuvieron asociadas a dolor espontáneo o historia de dolor. *Prevotella intermedia/nigrescens* estuvo asociada a dolor a la percusión.

La presencia de trayectos fistulosos en este estudio estuvo asociada tanto a *Streptococcus spp.* como a *Actinomyces spp.* especialmente, *A. naeslundii*. En

todos excepto un caso, la microbiota tuvo carácter mixto, aislándose también *Prevotella spp.*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium spp.* y *E. faecalis*. Este último siendo la especie bacteriana aislada más frecuentemente, evidenciándose en un 52,94% de los casos, estando presente como único microorganismo en 18 de 27 muestras.

Afirmando estos autores, que los microorganismos anaerobios facultativos Gram positivos, tales como *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.* y *Actinomyces spp.* son más resistentes a la instrumentación y a los agentes antisépticos, y por lo tanto, es de esperarse que se presenten en lesiones persistentes posteriores a tratamientos endodónticos inadecuados. ²⁹

En la misma línea de investigación, estos autores realizaron un segundo estudio donde analizaron a profundidad, los microorganismos asociados al fracaso endodóntico, y específicamente, su sensibilidad a ciertos antibióticos.

De los 30 casos examinados, lograron aislar 29 especies bacterianas. Seis de las muestras no arrojaron cultivos positivos, trece casos correspondieron a infecciones producidas por una sola especie, dos casos presentaron dos especies, y nueve casos correspondieron a infecciones polimicrobianas. Los géneros bacterianos más frecuentemente aislados estuvieron representados por *Enterococcus* (36,7%), *Streptococcus* (30%), *Peptostreptococcus* (23,3%), *Actinomyces* (13,3%), *Prevotella* (10%), *Staphylococcus* (10%), *Gemella* (10%), *Fusobacterium* (6,7%), *Lactobacillus* (6,7%), *Propionibacterium* (3,3%) y *Haemophilus* (3,3%).

La especie más prevalente fue *Enterococcus faecalis*, siendo aislada en 11 de 24 muestras. Así mismo se demostró la sensibilidad de este microorganismo a bencilpenicilina, amoxicilina y amoxicilina mas ácido clavulánico, siendo más débiles las reacciones ante los dos últimos antimicrobianos.

Peptostreptococcus prevotii fue la segunda especie más frecuentemente aislada en este estudio, y fue sensible a bencilpenicilina, amoxicilina, amoxicilina con ácido clavulánico, y clindamicina. ³⁰

Más recientemente, Ferreira et al. en 2004 reportaron un caso de periodontitis apical crónica persistente tratado a través de cirugía apical, el cual fue analizado microbiológicamente a través del microscopio electrónico de barrido. Los resultados arrojaron presencia de cocos, bacilos y levaduras adheridas a la superficie radicular seccionada. ³¹

Un estudio reportado por Cheung y Ho donde realizaron un análisis microbiológico de dientes tratados endodónticamente con lesiones periapicales asintomáticas. Utilizando una muestra de 18 casos, de más de cuatro años posteriores a la terapia endodóntica inicial. Señalaron la presencia de microorganismos en el 67% de los casos, con prevalencia de cocos Gram positivos anaerobios facultativos.

Los microorganismos más frecuentemente encontrados en este estudio correspondieron a *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* y *Staphylococcus* (coagulasa-negativa). Así mismo, no se detectó la presencia de espiroquetas.

Un aspecto interesante de esta investigación fue la correlación entre la evaluación de la calidad radiográfica de la obturación endodóntica y la cantidad de microorganismos, existiendo mayor número de especies en obturaciones deficientes, similar a la reportada en conductos con pulpa necrótica sin tratar, sugiriendo por lo tanto, fallas en el procedimiento de limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares en estos casos. ³²

Como se ha podido observar en los estudios anteriormente citados, *E. faecalis* es el microorganismo más frecuentemente aislado dentro del sistema de conductos radiculares asociado a este tipo de lesiones.

Los enterococos son patógenos humanos importantes, cada vez más resistentes a los agentes antimicrobianos. Estos microorganismos previamente fueron considerados parte del Género *Streptococcus* pero se han reclasificado recientemente en su propio Género, llamado *Enterococcus*.

Enterococcus spp. son cocos Gram positivos que se presentan en solitario, en pares y en cadenas cortas (Fig. 2). Son microorganismos anaerobios facultativos capaces de crecer y sobrevivir en ambientes difíciles, por lo que pueden subsistir prácticamente en cualquier ecosistema. 33

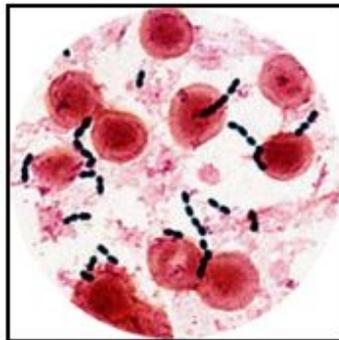


Fig. 2 *Enterococcus faecalis* en agar sangre. Tomado de www.genomenetwork.org/.../resistant.shtml

E. faecalis ha comenzado a tomar importancia en la literatura endodóntica, debido a que esta bacteria es difícil de controlar con los medicamentos que se utilizan dentro del sistema de conductos radiculares actualmente. La instrumentación mecánica, sola o en combinación con agentes de irrigación antimicrobianos, ha mostrado ser insuficiente para la completa eliminación de éstos microorganismos.

Este microorganismo ha demostrado su habilidad para sobrevivir en el sistema de conductos radiculares sólo, sin el soporte de otras bacterias.

E. faecalis se encuentra como parte integrante de la microbiota de dientes con pulpa necrótica sin tratar en proporciones muy bajas, por lo que algunos investigadores sugieren que su alta incidencia en casos de repeticiones de

tratamiento se debe a entrada de microorganismos durante la terapia endodóntica, por una técnica de asepsia inadecuada, o entre citas, debido a un sellado coronario inadecuado. 9

En la búsqueda del mecanismo de resistencia de *E. faecalis* a la terapia endodóntica no quirúrgica, se han llevado a cabo diversos estudios, los cuales han tratado de comprobar diferentes hipótesis en cuanto a los factores de virulencia del microorganismo.

