



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**IMPORTANCIA DEL BIOFILM EN LAS ENFERMEDADES  
PULPARES Y PERIAPICALES.**

**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

**P R E S E N T A:**

**ZABDI ESTHER TORRES FLAMENCO**

**TUTORA: C.D. FELICITAS GABRIELA FUENTES MORA**

**ASESORA: Esp. LAURA RIVAS VEGA**

**MÉXICO, D.F.**

**2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



### *Dedicatorias.*

*Con todo mi amor y gratitud a Dios, por darme la bendición de prestarme la vida y permitirme llegar a esta etapa para poderla compartir con mis seres queridos.*

*Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, que ha sido mi segundo hogar y ha contribuido enormemente en mi preparación profesional.*

*A la Dra. Felicitas Gabriela F. Fuentes Mora y a su familia por sus consejos, apoyo y paciencia en la realización de esta tesina.*

*Le doy gracias a mis padres, María del Socorro y Juan Ramón, por su amor, paciencia, por sus valiosos consejos, por su apoyo, por sus ejemplos de perseverancia y constancia que me han alentado y que me permiten crecer como persona. Los renglones no alcanzan para expresarles mi gratitud y admiración, ¡ los amo!.*

*A mis hermanos, Juan Manuel y Diana, gracias por los momentos bonitos, por los momentos de travesuras y por aquéllos difíciles que hemos vivido juntos. Gracias a Dios por permitirme crecer a su lado.*

*También, dedico esta tesina a mi abuelita Mildred y a mi abuelito Manuel (+), que me han apoyado a lo largo de mi vida, contagiándome esas ganas de luchar y de seguir adelante.*

*Gracias a mi abuelita Lupita, a mi abuelito Juanito (+) y a mi tía Rocío por haberme consentido.*

*Gracias a las familias Flamenco Aguirre y Flamenco Villaseñor por estar conmigo y mostrarme el valor de una familia unida.*



*Con cariño para Braulio Galván por su gran apoyo en mi carrera y en la realización de este trabajo. Gracias por permitirme compartir momentos muy bonitos a tu lado.*

*A todos los Profesores de la Facultad de Odontología, que han dejado una huella en mí, a todos ustedes mi respeto, admiración y gratitud, especialmente a: Dra. Angélica Castillo, Dra. Brenda Barrón, Dr. José Luis Tapia, Dr. Javier Díez de Bonilla. Gracias por sus sabios consejos.*

*Agradezco al Dr. Amador Zenteno por compartirme sus conocimientos.*

*Gracias Meztli por las travesuras y buenos momentos a tu lado desde la primaria. También por colaborar en este trabajo.*

*Gracias a Azucena, Nidia, Pavel, Julio y Shigeru por su amistad durante tanto tiempo.*

*A mis amigos de la Facultad: Lilitiana, Ana, Gabby, Martha, Mariana, Nadia, Amaranta, Antonio, Sergio y Abraham por haber estado juntos tanto en momentos agradables como desagradables, por hacer los momentos de estrés menos tensos.*

*Gracias a Armando Velez por su ayuda.*



## ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>6</b>
<b>II. PROPÓSITO .....</b>	<b>8</b>
<b>III. OBJETIVO .....</b>	<b>8</b>
<b>1. DEFINICIÓN DEL BIOFILM .....</b>	<b>9</b>
1.1 Estructura Bacteriana .....	10
1.2 Bacterias Plactónicas .....	22
<b>2. MECANISMOS DE ADHESIÓN BACTERIANA .....</b>	<b>24</b>
2.1 Características físico-químicas de la adherencia microbiana .....	25
<b>3. ESTRUCTURA DEL BIOFILM .....</b>	<b>29</b>
3.1 Factores Nutricionales .....	31
3.2 Importancia del Oxígeno como determinante ecológico .....	33
3.3 Crecimiento y desarrollo del Biofilm .....	34
3.4 Mecanismos de Comunicación Interbacteriana .....	36
<b>4. IMPORTANCIA DEL BIOFILM EN LAS ENFERMEDADES PULPARES Y PERIAPICALES .....</b>	<b>39</b>



<b>5. BIOFILM EXTRARRADICULAR .....</b>	<b>45</b>
<b>6. ELIMINACIÓN DEL BIOFILM DENTRO DEL SISTEMA DECONDUCTO RADICULAR .....</b>	<b>51</b>
6.1 Hipoclorito de Sodio .....	53
6.2 Clorhexidina .....	57
6.3 EDTA .....	61
6.4 MTAD .....	62
6.5 Protocolo de Irrigación .....	65
6.6 Medicación Intraconducto .....	65
6.6.1 Hidróxido de Calcio .....	66
<b>7. IMPORTANCIA DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR .....</b>	<b>69</b>
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>73</b>
<b>9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>75</b>



## I. INTRODUCCIÓN

La importancia del biofilm en las enfermedades pulpares y periapicales ha sido fundamentada por numerosos estudios como los realizados por Kakehashi, quien expuso las pulpas dentales de los primeros molares de ratas comunes y de ratas libres de microorganismos a la flora oral, encontrando el desarrollo de lesiones pulpares y periapicales en las ratas comunes, pero ausencia de éstos en las ratas libres de un biofilm. Möller *et al.* cortaron las pulpas cerca del foramen apical en dientes de mono. Algunas pulpas amputadas se sellaron asépticamente de inmediato y otras se dejaron abiertas para ser colonizadas por la flora oral por una semana y después se sellaron. Los exámenes clínicos, radiográficos e histológicos reportaron ausencia de cambios patológicos en los tejidos periapicales de dientes sellados con asepsia. En contraste, los dientes con un sistema de conducto radicular infectado presentaron reacciones inflamatorias en sus tejidos periapicales.

Estos estudios sustentan que el biofilm proveniente de la caries dental es el principal agente etiológico que causa agresión a la pulpa dental, siendo responsable de su infección y formación de lesiones periapicales, ya que éstos microorganismos protegidos por un biofilm producen toxinas que penetran por los túbulos dentinarios comunicados a través de numerosos complejos de unión, en promedio a nivel coronal existen entre 30, 000 y 75,000 por  $\text{mm}^2$ .

La reacción del complejo dentino pulpar ante un biofilm se manifiesta de varias maneras y dependiendo de la intensidad de la agresión se establece un proceso inflamatorio.



De esta manera se entiende que dependiendo de la gravedad y duración del daño a la pulpa y la capacidad pulpar (del huésped) para responder puede variar la enfermedad pulpar de una enfermedad transitoria (pulpitis reversible) a una pulpitis irreversible, la cual puede provocar una necrosis pulpar y crear un ambiente favorable como pH, disponibilidad de nutrientes, tensión baja de oxígeno, que permitan el crecimiento y desarrollo bacteriano. Esta invasión ha permitido identificar a un biofilm a nivel apical incluso dentro de áreas de un cemento intacto y en áreas de resorción inicial. Los estudios con microscopia electrónica reportan que no se encontró ninguna formación de colonización de un biofilm en la superficie externa de la porción apical de la raíz en dientes con necrosis pulpar sin lesión periapical radiográficamente visible. Sin embargo, aquellos dientes que presentaban necrosis pulpar y lesión periapical radiográficamente visible mostraron la presencia de un biofilm extrarradicular, constituido por un glucocáliz de naturaleza polisacárida que brinda protección y cuenta con mecanismos de coagregación y comunicación bacteriana (quórum sensing) que pueden afectar la fagocitosis, quimiotaxis y penetración de antibióticos. Este conocimiento nos debe llevar a procedimientos que nos permitan realizar la eliminación del biofilm del sistema de conductos radiculares, empleando mejores técnicas de preparación biomecánica, limpieza y desinfección (protocolo de irrigación) y conformación, ya que la importancia del biofilm en la enfermedad pulpar está fundamentada en el daño que ésta representa hacia los tejidos periapicales.



## **II. PROPÓSITO**

Explicar la importancia del biofilm como agente etiológico en las enfermedades pulpares y periapicales.

## **III. OBJETIVO**

Conocer la importancia del biofilm como agente etiológico de las enfermedades pulpares y periapicales al estar protegido por una matriz de exopolisacáridos que le brinda protección y expresa su potencial patogénico, causando una reacción inflamatoria y activando procesos que pueden ocasionar resorción ósea e infección extrarradicular.



## 1. DEFINICIÓN DE BIOFILM

El biofilm es la forma habitual de crecimiento de las bacterias en la naturaleza. Fue definido por Costerton como una comunidad bacteriana bien organizada, envuelta externamente por un material viscoso denominado glucocáliz, éste es de naturaleza principalmente polisacárida y desempeña una función importante en la nutrición bacteriana, en la defensa de la célula a la agresión de agentes físicos y químicos, en la respuesta inmune y mecanismos de patogenicidad.<sup>1</sup>

El biofilm es una comunidad sésil microbiana caracterizada por células que están unidas irreversiblemente a una superficie o sustrato, las cuáles, están embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas mismas han producido, y que exhiben un fenotipo alterado con respecto al crecimiento y transcripción genética.<sup>2</sup>

Costerton y Lappin-Scott afirman que el proceso de formación de un biofilm es regulado por genes específicos transcritos durante la unión celular inicial.<sup>3</sup>

## 1.1 ESTRUCTURA BACTERIANA

Las bacterias tienen importancia como agentes etiológicos participando en la etiología de enfermedades pulpares y periapicales.

El papel biológico de las bacterias se comprende a partir del conocimiento de la estructura y ultraestructura celular.<sup>4</sup> (Fig,1)

Desde el punto de vista estructural, la célula bacteriana está constituida de:

- Cubierta celular- En la mayoría de las bacterias, está compuesto por pared celular y membrana citoplasmática.
- Estructuras Internas de la Cubierta Celular- citoplasma, material genético y endospora.
- Estructuras Externas de la Cubierta Celular- Glucocáliz, flagelo, pili (fimbria) y estructuras fibrilares.

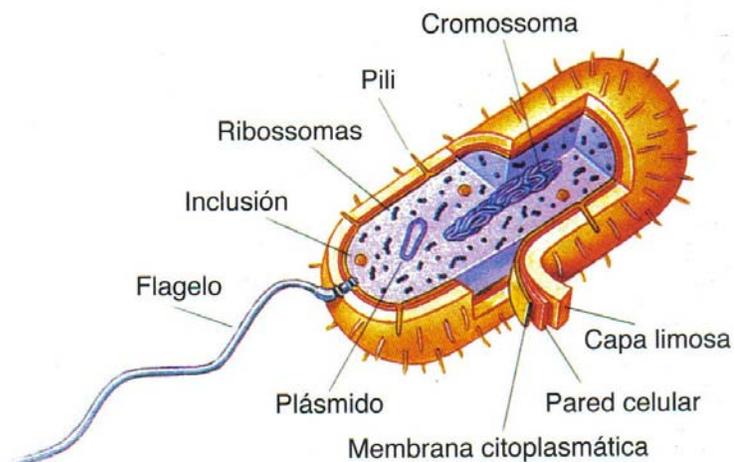


Fig. 1 Célula procariota.<sup>4</sup>

## Pared Celular

Según la reactividad que las bacterias presentan a la coloración de Gram., se clasifican en Grampositivas y Gramnegativas.<sup>5</sup> (Fig.2)

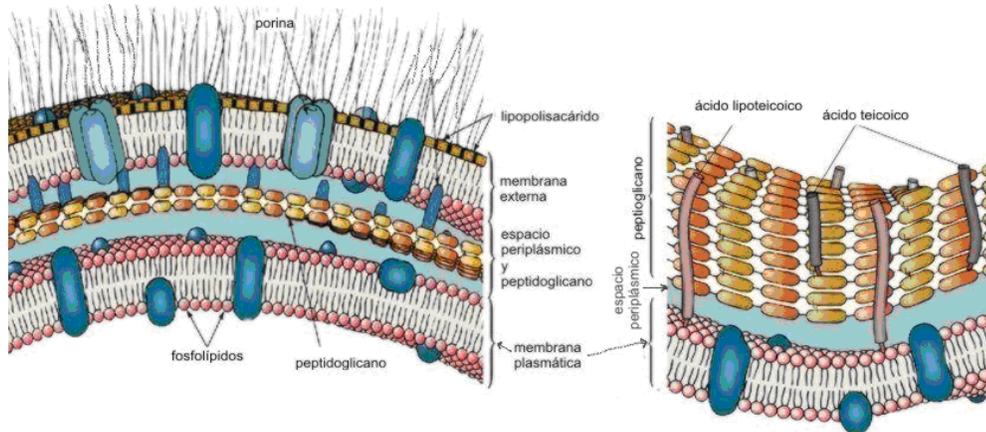


Fig.2 Pared Celular de bacterias Grampositivas y Gramnegativas.