Un estudio, realizado en el año 2001 por Love permitió comprobar que la virulencia de este microorganismo se relaciona con su capacidad para invadir los túbulos dentinarios y permanecer viable dentro de los mismos, adhiriéndose al colágeno tipo I presente en el suero humano. 34

Kenio et al. en el 2001 publico un estudio en el que evaluaron la efectividad de antimicrobianos frente a *E. Faecalis* biofilms. Donde observaron que la asociación de Clindamicina con Metronidazol redujo perceptiblemente el número de células en biofilms de un día. Sin embargo, las formulaciones de clorhexidina fueron las que eliminaron a fondo en 1 y 3 días. 37

Un estudio publicado en 2002 por Noiri et al. comprobó, a través del microscopio electrónico de barrido, la colonización del microorganismo en 46 dientes medicados con hidróxido de calcio y del mismo modo, fue evidenciada la presencia de biopelículas bacterianas en la pared del sistema de conductos radiculares medicados con hidróxido de calcio. 38

De igual forma John W. Distel et al. en el 2002 confirmaron la formación de biopelículas de *E. Faecalis* en el sistema de conductos radiculares medicados con hidróxido de calcio. 25

Lima et al. evaluaron in vitro la sensibilidad de biopelículas de *Enterococcus faecalis* a ciertas medicaciones antimicrobianas tales como clorhexidina (CHX) 2%, clindamicina y metronidazol. Se concluyó en esta investigación que la

combinación de metronidazol con clindamicina reduce significativamente las biopelículas formadas de un día, mientras la clorhexidina fue el único medicamento capaz de eliminar las biopelículas de 1-3 días de formación. ³⁹

Por otra parte, fue demostrada en un estudio publicado en 2003 por Oncag et al. la efectividad superior del digluconato de clorhexidina al 2% sobre el hipoclorito de sodio al 5,25% en períodos de tiempo iguales contra *E. faecalis*, así como sus mayores efectos residuales y menor toxicidad. ⁴⁰

Posteriormente, Hubble et al. en el 2003 analizaron la hipótesis de la participación de las proteasas (Spr) de *E. faecalis*, y de la proteína vinculada al colágeno (Ace) en la adhesión a la dentina por parte de este microorganismo, como mecanismo de resistencia al tratamiento del sistema de conductos radiculares.

En este estudio se evaluó la manera como estos factores contribuyen en la adhesión a la estructura dentinaria del conducto radicular. Se probaron cuatro cepas de *E. faecalis*; una cepa no alterada, en su forma común, y 3 grupos donde fueron suprimidos uno o dos de los factores de virulencia anteriormente mencionados.

La información obtenida en esta investigación demostró la participación significativa de estos factores en la resistencia del microorganismo, observando un número de colonias formadas significativamente menor en los grupos donde fueron sustraídos dichos factores de virulencia. ³⁵

Otro de los mecanismos de resistencia sugeridos por algunos autores en relación con *E. faecalis* esta relacionado con la formación de biopelículas o biofilms.

Así mismo, un estudio reportado en 2004 por Vianna et al. investigó in vitro la actividad antimicrobiana de clorhexidina en gel y líquida al 0,2%, 1%, y 2% sobre *E. faecalis* comparándola con hipoclorito de sodio al 0,5%, 1%, 2,5%, 4%, y

5,25%. Los autores demostraron que la clorhexidina en gel elimina al microorganismo en 1 minuto mientras las concentraciones al 1% y 2% líquidas requieren exactamente el mismo tiempo que el NaOCl al 5,25% para ejercer su acción antimicrobiana sobre *E. faecalis*.⁴¹

George et al. en el 2005 realizaron un estudio en el que evaluaron los efectos sobre el modo de crecimiento del *E. Faecalis* como biofilms al modificar las condiciones ambientales en las que se desarrollan dentro del sistema de conductos radiculares y la forma de penetrar en los túbulos dentinarios.

45 molares superiores intactos fueron expuestos en distintos medios. Rico en nutrientes, privado de nutrientes, en medio aerobio, y anaerobio por 21 días.

Este estudio demostró distintas propiedades estructurales y fisicoquímicas de los biofilms y distinto nivel de penetración del *E. Faecalis* dentro de los túbulos dentinarios.³⁶

Leonardo et al. llevaron a cabo un estudio en el cual se evaluó la presencia de biofilms en la superficie externa del ápice radicular en dientes con pulpa necrótica, con o sin lesión perirradicular visible radiográficamente y en dientes con pulpa vital.

Se evaluaron diversos factores como la presencia de microorganismos, resorción radicular y la presencia de biofilms.

Los resultados mostraron que los dientes con pulpa vital y con pulpa necrótica sin lesión perirradicular visible radiográficamente, no existió presencia de microorganismos mientras que en los dientes con pulpa necrótica y lesión perirradicular siempre presentaron formación de microorganismos. Estos incluyen cocos y bacilos.¹¹

Por otra parte, Cleggs et al. en el 2006 realizaron un estudio in vitro donde evaluaron los efectos antimicrobianos de soluciones irrigadoras de uso en

endodoncia como el NaOCl al 6%, al 3% y al 1%; clorhexidina (CHX) al 2% y Bio Pure MTAD en 10 pacientes con periodontitis apical crónica.

Los resultados obtenidos a través del microscopio electrónico de barrido demostraron que el NaOCl al 6 % y 3% fueron capaces de remover la biopelícula; NaOCl al 1% y NaOCl al 1% seguido de MTAD fue capaz de desorganizar la biopelícula pero no de eliminar a los microorganismos; y la clorhexidina al 2% no eliminó las bacterias y no las desorganizó.

Por lo tanto, este estudio indicó que el NaOCl al 6% fue el único irrigante capaz de desorganizar a los microorganismos y de eliminarlos. ²⁴

Dunnavant et al. en el mismo año, realizaron un estudio semejante pero compararon los efectos del NaOCl al 6% y al 1%; clorhexidina al 2%; Smear Clear, REDTA y Bio Pure MTAD contra el *E. Faecalis*.