## Pared Celular de las bacterias Grampositivas

Su estructura básica está constituida por un complejo de mucopolisacárido o peptidoglucano o mureína. Este complejo representa una verdadera red formada por cadenas paralelas de N-acetil-glucosamina unida a N-acetil-murámico, entrelazadas por aminoácidos o cadenas laterales tetrapeptídicas. (Fig.3)

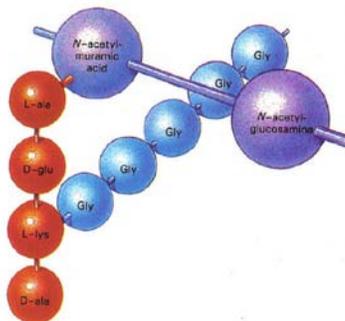


Fig.3 Estructura Básica del peptidoglucano.<sup>4</sup>



Esta capa es bastante gruesa y está constituida por ácidos teicoicos (uniones de alcohol y fosfato), teicurónicos y lipoteicoicos. Estos ácidos le confieren a esta capa una carga eléctrica negativa, lo que facilita la unión del microorganismo al diente o a la mucosa, y permiten la unión o la agregación bacteriana, por lo que son factores de virulencia.<sup>5</sup>

En función de su composición química, el peptidoglucano garantiza rigidez a la pared celular y, por lo tanto, protege las células del choque osmótico.<sup>6</sup>

### Pared Celular de las bacterias Gramnegativas

Constituida de afuera hacia adentro por la membrana externa y el periplasma.<sup>7</sup> (Fig.4)

La membrana Externa: está constituida por lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas. Está formada por dos capas u hojas (externa e interna) con proteínas asociadas.

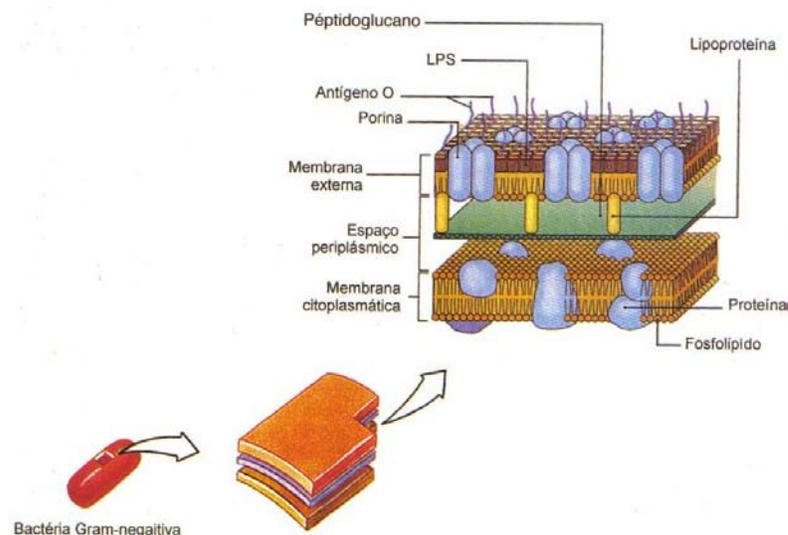


Fig. 4 Cubierta celular de una bacteria Gramnegativa.<sup>4</sup>

La capa externa está constituida mayoritariamente por el lipopolisacárido (LPS), el cual posee una estructura compleja en la que se distinguen tres motivos estructurales diferentes. La parte más superficial, constituida por largas cadenas polisacáridas, se denomina antígeno O y es hidrófila.

La zona intermedia de la estructura del LPS se llama núcleo, parte central o Core. (Fig.5)

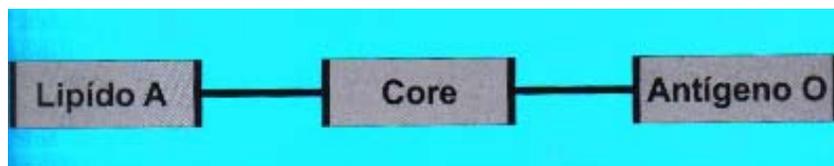


Fig. 5. Estructura del lipopolisacárido. <sup>4</sup>

La porción más profunda se denomina lípido A; existe en todas las bacterias Gramnegativas y se considera responsable de la actividad biológica asociada al LPS y, por tanto, a la endotoxina.

El lípido A es la endotoxina de las bacterias Gramnegativas, siendo liberado no solamente por ocasión de la lisis de la célula, sino también durante su crecimiento y multiplicación, expresando, por consiguiente, su potencial tóxico e induciendo complejas reacciones orgánicas.

La capa Interna: Se trata de una monocapa fosfolipídica en contacto con el periplasma.

Las proteínas asociadas pueden clasificarse también en integrales, intrínsecas, periféricas, superficiales o extrínsecas, como las de cualquier membrana. Las hay estructurales y funcionales.



Muchas proteínas de la membrana externa se suelen nombrar con las siglas Omp (*Outer membrane protein* o proteína de membrana externa). Así, por ejemplo, la OmpA es la proteína mayoritaria en algunas bacterias Gramnegativas, es estructural y, mediante enlace covalente y puentes de hidrógeno, ancla al peptidoglucano a la membrana externa.<sup>7</sup>

Las porinas (proteínas funcionales) intervienen en la difusión general de diversos iones (p. ej., Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) y en la difusión específica de aminoácidos, azúcares, nucleósidos, etc. Por lo general son monómeros o trímeros que forman canales rellenos de agua para facilitar el transporte de sustancias al periplasma. La entrada al citoplasma de estos compuestos se produce por sistemas asociados presentes en la membrana citoplasmática.

Junto a estas proteínas existen otras superficiales (también funcionales) que:

- a) Intervienen en el transporte de otros compuestos (vitaminas B<sup>12</sup> o Fe<sup>3+</sup>).
- b) Actúan como elementos que participan en procesos adhesivos (receptores o adhesinas).
- c) Son reconocidas por bacteriófagos o bacteriocinas.
- d) Se comportan como compuestos tóxicos y enzimáticos que estando unidos a la membrana externa se excretan posteriormente al exterior.<sup>7</sup>

El periplasma ó espacio periplasmático limita externamente la membrana externa e internamente la membrana citoplasmática. En este espacio están concentradas las enzimas hidrolíticas, denominadas genéricamente hidrolasas y proteínas de unión, que participan en mecanismos nutritivos de la célula considerada.



El Peptidoglucano (incluido en el periplasma) corresponde del 5 al 10% de esta pared.(Fig.6)

Envolviendo el cuerpo bacteriano, la membrana externa confiere, junto con el peptidoglucano integridad a la célula bacteriana.

El componente lipoproteico se encuentra embebido en la membrana externa y covalentemente unido al peptidoglucano; su principal función es estabilizar la membrana externa.

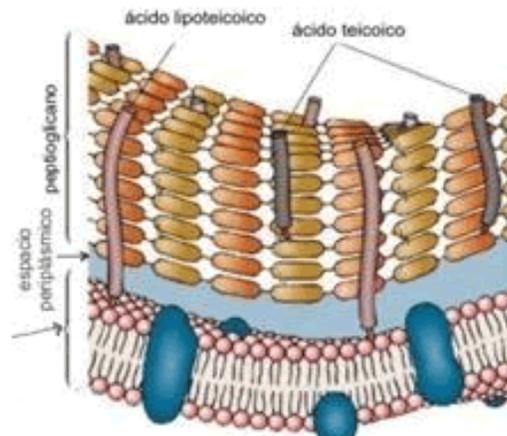


Fig.6 Cubierta celular de la bacteria Gramnegativa.

## Membrana Citoplasmática

Subyacente a la pared celular, está situada la membrana citoplasmática. Está constituida por fosfolípidos anfipáticos que se disponen en dos capas adyacentes, o sea, forman una bicapa, constituyendo una adecuada barrera entre la célula y su ambiente.



De la misma forma, las proteínas, funcionales y estructurales, también con propiedades anfipáticas, se encuentran embebidas en la membrana, confiriéndole una composición de naturaleza fosfolipoproteica.

También en relación con su constitución química, la membrana bacteriana no contiene esteroides (característicos de células eucarióticas).

La membrana citoplásmica es la sede de las reacciones básicas del metabolismo oxidante; es responsable del control de los constituyentes internos de la célula; controla los mecanismos de transporte de nutrientes a través de sus estructuras limítrofes, exigentes o no de energía (difusión mediada por cargador, transporte unido a la fosforilación y transporte activo); concentra intermediarios biosintéticos; y está involucrada en la división celular.

## **ESTRUCTURAS INTERNAS DE LA CUBIERTA CELULAR.**

### **Citoplasma**

El citoplasma debe ser considerado como un gel, una sustancia semifluida, compuesta aproximadamente por el 80% de agua y sustancias tales como enzimas y otras proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos y una variedad de iones inorgánicos. Complejas reacciones químicas, de naturaleza catabólica y anabólica ocurren en el citoplasma.

En el citoplasma también se identifican ribosomas y, en muchas bacterias, las denominadas inclusiones citoplasmáticas.

Los ribosomas son estructuras constituidas por cerca del 60% de ácido ribonucleico (RNA) y el 40% de proteína, algunos están libres en el citoplasma y otros asociados a la superficie interna de la membrana.



En la célula procariótica, esas estructuras están constituidas por dos subunidades, una menor 30S, y una mayor, 50S (S-, unidad de velocidad de sedimentación derivada de Svedberg); durante la síntesis proteica, esas dos subunidades se unen, originando un ribosoma funcional 70S. Esas estructuras representan el lugar de la síntesis proteica.

Ciertas sustancias tienen la propiedad de fijarse específicamente a esas estructuras y, así, interferir en la construcción de aquellas macromoléculas, fenómeno que es la base de su potencial antimicrobiano.<sup>7</sup>

Las inclusiones representan material nutritivo de reserva, son insolubles a medida que poseen sustancias densamente condensadas. Su naturaleza química varía según el microorganismo considerado, pero asumen mayor significado aquellas constituidas por polímeros de glucosa. Aquellas a base de glucosa van a garantizar la producción residual de ácido láctico, potente agresor del tejido.

### **Material genético**

La estructura procariótica de la bacteria no soporta un verdadero núcleo. El material nuclear, también denominado nucleoide, está compuesto básicamente por ácido desoxirribonucleico (DNA), pero posee algún RNA y proteínas asociadas a él; el DNA constituye un cromosoma único, circular que concentra toda la información genética de la célula. Su estructura fue descrita por Watson y Crick<sup>8</sup>, según los cuales esa macromolécula constituye una doble hélice, donde se identifican las bases nitrogenadas complementarias entre sí –púricas (adenina y guanina) y pirimídicas (timina y citosina)-, el azúcar desoxirribosa y residuos de fosfato.

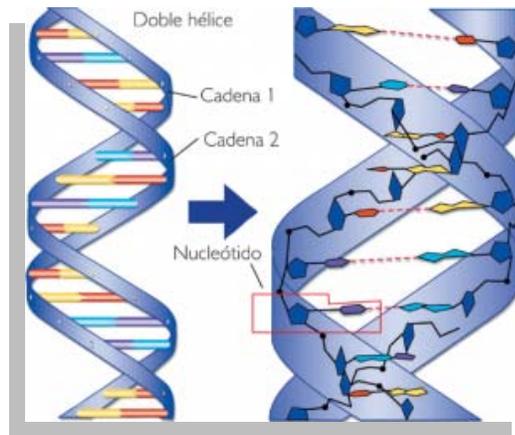


Fig.7 Modelo estructural del ADN.<sup>8</sup>

Algunas bacterias poseen moléculas circulares de DNA que no hacen parte del cromosoma, llamadas plásmidos o DNA extracromosómico, que se replican independientemente del cromosoma. Los plásmidos codifican las siguientes funciones:

- Codifican determinantes ecológicos.
- Determinan la síntesis de factores de patogenicidad.
- Son responsables de la resistencia bacteriana a diferentes antimicrobianos.
- Comandan la síntesis de proteínas que resultan en pilli sexuales.

## Endospora

La esporulación constituye actualmente un medio por el cual las bacterias se preparan para la posibilidad de enfrentar condiciones nutritivas, físicas y/o químicas adversas. La resistencia a esos factores ambientales está relacionada a su composición química (pobreza en agua y riqueza en dipicolinato de calcio) y a la complejidad de su estructura.<sup>9</sup>



## ESTRUCUTRAS EXTERNAS DE LA CUBIERTA CELULAR

### Glucocáliz

Es un material viscoso que envuelve externamente la pared celular y, dependiendo de su espesura y/o organización, se denomina cápsula o capa limosa.

La cápsula envuelve individualmente la célula bacteriana y es de naturaleza principalmente polisacárida, pero puede ser un polipéptido.

La capa limosa es un material extracelular que circunda grupos de células; los polisacáridos extracelulares, sintetizados por las especies del grupo *Streptococcus mutans*, son prototipos de la capa limosa.

Como consecuencia de su situación topográfica y de su composición química, el glucocáliz desempeña, de modo general, papel expresivo en la nutrición bacteriana, en la defensa de la célula a la agresión de agentes físicos y químicos, en el estímulo de respuesta inmune y en los mecanismos de patogenicidad.



## Flagelos

Son estructuras filamentosas, presentes en bacilos y formas de espiral. Aparecen como estructuras finas, largas, onduladas o sinuosas, no ramificadas y muy frágiles. Están compuestos por subunidades proteicas contráctiles, denominadas flagelina, y se fijan a la cubierta celular a través de una región o cuerpo basal de naturaleza proteica.

Estos flagelos son responsables de la motilidad bacteriana. Permiten a las bacterias, gracias a su movimiento, penetrar en los tejidos y, en determinados casos, vencer las fuerzas contracorrente (factor de patogenicidad).

Constituyen los llamados antígenos H que son inmunógenos, lo que permite determinar la respuesta inmunitaria en el hospedado.<sup>10</sup>

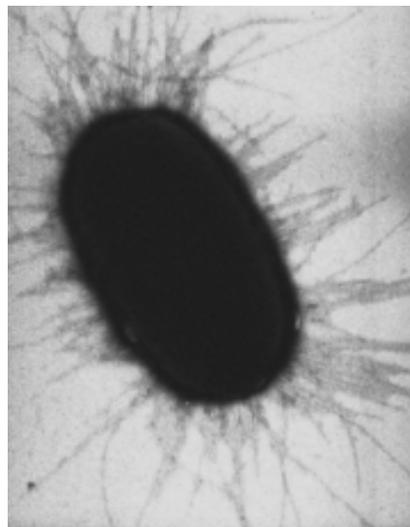
Algunas bacterias están dotadas de “órganos sensoriales” que regulan la dirección del motor flagelar en el sentido de alejarse o aproximarse a determinados compuestos, lo cual se conoce como quimiotaxis, que consiste en dirigir las bacterias para ambientes ecológicamente favorables.



### ***Pili* o Fimbrias**

Se refiere a otro tipo de estructura filamentosa, típica de bacterias Gram-negativas. Son formadas por subunidades proteicas, conocidas por el nombre de *pilina* o *fimbrilina*, son rígidos y comparativamente menores y más finos que los flagelos.

Existen dos tipos de *pili* – sexuales y somáticas. Las primeras participan en la transferencia de material genético entre las células bacterianas, estableciendo el contacto físico de la célula donadora a la receptora y permitiendo el pasaje del material específico; las *pili* somáticas representan factores de patogenicidad, específicamente en lo que se refiere a la adherencia y colonización.<sup>11</sup>



**Fig. 8 Piliis o Fimbrias**



## 1.2 BACTERIAS PLANCTÓNICAS

Las bacterias planctónicas son microorganismos de libre flotación en un medio acuoso. Fueron descritos por Anton van Leeuwenhoek en 1673 usando un microscopio de su propio diseño. De hecho, gran parte del conocimiento de la microbiología se basa en el trabajo con estos organismos de libre flotación.

Las características de las bacterias planctónicas son muy diferentes a las de sus contrapartes adherentes. Las bacterias planctónicas tienden a tener superficies que son relativamente hidrofílicas (amantes del agua), y el patrón de expresión genética es muy diferente al de las bacterias que crecen sobre una superficie. También, las bacterias planctónicas tienden a no tener glucocálix, por lo que pueden ser más susceptibles a agentes antibacterianos, como los antibióticos. Paradójicamente, la mayor parte de los conocimientos de la actividad de los antibióticos se han basado en experimentos con bacterias planctónicas.<sup>12</sup>

Así, las bacterias planctónicas muestran una gran variedad en las velocidades a las que pueden crecer. Estas habilidades, así como otros cambios que las bacterias son capaces de hacer, son posibles porque las bacterias son fenotípicamente moldeables, es decir, son muy adaptables. Sus homólogos adherentes tienden a ser menos sensibles a los cambios ambientales.



Dependiendo de los cambios ambientales una misma bacteria puede crecer adherida a una superficie o crecer de forma planctónica nadando libremente en el medio líquido. Con un mismo genotipo, la bacteria expresa un distinto patrón de genes y presenta un distinto fenotipo. Entre estos genes una gran proporción es desconocida, lo que puede indicar que hay genes específicos del estilo de vida en el biofilm, cuyo fenotipo hasta ahora no ha podido ser visualizado. Esto ayudará a determinar cuáles son los cambios fisiológicos que tienen lugar en el mismo y cuáles son los requerimientos genéticos y los mecanismos de regulación de dicho proceso.<sup>13</sup>

Además esto permitirá unificar los resultados experimentales obtenidos.

Las bacterias planctónicas son susceptibles a la erradicación por el sistema inmune del hombre. La examinación de varias bacterias infecciosas ha demostrado que una vez en el hospedero, las bacterias planctónicas tienden a adoptar varias estrategias para evadir la reacción del huésped.

Estas estrategias incluyen la formación de poblaciones adherentes, la elaboración de glucocáliz alrededor de las bacterias individuales, y la entrada en las células del huésped.

Una vez que los organismos entran en contacto con la superficie, cualquier posible interacción está gobernada por reglas físico-químicas y biológicas que van a modular la regulación de genes que ocurre en el interior de la célula microbiana.



## 2. MECANISMOS DE ADHESIÓN BACTERIANA

Las bacterias planctónicas o libres pueden encontrar condiciones favorables para establecerse como un biofilm en el que participan sus mecanismos de adhesión bacteriana.

La adherencia microbiana involucra mecanismos fisicoquímicos específicos que influyen sobre ella, no solo en la interacción de las estructuras superficiales de las bacterias y de las superficies colonizables, sino también la actividad de la saliva como líquido de la suspensión.

Las superficies de los labios, carrillos, paladar, lengua, encías y dientes proveen todas las diferentes características para la colonización microbiana.

Todas están cubiertas por una película confluyente altamente hidrófila de mucinas salivales. Estas mucinas tienen la forma de un gel hidratado complejo que puede ser de importancia en la lubricación de la mucosa, en la protección contra cambios súbitos en presión osmótica, pero también interferirá en la adherencia microbiana.<sup>14</sup>

La diferencia más importante entre las superficies bucales es la dada entre la mucosa, con su epitelio descamante y la superficie dentaria sólida.<sup>14</sup> (Fig 9) En la superficie dentaria en descamación, las bacterias deben colonizar continuamente la superficie que se desprende de las mucosa bucal, la cual es una parte importante en la defensa del huésped contra la invasión microbiana.

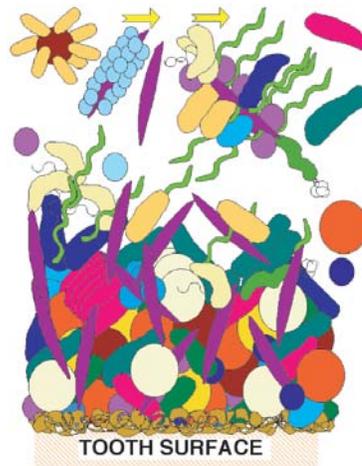


Fig.9 Adherencia de microorganismos a una superficie dental.<sup>68</sup>

## 2.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA ADHERENCIA MICROBIANA.

Una característica importante de la bacteria es que pueden portar una carga eléctrica negativa neta y con ello tienden a repelerse entre sí electrostáticamente.

La superficie dentaria también está cargada negativamente y repele a las bacterias.<sup>15</sup>

A las células las influye además, la electrodinámica o fuerzas de Van der Waals. Estas fuerzas atraen con un alcance mayor que la fuerza electrostática repelente.

Las fuerzas de atracción y repulsión favorecerán una separación de las bacterias a distancias específicas de la superficie dentaria. (Fig. 10)

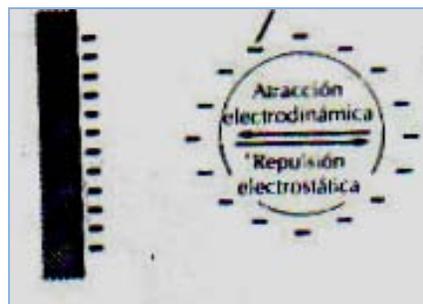


Fig. 10 Adherencia microbiana.<sup>15</sup>

Esta brecha de separación está influida por la presencia de iones. Un pH ácido o una concentración incrementada de cationes reducirán la brecha. (Fig.11)

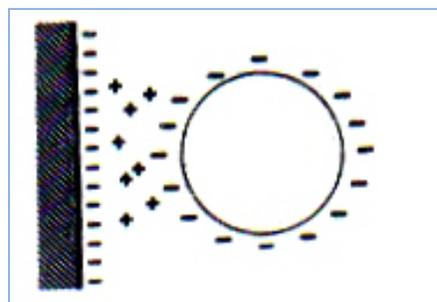
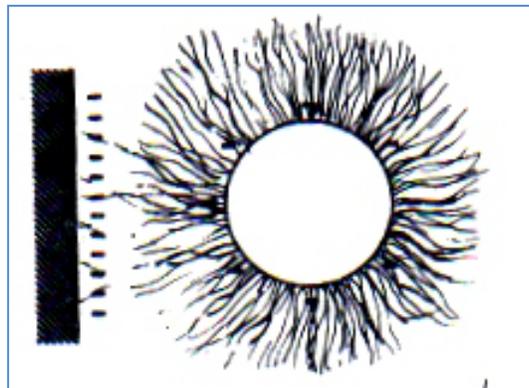


Fig.11 Adherencia microbiana.<sup>15</sup>



La importancia del glucocáliz para la adherencia bacteriana es que representa una extensión hidrofílica más allá de la superficie muy cargada de la bacteria y así hace un puente para la separación que existe entre las bacterias y la superficie dentaria. (Fig. 12)



**Fig.12 Adherencia microbiana.**<sup>15</sup>

Cuando el glucocáliz entra en contacto con la superficie dentaria se pueden establecer otras fuerzas de atracción, tales como las uniones hidrogenadas, las formaciones de pares iónicos y las interacciones dipolo-dipolo.