En este estudio confirmaron los resultados obtenidos de Cleggs. El NaOCl al 6% y al 1% resultó ser el irrigante más eficaz contra *E. Faecalis*. ⁴

Garcez et al. recientemente publicaron un estudio donde proponen la utilización de combinar la terapia fotodinámica antimicrobiana (PDT) con el tratamiento endodóntico convencional para eliminar el biofilm presente en las infecciones del sistema de conductos radiculares. ⁵

Otros microorganismos reportados específicamente en casos de dientes tratados endodónticamente con periodontitis apical crónica persistente, son los hongos, primordialmente la especie *C. Albicans* (Fig. 3).

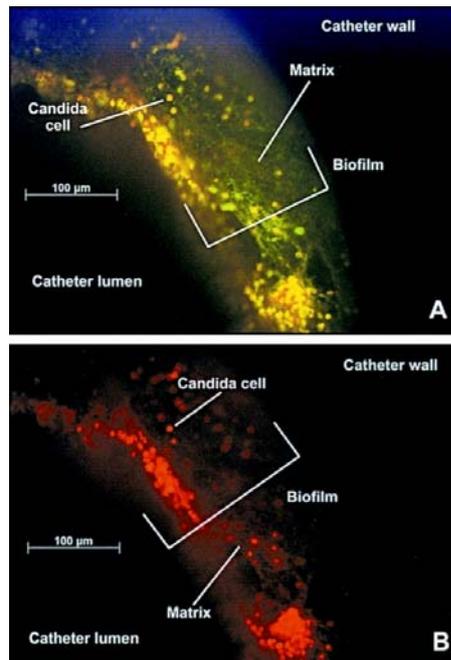


Fig. 3 *Candida albicans*

www.ansci.wisc.edu/.../andes%20biofilm%20LM.jpeg

Dentro de esta línea de investigación, Waltimo et al. realizaron un importante estudio sobre la presencia de hongos en 967 casos de periodontitis apical crónica persistente. De los hongos aislados en este estudio el 80% fue representado por la especie *C. albicans*. Así mismo, fueron identificadas *Candida galabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida incopiscua* y *Geotrichum candidum*. Un total de 48 cepas de hongos fueron aisladas en 47 muestras (7%) de las cuales seis fueron infecciones producidas por un solo microorganismo (*C. albicans*).⁴²

Por su parte, Peciulienė et al. corroboraron los resultados obtenidos por investigaciones previas que reportan la presencia de *Candida spp.* en 6 de 33 dientes tratados endodónticamente con periodontitis apical crónica persistente. Esta investigación determinó la aparición y el papel de levaduras, bacilos Gram negativos y *E. faecalis* en estas patologías.

La muestra consistió en 40 casos asintomáticos. Se aislaron microorganismos en 33 de las muestras. Fueron detectados hongos en un 18% de los casos, siendo en su totalidad identificadas como *C. albicans*. *E. faecalis* fue la única especie de su género en ser aislada (64% de las muestras). Los bacilos Gram negativos aislados consistieron en *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, siempre en asociación con *E. faecalis*.⁴³

En vías de evaluar y determinar mecanismos de eliminación de estos patógenos, se han realizado diversos estudios sobre la sensibilidad de *Candida spp.* a ciertas soluciones antisépticas y medicamentos endodónticos.

Es así como Waltimo et al. realizaron un estudio enfocado a evaluar la sensibilidad de *Candida spp.* al hidróxido de calcio, medicación de amplio uso en endodoncia, dado su alto grado de alcalinidad. Todas las especies de *Candida* evaluadas en este estudio, presentaron alta resistencia a solución saturada de hidróxido de calcio. Se requirió de 16 horas de incubación para eliminar el 99,9% de las unidades de colonias formadas. La sensibilidad de *Candida spp.* fue comparable a la de *E. faecalis*.⁴⁴

Un estudio, realizado por Siqueira et al. investigó la acción de medicaciones utilizadas dentro del sistema de conductos radiculares sobre *C. albicans*. En este estudio in vitro fueron probados hidróxido de calcio / glicerina, hidróxido de calcio / gluconato de clorhexidina al 0,12%, hidróxido de calcio / paramonoclorofenol alcanforado / glicerina y óxido de zinc/ gluconato de corhexidina al 0,12%. Los resultados obtenidos mostraron que las dos últimas mezclas fueron las más efectivas en la eliminación de *C. albicans* sobre muestras de dentina infectada.^{14,}

45

Un estudio in vitro fue llevado a cabo por Fergusson et al. para determinar la sensibilidad de los *C. albicans* a varios irrigantes y medicaciones utilizados dentro del sistema de conductos radiculares. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (MIC) requerida para eliminar el microorganismo por parte de

hipoclorito del sodio, peróxido de hidrógeno, digluconato de clorhexidina e hidróxido de calcio acuoso.

Se determinó que el hipoclorito del sodio, el peróxido de hidrógeno, y la clorhexidina fueron agentes antifúngicos eficaces con MIC de $<10 \mu\text{g/ml}$, $234 \mu\text{g/ml}$, y $<0.63 \mu\text{g/ml}$, respectivamente. El hidróxido de calcio acuoso no presentó ninguna actividad contra el microorganismo. Así mismo fue probado paramonoclorofenol alcanforado y pasta de hidróxido de calcio, los cuales mantenidos en contacto directo con *C. albicans*, fueron agentes antimicrobianos eficaces en contra del microorganismo. ⁴⁶

Según los resultados obtenidos por el estudio de Vianna et al. donde fue evaluado in vitro la actividad antimicrobiana de clorhexidina e hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones sobre diversos microorganismos entre los cuales se encontraba *C. albicans*, fue demostrado que la CHX al 2% en gel y líquida es capaz de eliminar a *C. albicans* en 15 segundos. ⁴¹

2. DEFINICIÓN DE BIOFILM

Un biofilm es la forma de crecimiento más frecuente de las bacterias y se definió en un principio como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida e inmersa en un medio líquido (Costerton 1987). Posteriormente, Costerton definió el biofilm como: “una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o a la expresión de sus genes” (Fig. 4).