Los pilli o fimbrias bacterianos suelen ser bastante largos como para extenderse más allá del glucocáliz y así ayudar en la creación de un puente a través de la separación para establecer un contacto entre las bacterias y la superficie dentaria.<sup>15</sup> (Fig.13)

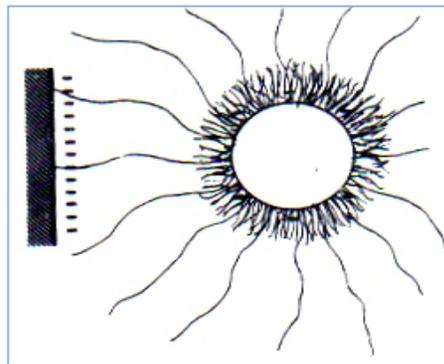


Fig. 13 Adherencia microbiana.<sup>15</sup>

Las moléculas llamadas adhesinas de las bacterias, son proteínas que se localizan en los pilli o fimbrias y reconocen estructuras de carbohidratos llamadas lectinas.

La interfase que se forma entre la superficie del diente está compuesta por glicoproteínas derivadas de la saliva, la cual parece facilitar la adherencia microbiana. La cavidad bucal posee una fuente abundante de microorganismos que pueden colonizar el sistema de conducto radicular, una vez que los microorganismos entran en contacto con la superficie y sus mecanismos de adhesión físico-químicos, así como la actividad del lipopolisacárido y la regulación de sus genes están presentes, permiten la formación de un biofilm.



### 3. ESTRUCTURA DEL BIOFILM

La estructura que representa al biofilm ha sido reportada en sus inicios como un modelo de película densa que corresponde a la vista plana, tradicional y homogénea, la cual fue introducida por los investigadores dentales al estudiar la placa dental con microscopio electrónico de transmisión. Ésta muestra numerosas microcolonias de bacterias dentro de una estructura densa sin evidencia de canales de agua atravesándola.<sup>16</sup> (Fig.14)

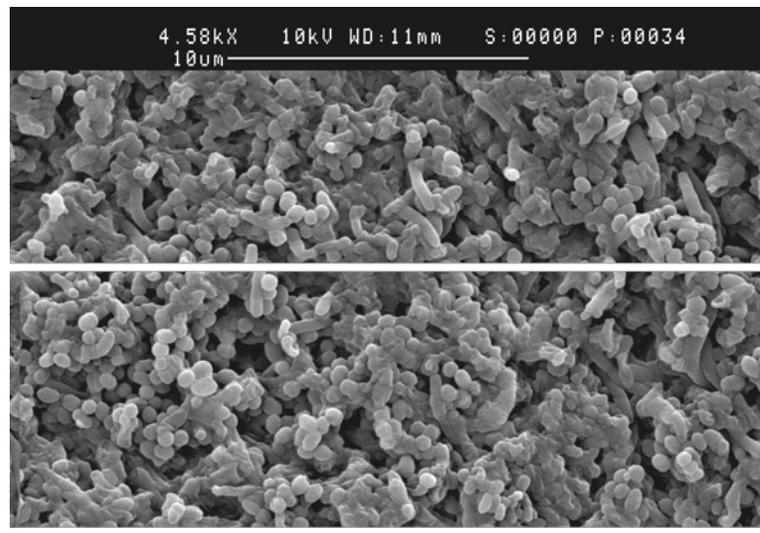


Fig. 14. Biofilm.<sup>29</sup>

Durante los últimos años la estructura del biofilm ha sido documentada y evaluada con una extensa variedad de microscopios y técnicas físico-químicas y de biología molecular, revelando una estructura tridimensional completa en forma de setas o también llamado modelo de los canales de agua. Este fue descrito usando microscopía confocal con el uso de marcadores fluorescentes.<sup>17</sup>



Este modelo muestra una estructura no sólida en forma de setas con el tallo más estrecho que su porción superior, esto último puede fusionarse dejando canales a través de los cuales los fluidos ambientales pueden moverse actuando como transporte de nutrientes, agua, oxígeno, removiendo productos de desecho y actuando como conductos para moléculas mensajeras, incluso hasta las zonas más profundas del biofilm.

La existencia de estos canales no evita sin embargo, que dentro del biofilm podamos encontrar ambientes diferentes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente.

Esta circunstancia aumenta la heterogeneidad sobre el estado fisiológico en el que se encuentra la bacteria dentro del biofilm y dificulta su estudio.<sup>18, 19,20</sup>.

Para que se forme un biofilm se requiere de nutrientes y de una variedad de factores físico-químicos como pH, temperatura, osmolaridad, luz, tensión de oxígeno.<sup>21</sup> (Fig.15)

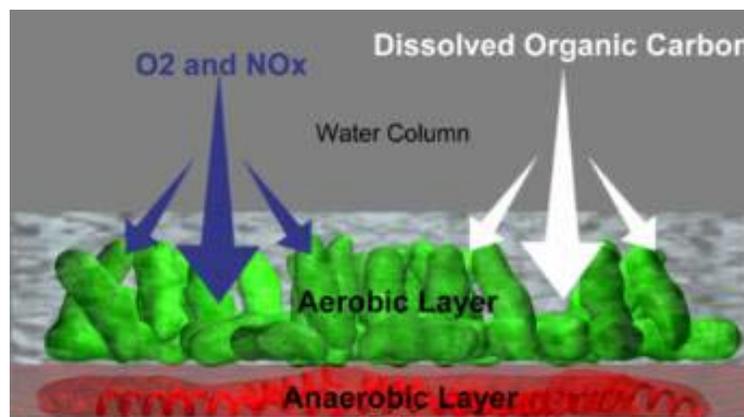


Fig.15 Etapa inicial del proceso de formación del biofilm.

### 3.1 FACTORES NUTRICIONALES

Para que las bacterias vivan y se desarrollen deben encontrar los compuestos químicos necesarios o nutrientes con los que lleva a cabo la síntesis de sus componentes celulares.

Las bacterias con requerimientos nutricionales simples son capaces de crecer y multiplicarse si el medio les proporciona azúcar, amonio y otros iones inorgánicos esenciales (Fig 16). De estas moléculas, la célula microbiana sintetiza sus propios componentes celulares. Para lograrlo, la bacteria debe contar con un conjunto completo de enzimas para catalizar todas las reacciones químicas exigidas. Si falta alguna de las enzimas, no se formarán las moléculas esenciales y los microorganismos no serán capaces de crecer o multiplicarse a menos que esas moléculas seas provistas por el medio.<sup>21</sup>

Una nutrición adecuada es fundamental para el crecimiento de las bacterias, los componentes del tejido pulpar desintegrado aportan una fuente nutricional importante, al menos durante las fases iniciales de colonización bacteriana.

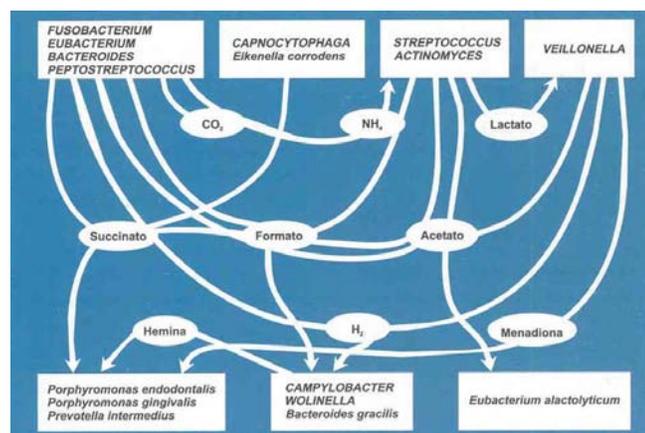


Fig.16 Interacciones nutritivas de bacterias del conducto radicular

Otro factor esencial en la nutrición bacteriana es el exudado inflamatorio que contiene elementos séricos y hemáticos excretados de alteraciones inflamatorias concomitantes en los tejidos pulpares o periapicales restantes. Si existe comunicación directa con el medio oral, la saliva brinda elementos que fomentan el crecimiento bacteriano. Aportan proteínas que favorecen el crecimiento de las bacterias que los emplean.<sup>22</sup>(Fig 17)

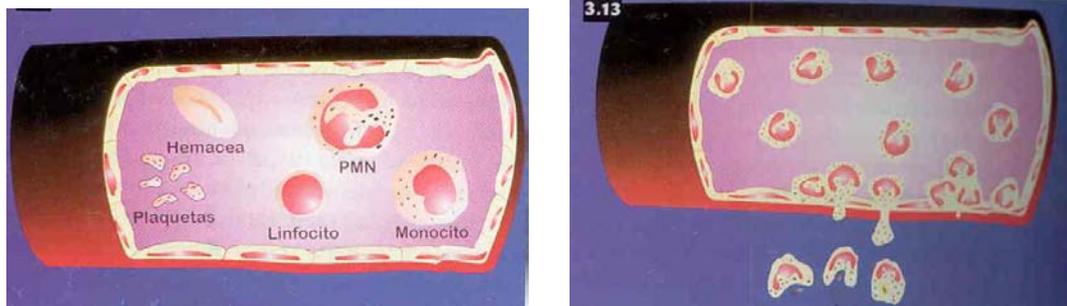


Fig 17. Exudado leucocitario

El establecimiento del proceso infeccioso hace que los microorganismos ejerzan una presión mecánica sobre los vasos y nervios que llegan a la pulpa. Consecuentemente hay compromiso de suministro sanguíneo y alteración de las condiciones ecológicas del área, factores que soportan la formación de una microbiota gradualmente más compleja, ocurriendo de la misma manera, la presión en las terminaciones nerviosas. Al mismo tiempo, la instalación del proceso exige que los microorganismos compitan con el huésped por sustancias necesarias al metabolismo de ambas células.<sup>23</sup>



### 3.2 IMPORTANCIA DEL OXÍGENO COMO DETERMINANTE ECOLÓGICO

La influencia del oxígeno es un factor importante ya que la microbiota endodóncica necesita una muy baja disponibilidad de oxígeno en conductos radiculares infectados. Aún cuando hay una exposición oral directa, la concentración de oxígeno permanece reducida, en particular en porciones apicales del sistema del conducto radicular, donde se produce un bajo potencial de óxido-reducción en el tejido necrótico que favorece el crecimiento de bacterias facultativas, Dichas bacterias pueden en un principio, colonizar la cámara pulpar, pero por la desaparición de oxígeno y bajo potencial de óxido-reducción resultante, se fomenta el desarrollo bacteriano anaeróbico, en donde destacan microorganismos como *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas endodontalis*.<sup>24</sup>

El potencial de óxido-reducción del medio es importante para la iniciación y desarrollo de una bacteria de determinada especie.

Intracelularmente o en cualquier punto caracterizado por un potencial de óxido-reducción bajo, el oxígeno es convertido en productos altamente reactivos y potencialmente destructivos.

El oxígeno es reducido y se forman aniones de superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales oxhidrilos. De éstos, el peróxido de hidrógeno y los aniones de superóxido no son tóxicos por sí mismos pero pueden generar los radicales oxhidrilos más devastantes.<sup>25</sup>



Las bacterias tienen que estar equipadas con un complicado sistema de enzimas que deshaga los productos oxigenados nocivos con el fin de sobrevivir en un medio.

### **3.3 CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL BIOFILM**

Una vez que los microorganismos entran en contacto con la superficie los mecanismos de adhesión intervienen como fimbrias, lipopolisacáridos (LPS) extracelulares, polímeros extracelulares, flagelos y proteínas.<sup>26</sup>

Los polímeros de superficie con sitios no polares como las fimbrias y componentes de ciertas bacterias Gramnegativas (ácido micólico) parecen dominar la adhesión a sustratos o superficies hidrofóbicos, mientras que los polímeros extracelulares (EPS) y los lipopolisacáridos son más importantes en la adhesión a sustratos hidrofílicos.

Los flagelos son importantes en la adhesión, ya que están encargados de vencer las fuerzas de repulsión inicial entre el microorganismo y el sustrato.

Aunque la motilidad y la presencia de flagelos ayudan al proceso este no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias Grampositivas inmóviles como estafilococos, estreptococos y micobacterias son capaces de formar biopelículas.

En el caso de bacterias Grampositivas las proteínas de superficie son importantes en la adhesión.



Se describe que la formación del biofilm ocurre en 6 etapas<sup>27</sup> (Fig18):

1. Adhesión inicial del microorganismo a la superficie.
2. Colonización.
3. Coagregación.
4. Crecimiento.
5. Maduración.
6. Unión de otros microorganismos.

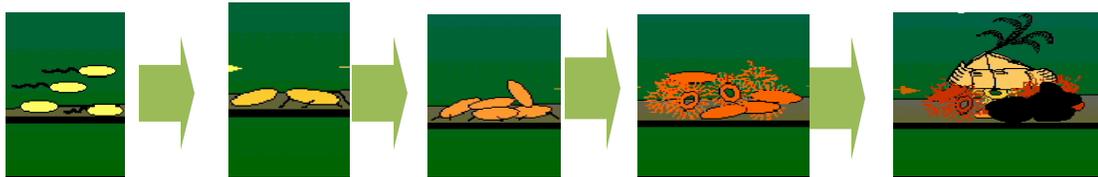


Fig.18 Formación del Biofilm.

Durante la fase de adhesión se va a regular la expresión genética a través de varios sistemas de transducción por señales que van a permitir la transcripción de genes, este sistema recibe el nombre de quórum sensing.



### 3.4 MECANISMOS DE COMUNICACIÓN INTERBACTERIANA

El quórum sensing representa una vía que es activada como respuesta a la densidad celular y son sistemas que se encuentran en microorganismos Grampositivos y Gramnegativos. El estímulo para la activación del quórum sensing son moléculas llamadas autoinductoras, de tal manera que la concentración de moléculas va en función de la densidad microbiana, y por lo tanto, la percepción de la señal va a ocurrir cuando la concentración de moléculas autoinductoras alcancen el umbral.<sup>28</sup>

Es por esta razón que el término quórum sensing es usado para definir este tipo de sistemas, ya que se necesita de que cierto número de microorganismos estén presentes para que la señal sea percibida por la población y entonces poder responder ante ésta. Las bacterias Grampositivas usualmente producen oligopéptidos, los cuales son reconocidos por los sistemas de transducción de dos componentes. En tanto que para los organismos Gramnegativos las moléculas que disparan la señal pertenecen al grupo de lactones de homoserina. Los microorganismos liberan dicha molécula inductora cuando se aproximan a la superficie que van a colonizar, aumentando la concentración de las mismas en el área entre el microorganismo y la superficie. Las moléculas inductoras para el sistema de quórum sensing son a menudo altamente específicas, por lo tanto, este sistema sirve para comunicación interespecies. Todos estos sistemas de transducción por señales actúan en la regulación de la virulencia, así como formación de biopelícula, sirviendo de conexión entre ambos procesos.<sup>29</sup>



Con esto podemos entender que las bacterias tienen capacidad para comunicarse entre ellas, ya sea por medio de señales químicas (quórum sensing), permitiéndoles la expresión de genes que controlan su crecimiento. A través del quórum sensing las bacterias responden a su agregación y regulan la expresión de sus genes y la diferenciación celular para optimizar su fisiología en un ambiente particular.

La capacidad de la célula bacteriana para comunicarse y comportarse colectivamente como un grupo proporciona ventajas significativas en la colonización, la defensa contra otras bacterias, la adaptación a condiciones físicas variables, la diferenciación celular y la evolución de la especie.<sup>30</sup> Éstas ventajas son protección frente a agresiones externas y mayor resistencia frente a los antimicrobianos, aporte de nutrientes y eliminación de desechos; también, proporciona un medio ambiente adecuado para el desarrollo bacteriano, así como la capacidad de unión a otros microorganismos dentro del biofilm, los cuales experimentan heterogeneidad metabólica<sup>31,32</sup>: Esto se refiere a que al biofilm se pueden unir otras organizaciones bacterianas que pueden estar conformadas por bacterias, hongos como la *Candida albicans*, que es una levadura oral, que puede ser ocasionalmente aislada del conducto radicular en caso de periodontitis apical persistente, o bien, bacterias como el *Enterococcus faecalis*, el cual posee una variedad de factores de virulencia que le confiere su capacidad de sobrevivir en la región periapical.<sup>33</sup>



Entre estos factores de virulencia se encuentra su habilidad para producir proteasas, crecer y predominar en un ambiente bajo en nutrientes, penetrar dentro de los túbulos dentinarios, así como la adherencia y producción de cambios fenotípicos cuando son requeridas por el patógeno.

Dentro del sistema del conducto radicular es probable que las condiciones ecológicas favorezcan el crecimiento y la coexistencia de levaduras y bacterias, este patógeno tiene la capacidad de coagregarse con una variedad de *Streptococcus* como el *Streptococcus sanguis*, los cuales pueden facilitar la formación de biopelículas complejas promoviendo la colonización y supervivencia de ambos. (Fig. 19))

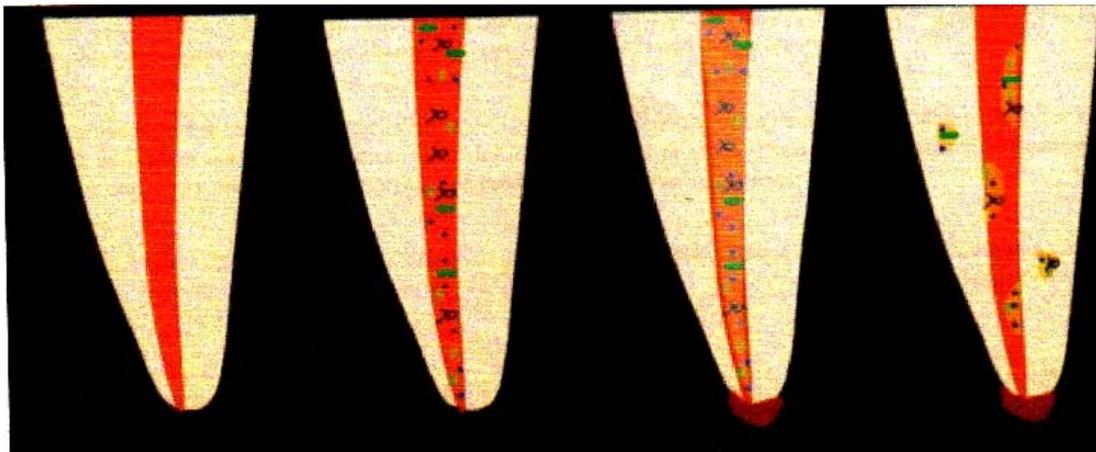


Fig. 19 Adhesión de células bacterinas dentro del S.C.R.



#### **4. IMPORTANCIA DEL BIOFILM EN LAS ENFERMEDADES PULPARES Y PERIAPICALES.**

El papel determinante del biofilm en el establecimiento de la enfermedad pulpar y periapical ha sido estudiado por Kakehashi *et al*<sup>34</sup>, quienes observaron los cambios patológicos derivados del efecto de las exposiciones pulpares en ratas libres de gérmenes y en ratas convencionales con una microbiota oral compleja. Posterior a las exposiciones de la pulpa dentaria y su exposición a la cavidad bucal, en el grupo en que estaba presente la microbiota oral, hubo destrucción pulpar y formación de lesión periapical. En el grupo de ratas libres de microorganismos no se observó el desarrollo de lesión periapical, sino el potencial de reparación pulpar en ausencia de infección.

Möller *et al*<sup>35</sup> investigaron la reacción del tejido necrótico no infectado y los tejidos periapicales, y la influencia en la capacidad de inducir periodontitis apical. Se utilizaron 78 dientes de 9 monos divididos en dos grupos, A y B. A 26 dientes del grupo A se les realizó una apertura coronaria, posteriormente, una sección pulpar en el límite de 1 mm, siendo dejada en el interior del conducto radicular y los dientes sellados por un período de 6 a 7 meses, sin exposición a microorganismos.

En los dientes del grupo B, después del corte de la pulpa y su permanencia en el interior del conducto radicular, la cavidad se quedó abierta y fueron expuestos durante 6 a 7 días a los microorganismos de la cavidad bucal, posteriormente los dientes fueron sellados en períodos idénticos, de 6 a 7 meses.



Los resultados mostraron que en el grupo no infectado (A), ningún diente proporcionó muestra positiva, ni en la fase inicial ni en la final. Los dientes fueron analizados histológicamente, todos presentaban región apical con normalidad y sin presencia de reabsorción.

En los dientes del grupo infectado (B), se verificó cultivos positivos. Las bacterias más comunes, aisladas tanto en las muestras iniciales como finales, fueron las bacterias anaerobias facultativas, como por ejemplo *Streptococcus a hemoliticus*, *Enterococcus* y *Coliformes*, bacterias estrictas como *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Propinibacterium*, *Peptococcus* y *Peptostreptococcus*. Algunas bacterias que no fueron aisladas en la muestra inicial lo fueron en la final, como *Bacteroides*, *Eubacterium* y *Propinibacterium*. De esos 52 dientes, 12 presentaron, en el tiempo final, señales clínicas como pus en el conducto radicular, absceso y/o formación de fístula; 47 dientes denotaron lesión periapical en la radiografía.

El análisis histológico de 10 dientes de ese grupo mostró reacción inflamatoria en la región periapical y formación de abscesos con infiltración de granulocitos, neutrófilos y células redondas, linfocitos y células plasmáticas. Además, en el grupo B, también se encontró reabsorción del hueso adyacente.