11,12,19,20

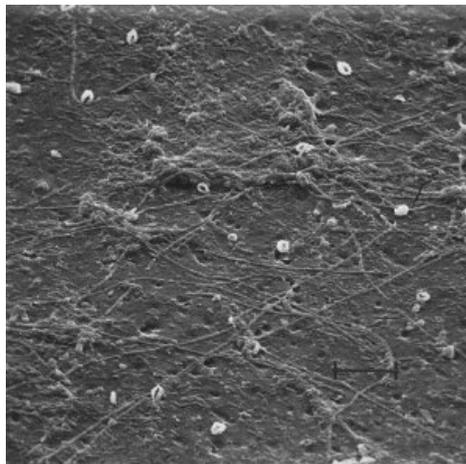


Fig. 4 Microorganismos en biofilm

www.lenntech.com

3. DESARROLLO DEL BIOFILM

Los biofilms pueden desarrollarse por medio de dos tipos de procesos:

- A partir de una célula planctónica
- A partir de otro biofilm

3.1 A partir de una célula planctónica

Ciertas bacterias muestran o tienen la capacidad de desarrollar estructuras de superficie que favorecen la adhesión de las mismas a una superficie sólida, tales como fimbrias y fibrillas (Fig. 5). Así, colonizadores primarios como *Actinomyces naeslundii*, varias especies de estreptococos, como *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis*, *Streptococcus mitis*, muestran fimbrias y fibrillas en su superficie. Otros factores que favorecen la adhesión de las bacterias a una superficie son la capacidad que muestran algunas especies bacterianas para el movimiento, como la *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, o la expresión de ciertas proteínas en su superficie celular, denominadas adhesinas. 6

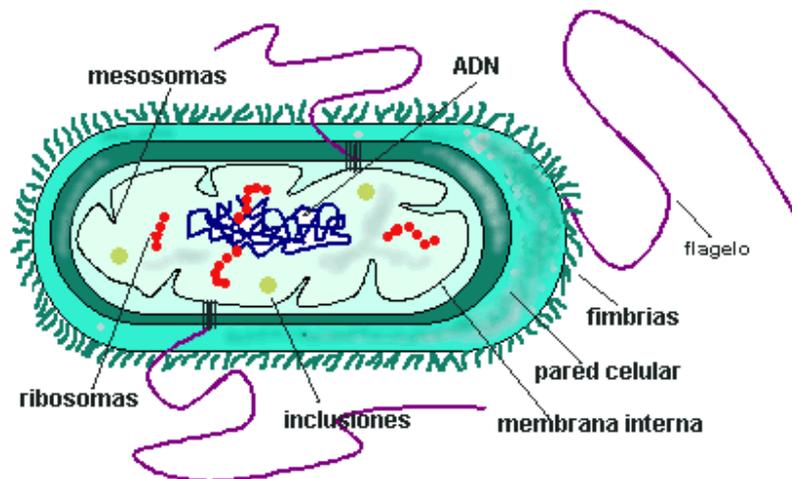


Fig. 5 www.aguahogar.com/filtros/bacterias1.gif

Existen una serie de factores que afectan a la adhesión de las bacterias a una superficie sólida. Por un lado, factores físicos y químicos de la superficie,

como su rugosidad y composición química, y factores del medio líquido en el que se desarrolla, como la velocidad del flujo y la composición química del mismo. 6

Una vez que las bacterias están ya adheridas a una superficie sólida se produce la expresión de ciertos genes que las diferencian de las formas planctónicas. Posteriormente se produce la multiplicación de la especie bacteriana y la coagregación con otras especies bacterianas. 6

3.2 A partir de otro biofilm

Los biofilms también se pueden desarrollar a partir de células sueltas desprendidas de un biofilm o de partes del propio biofilm. En cualquier caso, estas células desprendidas mantendrían todas las propiedades del biofilm de donde procedan. 6

El desarrollo del biofilm se lleva a cabo en cuatro fases (Fig. 6) :

- Unión a la superficie
- Adherencia con otras células
- Formación de microcolonias
- Maduración dentro de una capa de exopolisacáridos

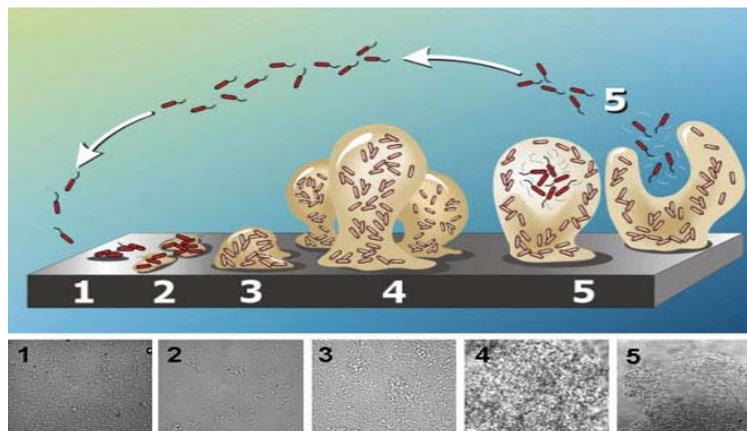


Fig. 6 Desarrollo del biofilm

biology.binghamton.edu/davies/images/biofilm.jpg

3.3 Unión a la superficie

El biofilm puede desarrollarse sobre casi cualquier tipo de superficie, gracias a que previamente entra en contacto la materia orgánica presente en el agua. En la interfase agua / superficie se deposita una capa orgánica, que cambia las propiedades químicas y físicas de la superficie mejorando las propiedades de fijación de las bacterias. ⁷

La adhesión de las bacterias a un sustrato puede ser activa (por los flagelos, pili, adhesinas y cápsulas) o pasiva (por gravedad, difusión y dinámica de fluidos). ^{7,18}

En unos minutos, las bacterias libres que encuentran la superficie acondicionada, forman con ello una unión reversible que depende de las cargas eléctricas de la bacteria. Son atracciones de tipo electrostático o hidrófobo y fuerzas de Van der Waals, sin unión química. Si esta unión se mantiene suficiente tiempo, aparecen nuevas estructuras químicas y físicas que la harán permanente e irreversible. ⁷