La cavidad bucal es una fuente abundante de microorganismos que puede colonizar el sistema del conducto radicular posiblemente luego de la formación de un biofilm en el que el proceso infeccioso gane suficiente poder para causar la subsiguiente destrucción de los tejidos pulpares. Con la progresión de la infección pulpar, los microorganismos y sus productos que estaban inicialmente contenidos en el lumen del sistema del conducto radicular invaden la totalidad del sistema incluyendo túbulos dentinarios, ramificaciones y cemento radicular, pudiendo ocasionar la resorción ósea y también la infección extrarradicular.<sup>36, 37.</sup> (Fig. 20)

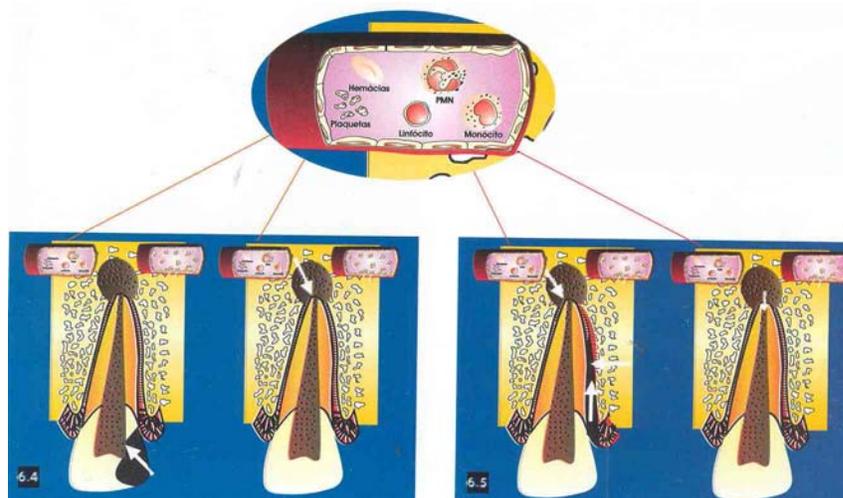


Fig. 20 Entrada de microorganismos en la cavidad pulpar.<sup>4</sup>

La infección del espacio pulpar puede sobrepasar las defensas y causar pulpitis o necrosis pulpar. Ésta provee un ambiente favorable para la proliferación bacteriana debido a la presencia de residuos orgánicos o nutrientes, promoviendo un hábitat selectivo para que los microorganismos crezcan en biopelículas. El tipo y concentración de nutrientes, pH, productos tóxicos del metabolismo celular, van a influir en el establecimiento de un biofilm dentro del sistema del conducto radicular.



Las bacterias forman biopelículas primero sobre las paredes del sistema del conducto radicular pero también en conjunto con los tejidos remanentes. Existe poco conocimiento sobre el modelo por el cual se une a las paredes del sistema del conducto radicular (SCR) y progresa a la destrucción de la pulpa para la formación de biopelículas. Sin embargo se conoce que después de la primera adhesión se va a formar rápidamente una capa de biopelícula sobre la superficie.

Hay muchos beneficios para el estilo de vida comunitario de la bacteria en una biopelícula. Por ejemplo, las bacterias funcionando juntas en estas agregaciones son capaces de degradar nutrientes molecularmente complejos que no podrían ser eficientemente eliminados por una bacteria individualmente. De igual manera, el sinergismo bacteriano es crucial para la adaptación bacteriana al stress del ambiente.

En el sistema del conducto radicular los organismos prevaletentes pueden evitar los efectos de la preparación químico-mecánica y de la medicación intraconducto por medio de adherencia a las superficies disponibles formando biopelículas. Si los microorganismos en el sistema del conducto radicular cooperan como verdaderos compañeros esto debe ser investigado.<sup>38</sup>

Sin embargo, esto explicaría porque las poblaciones de biopelículas en los conductos sobreviven periodos de inanición, como el *Enterococcus faecalis*, y se recupera rápidamente luego del incremento en el suplemento de nutrientes. Durante estos periodos las bacterias modifican sus demandas nutricionales, guardan energía facilitando su supervivencia, estas son características esenciales de un biofilm.



Cuando la región periapical es colonizada por los microorganismos, el huésped trata de eliminar la infección a través del sistema inmune. En este punto se pueden ocasionar resorciones de cemento como producto de la reacción inflamatoria, promoviendo la formación de un nicho microbiano donde los microorganismos puedan ordenarse y organizarse ellos mismos en asociaciones y producir una capa de exopolisacáridos, la cual va a ser responsable de su resistencia a los medicamentos intraconducto, a las defensas del organismo y a los antibióticos.<sup>39</sup> (Fig. 21)



**Fig. 21 Lesión periapical.**



Se reporta la presencia de un fluido intersticial que facilita la adherencia de los microorganismos y la subsecuente formación de biopelículas extrarradiculares, favoreciendo la supervivencia de los microorganismos en un ambiente propicio y manteniendo la patología periapical. (Fig.22)



Fig.22 Formación de biofilm extrarradicular.



## 5. BIOFILM EXTRARRADICULAR

El mecanismo de formación de un biofilm extrarradicular es complejo. Los microorganismos pueden desarrollar mecanismos de resistencia y evasión de la defensa inmunológica y sobrevivir en los tejidos periapicales formando biofilms.<sup>40</sup>

Se ha reportado que las bacterias extrarradiculares pueden formar colonias o agregados donde ellas son rodeadas por material extracelular. Los agregados a veces tienen forma de gránulos con diámetros de hasta 3 o 4 mm. La flora del sistema de conducto radicular de un diente obturado donde el tratamiento ha fracasado, difiere marcadamente de la flora de los conductos infectados por dientes no tratados.<sup>41</sup> (Fig.23)

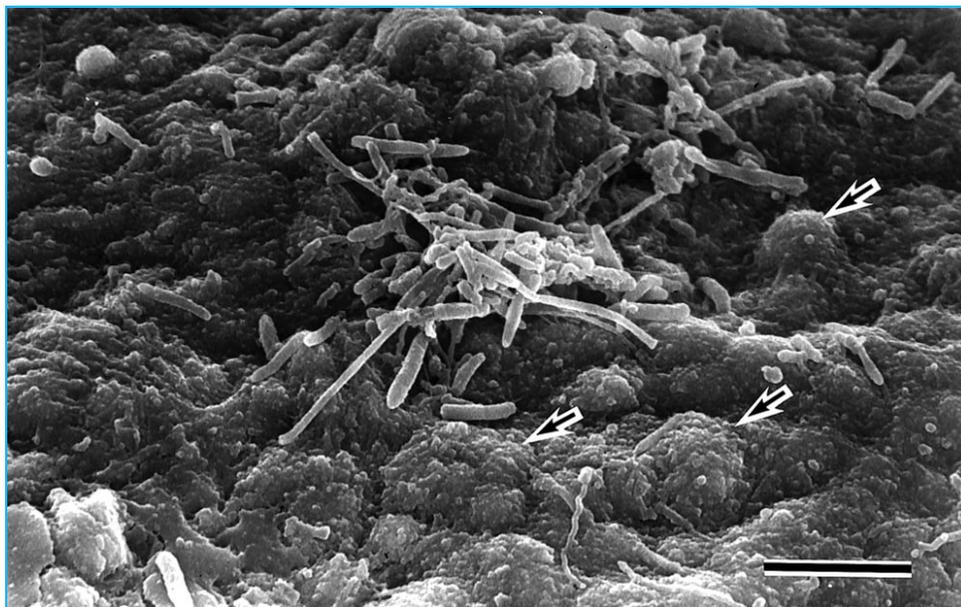


Fig. 23 Biofilm extrarradicular.<sup>68</sup>

Con la progresión de la infección pulpar, los microorganismos, sus productos y los subproductos, que estuvieron inicialmente en el lumen del sistema de conducto radicular invaden éste. Esto puede favorecer a una reabsorción ósea y lesión periapical, así como a una infección extrarradicular, como lo reportado por Trostad et al.<sup>41</sup> en dientes con lesiones persistentes. La superficie externa del ápice radicular de dientes con necrosis pulpar con lesión periapical radiográficamente visible tiene áreas de resorción de cemento y dentina que pueden retener y ser colonizadas por microorganismos. (Fig.24)

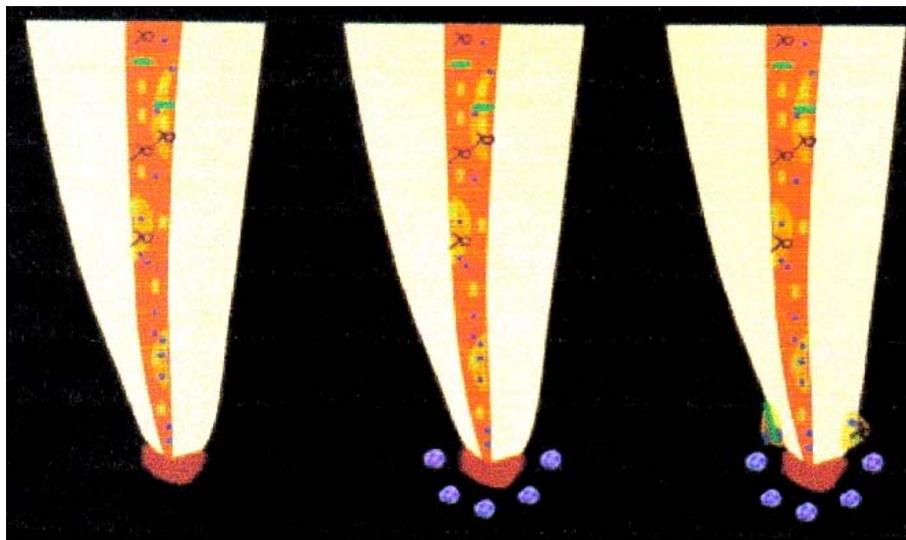


Fig.24 Progresión de la infección pulpar.

Los lipopolisacáridos y enzimas bacterianas son responsables por reacciones que aumentan la infección, promoviendo la inhibición de la quimiotaxia de neutrófilos y fagocitos, garantizando la migración de enzimas lisosómicas. Participan en la respuesta inmunológica por activación del sistema de complemento, inducen la producción de anticuerpos, además de interferir en la sensibilidad antibiótica, dando como resultado la permanencia de lesiones periapicales dolorosas.

Microorganismos Gramnegativos tienen distintos factores de virulencia y forman productos y subproductos que son tóxicos para los tejidos apicales y periapicales. También contienen endotoxina en su pared celular.

La endotoxina o lipopolisacárido (LPS), presente en todas las bacterias Gramnegativas, está compuesta por polisacáridos (azúcares polimerizados), lípidos (complejos que contienen ácidos grasos) y proteínas. El lípido A es la región de la molécula de la endotoxina responsable de sus efectos tóxicos.

En el sistema de conductos radiculares infectados, la endotoxina puede contribuir a una mayor liberación de sustancias vasoactivas de neurotransmisores en la región de las terminaciones nerviosas en los tejidos periapicales, causando dolor. (Fig. 25)

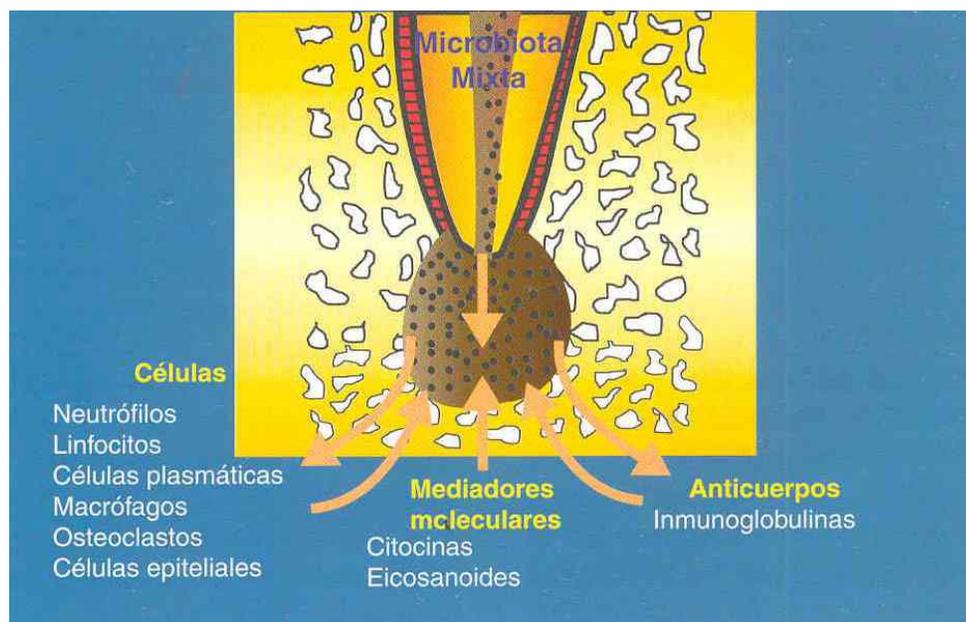


Fig. 25 Respuesta del huésped ante la inflamación.