Durante la etapa de unión reversible las bacterias se eliminan fácilmente con la acción mecánica. La unión irreversible significa el anclaje de apéndices bacterianos y la producción de exopolímeros. La acción mecánica necesaria para desengancharlo será mayor cuanto más tiempo lleve activo el biofilm. ⁷

3.4 Adherencia con otras células y formación de microcolonias

Después de la unión inicial, la célula empieza a crecer y a esparcirse sobre la superficie, mientras forma microcolonias. ^{7,18}

3.5 Maduración dentro de una capa de exopolisacáridos.

Las condiciones ambientales que van desarrollando las bacterias que forman las microcolonias, favorecen el crecimiento y la división de las células y permite iniciar la fabricación de una mezcla de polímeros polianiónicos, limosa y pegajosa,

que excreta al exterior para mantener unidas las células, entre ellas y con la superficie. 7

El exopolímero está compuesto por polisacáridos o glicoproteínas de diversos azúcares, como glucosa, fructosa, manosa, N- acetilglucosamina y otros. También puede contener proteínas libres, fosfolípidos y ácidos nucleicos o teicoicos. 7

El glicocalix de material polimérico se excreta desde la pared celular bacteriana en una formación radicular. Se estructura a partir de grupos de polisacáridos neutros o portadores de cargas eléctricas, que suman a la adherencia la capacidad de actuar como un sistema de intercambio iónico para atrapar y concentrar los nutrientes que encuentre. 7

Cuando los nutrientes se concentran, las células primitivas se reproducen con menos limitaciones; las células hijas producirán su propio glicocalix y aumentará exponencialmente la superficie de intercambio iónico y el volumen de una próspera colonia bacteriana. 7

En un biofilm maduro, la mayor parte de su volumen está ocupado por la matriz laxamente organizada (75-95%) alrededor de unas pocas bacterias (5-25%), que proporciona una cubierta gelatinosa y deslizante a la superficie colonizada, con un considerable volumen de agua disponible. 7

Por todo lo anterior, podemos decir que la formación de un biofilm, no es un proceso aleatorio sino que sigue una sistemática que permite su predicción. Se han identificado cinco fases: una adsorción reversible de la bacteria a la superficie, una unión irreversible, una primera fase de maduración con crecimiento y división, la segunda fase de maduración donde se lleva a cabo la producción del exopolímero, y el desarrollo final de la colonia. 7

4. ESTRUCTURA DEL BIOFILM

El biofilm estructuralmente esta constituido por tres componentes: la masa de células la cual puede estar formada por una sola especie o por múltiples especies microbiológicas; los espacios intercelulares o canales, los cuales se han comparado con el sistema circulatorio de organismos superiores y la matriz extracelular que lo rodea compuesta por una mezcla de exopolisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y otras sustancias (Fig. 7). 18

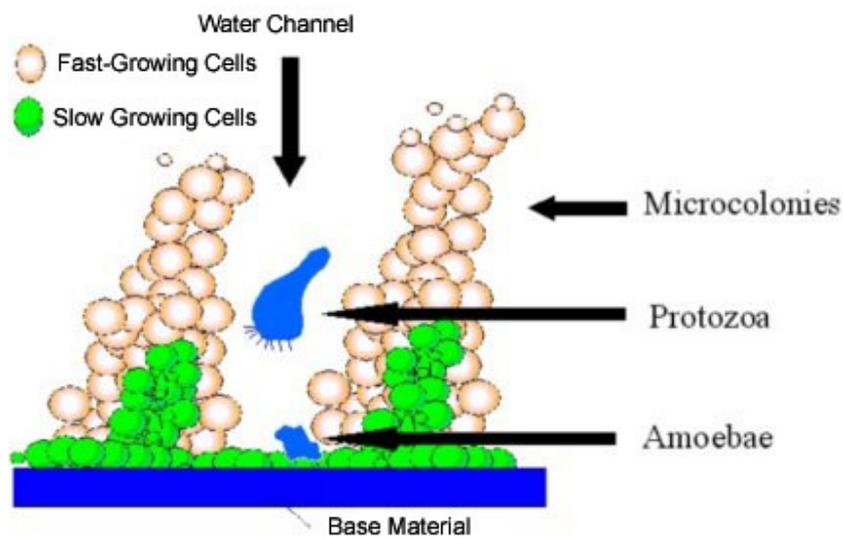


Fig. 7 Estructura del biofilm

www.sobs.soton.ac.uk

Los exopolisacáridos representan el componente fundamental de la matriz y son producidos por las propias bacterias del biofilm. 6

Los exopolisacáridos participan de forma fundamental en el desarrollo del biofilm, pues su intervención mantiene la integridad del todo. Pueden tener carga neutra o carga polianiónica, por lo que pueden interactuar con distintos antimicrobianos. Además, gracias a sus cualidades pueden “tamponar” la acción

de distintos antimicrobianos. De forma que estos últimos quedan atrapados en la matriz sin capacidad para actuar sobre las bacterias. 6

Los propios exopolisacáridos producidos por unas bacterias pueden actuar como fuente de nutrientes para otras bacterias y, de la misma forma, pueden atrapar otros nutrientes del medio y ofrecerlos a los distintos tipos bacterianos presentes en el biofilm, lo cual supone una ventaja para el desarrollo bacteriano. 6

Los exopolisacáridos actúan también retirando desechos del medio, lo que también favorece el desarrollo del biofilm. La composición química y la estructura terciaria de los exopolisacáridos determinan la capacidad de adhesión de los mismos lo que a su vez favorece la adhesión de las bacterias a las superficies. 6

Por último, los exopolisacáridos participan en funciones de protección de las bacterias, pues evitan su desecación. La pérdida o alteración de un determinado polisacárido puede alterar el biofilm, o incluso puede producir la desaparición del mismo. 6