El LPS estimula infiltrados de células mononucleares, produciendo mediadores moleculares, entre ellos las citocinas y prostaglandinas. Entre las citocinas se destacan las interleucinas  $1\beta$  y  $1\alpha$  (IL- $1\beta$  e IL-  $1\alpha$ ), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) producidos por macrófagos activados, y el factor de necrosis tumoral beta (TNF $\beta$ ), el cual es liberado por las células T activadas. Esos mediadores son activadores de osteoclastos; de esta manera, participan en la reabsorción ósea y manifestación expresiva en el desarrollo de la lesión periapical. <sup>42</sup> (Cuadro 1)

LIPOPOLISACÁRIDO	CITOCINAS
	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ Interleucina 1 <math>\alpha</math></li><li>▶ Interleucina 1 <math>\beta</math></li><li>▶ Factor de Necrosis Tumoral <math>\alpha</math></li><li>▶ Factor de migración de macrófagos</li><li>▶ Factor de activación de los osteoclastos</li><li>▶ Productos metabólicos del ácido aracdónico</li><li>▶ Prostaglandina E 2</li></ul>

**Cuadro 1. Factores de agregación bacteriana.**

En general, los principales factores etiológicos de las patologías periapicales crónicas y refractarias son bacterias, sus productos metabólicos y detritos de tejido pulpar infectado que permanecen en los conductos laterales, en los túbulos dentinarios y en materiales de obturación endodóncica.



Sunde P. et al. señalan que las especies de *Actinomyces* tienen un papel importante en el desarrollo de los gránulos de azufre (Fig. 20) en los granulomas periapicales, siendo unas bacterias pioneras para la posterior adhesión y establecimiento de otras bacterias en ese sitio, para formar biopelículas en forma de gránulos en los tejidos.<sup>43</sup> (Fig. 26)

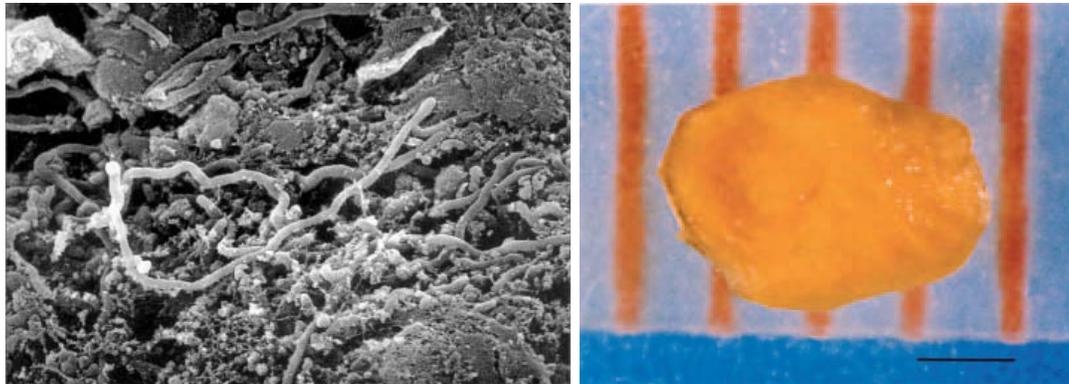
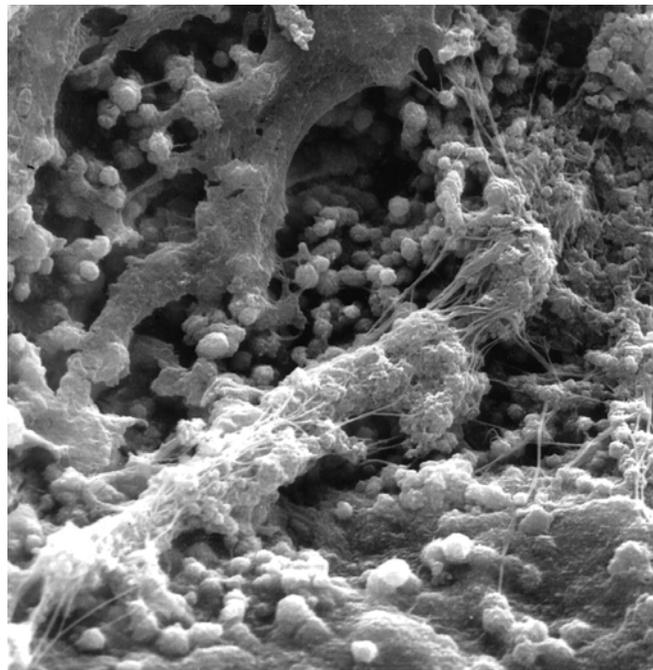


Fig 26. Gránulo de azufre

Estudios realizados por Leonardo muestran que no existen microorganismos en la porción apical externa de la raíz de dientes sanos y en dientes con necrosis pulpar sin lesión periapical radiográficamente visible, donde el foramen apical y el cemento estuvieron intactos con grupos de fibras entrelazadas e insertadas de colágeno. Todos los dientes con necrosis pulpar con lesión periapical crónica radiográficamente visible presentaron microorganismos en las áreas de resorción de cemento y adyacente al foramen apical.<sup>44</sup>



Así como la presencia de cocos, bacilos y estructuras filamentosas, solos o en asociación, mostrando la heterogeneidad de colonización microbiana en infecciones endodóncicas a largo plazo, como también lo reportado por Sundqvist <sup>45</sup>, Lomcali et al. <sup>46</sup> y Trostand et al. <sup>47</sup> (Fig.27)



**Fig. 27** Presencia de cocos en la superficie externa radicular.

Se ha atribuido el fracaso del tratamiento endodóncico a la presencia de biofilm extrarradicular, ya que los microorganismos rodeados por una matriz extracelular o en la lesión periapical, son protegidos de las defensas del huésped y de la terapia antibiótica.



## **6. ELIMINACIÓN DEL BIOFILM DEL SISTEMA DE CONDUCTO RADICULAR**

El objetivo principal de la terapia endodóncica es la desinfección, limpieza y conformación del sistema de conducto radicular mediante el empleo de una técnica de preparación biomecánica (Crown-Down) que evite mandar restos necróticos a los tejidos periapicales.

La reducción de la cantidad de microorganismos o de sus productos tóxicos se alcanza con el uso simultáneo y cuidadoso de soluciones irrigadoras e instrumentación del sistema de conducto radicular.<sup>48</sup>

Por medio de la preparación químico-mecánica, se reduce la cantidad de bacterias existentes en el sistema del conducto radicular, por el acto mecánico de la instrumentación, la acción antibacteriana de la sustancia utilizada. También facilita la acción conformadora de los instrumentos endodóncicos, para mantener las paredes hidratadas y ejercer una acción lubricante. Sin embargo estudios citados por Gonçalves J.<sup>49</sup> afirman que es importante destacar que ninguna técnica de instrumentación disponible es capaz de remover toda la dentina infectada del conducto radicular; consecuentemente es probable que algunos microorganismos permanezcan en los túbulos dentinarios y otras variantes anatómicas después de la instrumentación.



El uso de ultrasonido ha sido propuesto como posible solución al problema de debridamiento y desinfección del sistema de conductos radiculares, ya que después de la completa instrumentación manual o rotatoria ha mostrado reducir el número de bacterias.<sup>50</sup> (Fig.28)



**Fig.28 Ultrasonido.**

La acción de las limas y de las soluciones irrigadoras tienen solo un efecto parcial y temporal sobre los microorganismos limitados al sistema del conducto radicular principal.<sup>51</sup>

Se han propuesto soluciones como hipoclorito de sodio, EDTA, Clorhexidina, MTAD, para la utilización durante el tratamiento endodóncico.



## 6.1 HIPOCLORITO DE SODIO

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es un compuesto halogenado, eficaz contra la microbiota del conducto radicular, incluyendo aquellos microorganismos difíciles de erradicar, como las especies *Actinomyces* y *Candida*.<sup>52</sup>

Las soluciones de NaOCl se usan a concentraciones variables entre el 0.5 y el 5.25%. El NaOCl disuelve tejido orgánico (tejido pulpar y colágeno). Tiene un pH alcalino (12-13).

El Hipoclorito presenta algunas desventajas, es tóxico, no activo para *Enterococos feacalis*, no permanece en el sistema del conducto radicular, es inefectivo para remover la limalla dentinaria, es corrosivo, irritante e inestable. (Fig.29)

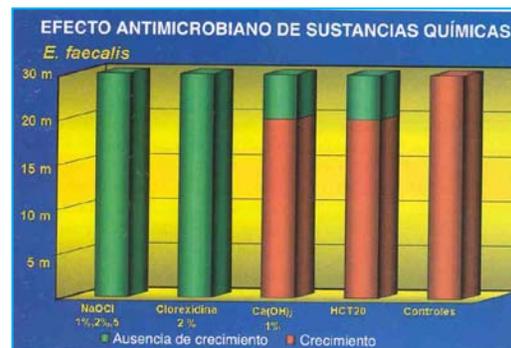


Fig. 29 Efecto antimicrobiano de sustancias químicas.<sup>4</sup>



El ácido hipocloroso (HOCl) y los iones hipoclorito (OCl<sup>-</sup>) presentan acción de hidrolizar y degradar aminoácidos. (Fig.30)



Fig. 30 Reacción de neutralización de aminoácidos.<sup>4</sup>

La reacción de Cloraminación entre el cloro y el grupo amino (NH<sub>2</sub>) de los aminoácidos, con la formación de la cloraminas, interfieren en el metabolismo celular. (Fig.31)

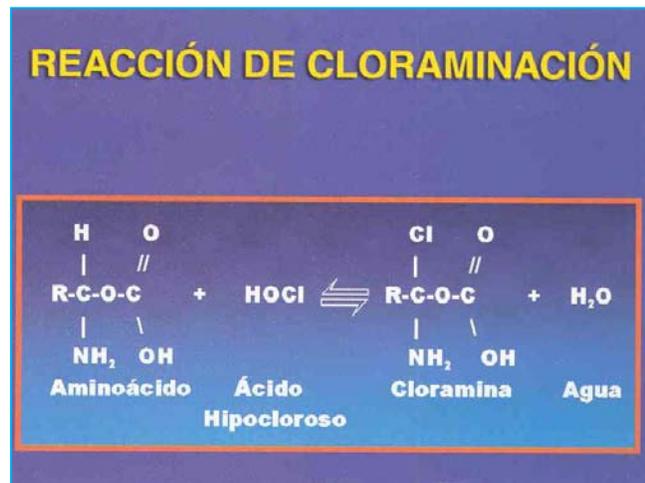


Fig. 31 Reacción de Cloraminación.