5. PROPIEDADES DE LOS BIOFILMS

5.1 Heterogeneidad fisiológica.

Dentro del biofilm pueden observarse un rango muy amplio de micronichos, separados unos de otros por mínimas distancias. Se pueden encontrar, asimismo, ambientes muy diferentes en cuanto al contenido de nutrientes del medio, tensión de oxígeno, tensión de dióxido de carbono, pH, etc. Por lo tanto, células de la misma especie bacteriana pueden presentar estados fisiológicos muy diferentes, y también pueden encontrarse especies bacterianas con distintas necesidades fisiológicas (anaerobias, aerobias), separadas entre sí por solo 10 μm .⁶

5.2 Fenotipos en el biofilm

Cuando las bacterias crecen en el biofilm, manifiestan un fenotipo diferente respecto del que manifiestan cuando crecen en forma planctónica. Los fenotipos de las bacterias que crecen en los biofilms son más resistentes frente a diversos antimicrobianos y mantiene una resistencia incluso cuando se desprenden del biofilm.⁶

5.3 Señales en el biofilm

Dentro del biofilm, las bacterias tienen capacidad para comunicarse entre ellas, ya sea por medio de señales químicas o incluso mediante transferencia de material genético.

La capacidad que poseen las bacterias de comunicarse entre sí tiene influencia en la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos. Por ejemplo, puede promover la expresión de genes codificantes para la resistencia a un determinado antibiótico a partir de cierta densidad celular; tendría también capacidad para influir en la estructura del biofilm, estimulando el crecimiento de especies beneficiosas para el mismo e inhibiendo el crecimiento de las especies competidoras.^{6,7}

5.4 Capacidad adaptativa

Los biofilms deben mantener un equilibrio, por un lado, entre el crecimiento en condiciones favorables en cuanto a aporte de nutrientes y de medio ambiente, y por otro, el mantenimiento de su estructura.

En condiciones desfavorables, el biofilm puede involucionar a estadios anteriores, pero en casi todas las situaciones se mantiene como parte del mismo y unido a la superficie, pudiendo volver a desarrollarse cuando las condiciones mejoran. 6,7

6. VENTAJAS DE LOS BIOFILMS

Una vez revisadas las propiedades del biofilm se constata que las bacterias que crecen en esta forma van a presentar una serie de ventajas: ⁶

1. Protección frente a agresiones externas y mayor resistencia frente a los distintos antimicrobianos.
2. Ventajas nutricionales: aporte de nutrientes y eliminación de desechos.
3. Proporciona un medio ambiente adecuado para el desarrollo bacteriano.
4. Capacidad de intercomunicación entre las bacterias.

6.1 Resistencia frente a los antimicrobianos

Dentro de estas ventajas, merece la pena destacar la resistencia frente a los distintos antimicrobianos. ⁶

La resistencia, definida como la habilidad de un microorganismo para crecer en presencia de una elevada concentración de antimicrobiano o un pequeño grupo de cepas, en las cuales la concentración mínima inhibitoria (MIC) se ha incrementado ¹⁸; de los biofilms a los antimicrobianos puede deberse a :

1. Los antimicrobianos van a llegar en menores concentraciones (concentraciones no efectivas frente a las bacterias) a las zonas profundas del biofilm ⁶, debido a que la matriz de exopolisacáridos puede actuar como una barrera retardando la difusión del antimicrobiano lo que disminuye la concentración del antibiótico que ingresa al biofilm. ¹⁸
2. Las bacterias, al ser atacadas con dosis subletales tiene capacidad para desarrollar resistencia frente a los antimicrobianos (entrenamiento de resistencia con dosis subletales). ⁶
3. Al crecer en forma de biofilm, las bacterias activan genes que proporcionan mayor resistencia frente a los antimicrobianos en comparación con las formas planctónicas. ⁶

4. En zonas profundas del biofilm, que tienen un menor aporte de nutrientes, la tasa de crecimiento es menor y todos los antibióticos son muy efectivos en el ataque rápido de las células en crecimiento, condición que es absolutamente requerida por algunos antibióticos para poder atacar (penicilina y ampicilina). Algunos de los más avanzados lactámicos (cefalosporinas, aminoglucosidos y fluoroquinolonas), pueden atacar células en fase estacionaria, pero ellos son indistintamente más efectivos en el ataque rápido de células en división. ¹⁸
5. Las bacterias del biofilm no solo evaden el ataque de los antibióticos, también resisten a los desinfectantes químicos como el hipoclorito y el glutaraldehído. ¹⁸

La resistencia antibiótica incrementa a 1500 veces más cuando las células crecen a manera de biofilm que si estas crecieran en forma de plancton ⁴, lo que se traduce en que, para que sea efectivo el antimicrobiano, se deben multiplicar incluso por mil sus concentraciones. Por lo que se puede cuestionar que los distintos productos de los que disponemos sean realmente útiles ⁶; además, de que los biofilms, presentan resistencia a un gran número de antibióticos de amplio espectro (ampicilina, estreptomina, tetraciclinas, gentamicina...) y de biocidas oxidantes del tipo del cloro, el yodo o el ozono. Esta característica los hace muy difíciles de eliminar, incluso de controlar. ⁷

Han sido revelados cuatro mecanismos que confieren tolerancia antimicrobial a las células que viven en un biofilm.

El primero es la barrera protectora de exopolisacáridos que forma la matriz. Las enzimas extracelulares como la β -lactamasa puede ser atrapada y concentrada en la matriz, inactivando los antibióticos β -lactámicos.

El segundo mecanismo implica el estado fisiológico de los microorganismos que integran el biofilm. Las bacterias que residen dentro del

biofilm crecen más lentamente que las que viven a manera de plancton; como resultado, las células del biofilm toman los agentes microbiales más lentamente. Además la reducción de los nutrientes puede forzar a las bacterias a mantener su crecimiento inactivo lo cual sirve para evitar la muerte por los antimicrobianos.

El tercer mecanismo responsable de la tolerancia antimicrobial es que los microorganismos que están dentro del biofilm tienen comportamiento metabólico diferente. Estudios han demostrado que el oxígeno puede ser completamente reducido por las células en el biofilm. Algunos antibióticos como los aminoglucósidos son más efectivos contra bacterias que crecen en medios aerobios que los que crecen en medios anaerobios.

Y el cuarto mecanismo es que no todas las células que viven en el biofilm pueden ser atacadas por el mismo camino. 4,18

7. ELIMINACIÓN DEL BIOFILM

7.1 Antibioticoterapia

Conociendo las causas de la resistencia del biofilm, se ha propuesto una solución simple del mismo. Se trata de la administración racional de un ciclo de antibióticos, retirarlos y volver a otro ciclo. La primera aplicación erradica la masa de células del biofilm separándola de las células persistentes. Se retira el antibiótico, para dar la oportunidad a las células de restablecer el biofilm y se aplica una nueva dosis del antibiótico el cual destruirá totalmente el biofilm regenerado. La explicación que sustenta este tratamiento se basa en la observación de la persistencia que disminuye de generación en generación. 18

7.2 Limpieza

El proceso de limpieza dentro del sistema de conductos radiculares puede llegar a eliminar el 90% de los microorganismos. Una limpieza larga y exhaustiva con detergentes alcalinos formulados con quelantes, resulta efectiva en la eliminación del biofilm, pero no es capaz de matarlos. Las bacterias se mantienen en suspensión y pueden redepositarse en otro lugar y con tiempo, agua y nutrientes, formar un nuevo biofilm. Por eso es necesario desinfectar después de limpiar. 7

La principal limitación de los sistemas de limpieza reside en los problemas de acceso a diversas zonas como los conductos accesorios y los túbulos dentinarios. Si el biofilm queda como reservorio en estos puntos, la limpieza nunca podrá ser exhaustiva. 7

Por otra parte, la acción misma de limpiar, química y mecánica, afecta a la superficie. Las irregularidades que llegue a presentar la superficie permitirán el alojamiento de microorganismos, por lo tanto, han de limpiarse a fondo guardando un cierto equilibrio entre la intensidad de la limpieza y el mantenimiento de la superficie. 7

Para eliminar el biofilm se usarán limpiadores con una buena capacidad de disolución pero este no sería el único requisito. Para asegurarse es preciso limpiar intensamente o provocar fuertes turbulencias aptas para arrancar placas enteras del biofilm, separarlas de la superficie y arrastrarlas. Además, convendría desinfectar los restos que queden adheridos. 7

7.3 Desinfección

Dentro del biofilm los microorganismos se encuentran protegidos de la acción de los desinfectantes. Esta estructura glucoproteica provoca y mantiene una serie de acciones que se combinan para crear resistencias. Por ejemplo la difusión reducida de las sustancias, los cambios fisiológicos que sufren las bacterias y el bajo nivel de crecimiento que se da, además de la formación de enzimas capaces de degradar sustancias antimicrobianas. 7

La resistencia a los antimicrobianos parece depender de la estructura tridimensional que presenta. Cuanto más viejo y grueso sea, más resistencia le da; a la inversa, si se desmonta la estructura se pierde la resistencia. En consecuencia la eficacia de la desinfección estará directamente relacionada con la capacidad de la limpieza previa para desenganchar y desorganizar la matriz extracelular. 7

CONCLUSIONES

1. Ahora que sabemos que los microorganismos crecen en el sistema de conductos radiculares en forma de biofilm y no de planctón, entender el comportamiento del biofilm permitirá un mejor manejo de las patologías que él causa, así como la implementación de medidas que conduzcan a su prevención y a la generación de medicamentos para su tratamiento.
2. Las bacterias en los biofilms presentan mayor resistencia frente a los antimicrobianos. Esta resistencia se debe, fundamentalmente, a la acción protectora de la matriz y a la expresión de unos fenotipos más resistentes. Para que los antimicrobianos consigan el mayor efecto posible, debe realizarse una destrucción previa del biofilm por medios mecánicos.
3. Hasta el momento, los estudios encaminados a comprobar la eficacia de determinados antimicrobianos se realizaban mediante estudios in vitro con bacterias planctónicas. Por lo tanto, se deben realizar estudios que demuestren la eficacia de los distintos antimicrobianos para penetrar en el biofilm y producir una acción bactericida adecuada.
4. En estudios realizados hasta la fecha se muestra que la combinación de clindamicina con metronidazol reduce significativamente las biopelículas formadas de un día, y que la clorhexidina es el único medicamento capaz de eliminar las biopelículas de 1-3 días de formación.
5. En los últimos años, se ha llegado a conocer la morfología del biofilm pero no su saneamiento. Se debería profundizar en este aspecto y buscar materiales repelentes a la adhesión, que no aporten nutrientes, formular biocidas y diseñar sistemas para asegurar su eliminación.
6. Es conveniente aceptar que a pesar de todos los medios utilizados para eliminar los microorganismos que se encuentran en el sistema de

conductos radiculares, jamás obtendremos la “esterilización” del mismo debido a que, la eliminación del biofilm es una tarea muy difícil y exigente que puede resultar poco realista, porque siempre quedaran restos, aunque sean indetectables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soares-Golberg. Endodoncia. Técnica y fundamentos. España: Editorial Médica Panamericana, 2002. Pp. 3-6.
2. Cohen S. Vías de la pulpa, 8ª. ed. España: Editorial Elsevier Science, 2002. Pp. 493-512.
3. Weine F. Tratamiento endodóntico. 5ª. Ed. España: Editorial Harcourt Brace, 1997. Pp. 694-713.
4. Dunavant Thomas R., DDS, John D. Regan, B. DentSc, MSc, MS, Gerald N. Glickman, DDS, MS, MBA, Jd, Eric S. Solomon, MA, DDS, and Allen L. Honeyman, PhD. Comparative Evaluation of Endodontic Irrigants against *Enterococcus faecalis* Biofilms. J. Endod 2006; 32: 527-531.
5. Aguinaldo S. Garcez, DDS, Martha S. Ribeiro, PhD, George P. Tegos, PhD, Silvia C. Núñez, DDS. Antimicrobial Photodynamic Therapy Combined With Conventional Endodontic Treatment to Eliminate Root Canal Biofilm Infection. Laser in Surgery and Medicine 2007; 39: 59-66.
6. Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla?. RCOE 2005; 10(4): 431-439.
7. Piera Serra Gloria. ESTUDIO DEL BIOFILM: Formación y Consecuencias. Escola de Prevençió i Seguretat Integral Vinculada a la UAB. Curso 2002-2003; 1-27.
8. Canalda S. C. Endodoncia, España: Editorial Masson, 2001. Pp. 29-39, 56-67.
9. Aguilar Heredia Tatiana. Aspectos Microbiológicos de la Periodontitis Apical Crónica Persistente. www.carlosboveda.com. 2004. Pp. 1-60.
10. Noir Yuichiro, DDS, PhD, Atsushi Ehara, DDS, PhD, Takashi Kawahara, DDS, Naoki Takemura, DDS, and Shigeyuki Ebisu, DDS, PhD. Participation of Bacterial Biofilms in Refractory and Chronic Periapical Periodontitis. J. Endod 2002; 28: 679-683.
11. Leonardo Mário R., DDS, PhD, Marcos A. Rossi, MD, PhD, Léa A. B. Silvia, DDS, PhD, Isabel Y. Ito, PhD, and Cléber C. Bonifacio, DDS, MSc. EM

- Evaluation of Bacterial Biofilm and Microorganisms on the Apical External Root Surface of Human Teeth. *J. Endod* 2002; 28: 815-818.
12. Nair P.N.R., BVSc, DVM, PhD (Hon), Stéphane Henry, DMD, Victor Cano, DDS, and Jorge Vera, DDM, Zurich, Switzerland, and Tlaxcala, México. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 231-52.
 13. Nobuo Noguchi, Yuichiro Noiri, Masahiro Narimatsu, and Shigeyuki Ebisu. Identification and Localization of Extraradicular Biofilm-Forming Bacteria Associated with Refractory Endodontic Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 2005; 71: 8738-8743.
 14. Siqueira Jr José F., DDS, MSc, PhD, and Bilge H. Sen, DDS, PhD, Rio de Janeiro, Brazil, and Izmir, Turkey. Fungy in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 632-41.
 15. Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R, Garcia G, Silva B, Hamdan J, Nicoli J, Carvalho M, Farias L. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16(2):100-5.
 16. Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ. Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(5):285-92.
 17. Pong-Yin Ng Robert, BDS, MSc, MclinDent, MRD RCSEd, Adv Dip Endodont, FRACDS, LDS RCSEng. Sterilization in root canal treatment: current advances. *Hong Kong Dent J* 2004; 1: 52-7.
 18. Herrera Mendoza María Teresa Bac. Esp. El papel del biofilm en el proceso infeccioso y la resistencia. *NOVA Publicación Científica* 2204; 2: 71-80.
 19. Bender I, Seltzer S. Combination of antibiotics and fungicides used in treatment of the infected pulpless tooth. *J Am Dent Assoc.* 1952;45(3):293-300.
 20. Engstrom B, Frostell G. Experiences of bacteriological root canal control. *Acta Odontol Scand.* 1964 Feb;22:43-69.

21. Goldman M, Pearson A. Postdebridement bacterial flora and antibiotic sensitivity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1969;28(6):897-905.
22. Nair P, Sjogren U, Krey G, Kahnberg K, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990; 16(12): 580-8.
23. Gomes B, Lilley J, Drucker D. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int Endod J.* 1996;29(4):235-41.
24. Clegg M.S., DDS, F.J. Vertucci, DMD, C. Walker, PhD, and L.R. Britto, BDS, MS. The Effect of Exposure to Irrigant Solutions on Apical Dentin Biofilms In Vitro. *J. endod* 2006; 32: 434-437.
25. Distel John W., DMD, MS, John F. Hatton, DMD, and M. Jane Gillespie, PhD. Biofilm Formation in Medicated Root Canals. *J. Endod.* 2002; 28: 689-693.
26. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J.* 1998;31(1):1-7.
27. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85(1):86-93.
28. Siren E, Haapasalo M, Ranta K, Salmi P, Kerosuo E. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J.* 1997;30(2):91-5.
29. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Sousa E, Teixeira F, Souza-Filho F. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J.* 2003;36(1):1-11.
30. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Souza Filho F. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(2):100-3.

31. Ferreira F, Ferreira A, Gomes B, Souza-Filho F. Resolution of persistent periapical infection by endodontic surgery. *Int Endod J.* 2004;37(1):61-9.
32. Cheung G, Ho M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 2001;16(6):332-7.
33. Brock. *Biología de los microorganismos.* 10a. ed. España: Editoreal Pearson Prentice Hall. 2004. Pp. 625, 628-630, 699.
34. Love R. *Enterococcus faecalis* - a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001;34(5):399-405.
35. Hubble T, Hatton J, Nallapareddy S, Murray B, Gillespie M. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol.* 2003;18(2):121-6.
36. S. George, BSc, MSc, a. Kishen, BDS, MDS, PhD, and K. P. Song, BDS, PhD. The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal Wall by *Enterococcus faecalis*. *J. Endod* 2005; 31; 867-872.
37. Kénio C. Lima, DDS, MSc, Luis R. G. Fava, DDS, and José Siquiera Jr., DDS, MSc, PhD. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* Biofilms to Some antimicrobial Medications. *J. Endod.* 2001; 27: 616-619.
38. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participacion de biopelículas bacterianas en la periodontitis periapical refractaria y crónica. *Endodoncia* 2003;21(1):50-56.
39. Lima K, Fava L, Siqueira J. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. *J Endod.* 2001;27(10):616-9.
40. Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D. Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. *Int Endod J.* 2003;36(6):423-32.
41. Vianna M, Gomes B, Berber V, Zaia A, Ferraz C, de Souza-Filho F. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):79-84.

42. Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J.* 1997;30(2):96-101.
43. Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J.* 2001;34(6):429-34.
44. Waltimo T, Siren E, Orstavik D, Haapasalo M. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod J.* 1999;32(2):94-8.
45. Siqueira J Jr, Rocas I, Lopes H, Magalhaes F, de Uzeda M. Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medications. *J Endod.* 2003;29(8):501-4.
46. Ferguson J, Hatton J, Gillespie M. Effectiveness of intracanal irrigants and medications against the yeast *Candida albicans*. *J Endod.* 2002;28(2):68-71.