El elevado pH del hipoclorito de sodio interfiere en la integridad de la membrana citoplásmica, promueve alteraciones biosintéticas, con inhibición enzimática irreversible (acción oxidante).

Con la formación de cloraminas ocurre interferencia en el metabolismo celular, con oxidación irreversible del grupo sulfhidrilo (SH) de enzimas bacterianas.

En la actualidad, la solución endodóncica con mejor efecto proteolítico es la de NaOCl, a pesar de que no cumple con todos los requisitos del irrigante ideal. La solución al 1 % es efectiva para disolver tejido y proporcionar un efecto antimicrobiano. (Fig.32)



**Fig.32 Irrigación con hipoclorito de sodio.**

Se realizó un estudio aumentando la temperatura del hipoclorito de sodio. Éste mostró un aumento en su acción antibacteriana. Una solución de NaOCl al 0,5% calentada a 45°C disolvió el tejido pulpar con la misma eficacia que la solución al 5,25% usada como control positivo. El calentamiento a 60°C condujo a la disolución casi completa del tejido. Los estudios demuestran que 1 minuto a 47°C es el límite en el que los osteoblastos todavía pueden sobrevivir; sin embargo, las temperaturas más altas pueden ser suficientes para destruir a estos y otras células del huésped.



Además, el calentamiento del NaOCl a 50°C o a 60°C aumenta la disolución de colágeno y la capacidad de desinfección, pero también puede ocasionar daños importantes en los instrumentos convencionales y de NiTi, causando corrosión de la superficie metálica. (Fig.33)



**Fig.33 Horno calentador de hipoclorito**

Cerca del 40 a 60% de los conductos aún contienen bacterias cultivables después de la preparación químico-mecánica con diferentes concentraciones de NaOCl. Esto es debido a que los instrumentos tienen un diseño y una rigidez que les permite actuar solo en el conducto principal, ya que el NaOCl permanece en el conducto por un periodo corto de tiempo, lo cual podría ser insuficiente para alcanzar otras áreas, incluyendo irregularidades, istmos, deltas apicales.<sup>52</sup>

El NaOCl activado ultrasónicamente por un minuto mejoró significativamente los valores totales de limpieza de los conductos. La alta energía generada por la unidad de ultrasonido, y el uso del hipoclorito de sodio resultó en conductos estadísticamente más limpios. El uso de una aguja de irrigación ultrasónica permite la continua deposición y renovación de la solución irrigante dentro del conducto, lo que difiere de estudios previos donde el irrigante es llevado solamente hacia la cavidad de apertura coronal.<sup>53</sup>



## 6.2 CLORHEXIDINA

Otra solución utilizada como irrigante y/o medicamento entre sesiones en la terapéutica endodóncica es la clorhexidina, la cual es un antimicrobiano de amplio espectro efectivo contra bacterias Gramnegativas y Grampositivas. Es un agente catiónico (grupo biguanida; 4-clorofenil radical). Su naturaleza catiónica promueve la conexión con el grupo amoniaco en la superficie bacteriana (grupos fosfatos del ácido teicoico en las bacterias Grampositivas y lipopolisacáridos en bacterias Gramnegativas), siendo capaz de alterar su integridad. La alteración de la permeabilidad de la membrana citoplasmática causa precipitación de proteínas citoplasmáticas por alterar el balance osmótico de la célula, interferir en el metabolismo, crecimiento, división celular, inhibir la enzima ATPasa e inhibir el proceso anaerobio.<sup>54</sup> (Fig. 34)

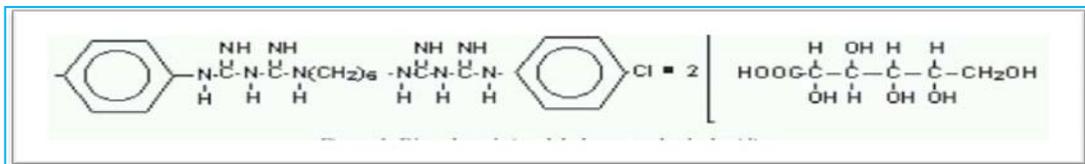


Fig 34 Composición de la Clorhexidina.



Entre sus principales propiedades y para su aplicación en Endodoncia se destacan las siguientes:

- 1) Efecto bactericida y bacteriostático.
- 2) Actividad antimicrobiana de amplio espectro.
- 3) Sustantividad (capacidad microbiana a largo plazo).

Su efecto bactericida se refiere a que en altas concentraciones la clorhexidina induce la precipitación o coagulación del citoplasma celular. La actividad antimicrobiana de la clorhexidina se debe a que es absorbida por la pared celular causando ruptura y pérdida de los componentes celulares. (Fig. 35)



**Fig. 35 Clorhexidina**

En bajas concentraciones, sustancias de bajo peso molecular, como el potasio y el fósforo pueden disgregarse ejerciendo un efecto bacteriostático, el cual ocurre debido a la lenta liberación de la clorhexidina.



La clorhexidina posee actividad antimicrobiana de amplio espectro debido a que es activa contra un amplio rango de organismos Grampositivos, Gramnegativos, levaduras, hongos, microorganismos anaerobios facultativos y aerobios. (Fig. 36)



**Fig. 36 Clorhexidina.**

La sustentividad se debe a que el gluconato de clorhexidina es adsorbido por la hidroxiapatita de la superficie dental y las proteínas salivales y es subsecuentemente liberado cuando disminuye la cantidad del mismo en el medio bucal.

La clorhexidina no posee poder de disolución de materia orgánica como el hipoclorito de sodio, pero su actividad antimicrobiana permanece durante varias horas después de la instrumentación.

Se han realizado varios estudios sobre el poder antimicrobiano de la clorhexidina.



Delany et al. sostienen que la solución de clorhexidina al 0,2% es un agente antimicrobiano efectivo cuando es utilizada como solución irrigante de los conductos radiculares debido a que reduce drásticamente la flora bacteriana dentro del conducto radicular después de la instrumentación. Hubo total eliminación de microorganismos cultivables en un 70% de los dientes unirradiculares y en un 80% de los multirradiculares al dejar la clorhexidina dentro del conducto radicular luego de la instrumentación.<sup>55</sup>

En un estudio in vitro realizado por Leonardo et al, la solución de gluconato de clorhexidina al 2.0% ejerció su actividad antimicrobiana sobre microorganismos que han sido asociados a casos de infecciones endodóncicas persistentes o resistentes al tratamiento, como el *Estafilococos aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Estafilococos epidermidis*, *Enterococos faecalis* y *Cándida albicans*. El *Enterococo faecalis* es el microorganismo más comúnmente aislado en los conductos infectados.<sup>56</sup>

White et al. revelaron que la clorhexidina se continúa liberando entre 48 y 72 horas después de la instrumentación.<sup>57</sup>

### 6.3 EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es una sustancia quelante descalcificadora usada en forma de gel o de solución al 17% durante la instrumentación de los conductos radiculares. Permite crear un complejo de calcio estable con el barrillo dentinario, la capa de detritos y depósitos cálcicos a lo largo de las paredes de los conductos, ayudando a prevenir un bloqueo apical y contribuir a la desinfección, al mejorar la difusión de soluciones. Abre los túbulos dentinarios para permitir una mejor penetración de los desinfectantes.<sup>58</sup> (Fig 37)

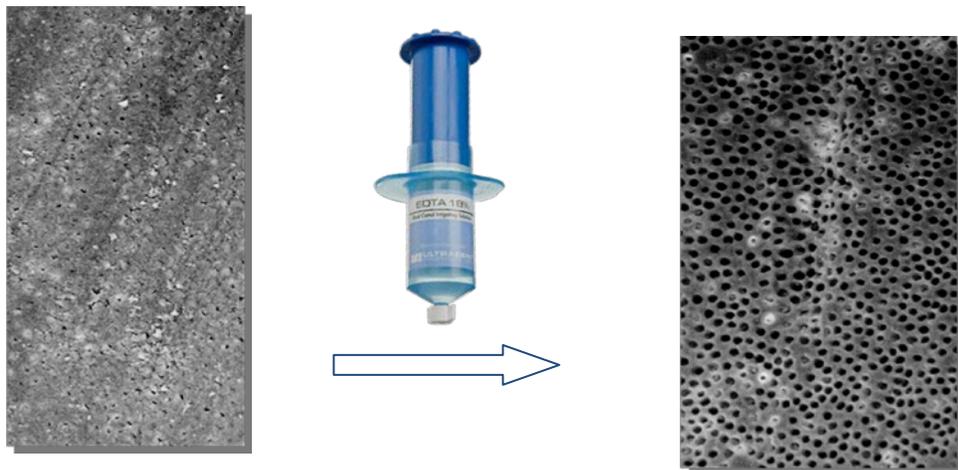


Fig.37 Acción del EDTA en los túbulos dentinarios.



## 6.4 MTAD

El MTAD es una solución de irrigación lanzada recientemente que contiene doxiciclina, ácido cítrico y un detergente tensoactivo (TWEN 80). Los experimentos realizados in Vitro indican que el MTAD tiene la capacidad para eliminar la capa de barrillo dentinario, pero todavía no se han demostrado los beneficios clínicos.<sup>59</sup> (Fig. 38)



Fig. 38 MTAD

Se ha reportado la combinación de diferentes soluciones irrigadoras con la finalidad de sumar los efectos químicos de las soluciones utilizadas.

Byström & Sundqvist investigaron el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 0.5% comparado con la solución fisiológica en 30 dientes humanos con necrosis pulpar. En este experimento se aislaron 169 cepas bacterianas diferentes cuando se utilizó la solución fisiológica y 89 cepas bacterianas distintas cuando se utilizó hipoclorito de sodio al 0.5%. Los autores concluyeron que el hipoclorito de sodio al 0.5% fue más efectivo para la irrigación de conductos radiculares que la solución fisiológica.<sup>60</sup>



Byström & Sundqvist también analizaron la eficacia antimicrobiana del hipoclorito de sodio al 0,5% , al 5%, y el hipoclorito de sodio al 5% asociado al EDTA. Se utilizaron 60 dientes humanos con necrosis pulpar, los cuales fueron divididos en tres grupos. Los dientes fueron instrumentados con el uso de las soluciones y, en seguida, posteriormente al secado del conducto radicular fueron sellados provisionalmente. Con las muestras analizadas se pudo concluir que el uso de hipoclorito de sodio asociado al EDTA presentó mejores resultados, debido a que se retiró la limalla dentinaria de las paredes del conducto radicular.<sup>61</sup>

Un factor importante es el volumen del irrigante. En un estudio se evaluó el efecto de cantidades diferentes de líquidos, se observó que el volumen de irrigante afectaba a la limpieza del conducto radicular. El NaOCl y el EDTA administrados en volúmenes mayores produjeron superficies significativamente más limpias del conducto radicular que los volúmenes menores. Otra factor que hay que tomar en cuenta es que la mayoría de las soluciones desinfectantes son inhibidas o incluso inactivadas por el contacto con dentina o polvo de dentina durante la preparación del conducto radicular. Además, se producen interacciones químicas entre las soluciones de irrigación; por ejemplo, el NaOCl puede inactivarse si entra en contacto con EDTA.<sup>62</sup>

Una combinación de hipoclorito de sodio y clorhexidina se ha propuesto para mejorar sus propiedades antimicrobianas (Fig. 39). Sin embargo, en un estudio realizado por Basrani<sup>63</sup> se observó que la combinación de estas dos sustancias resulta en la formación de para-cloroanilina (PCA), un precipitado que se forma cuando ocurre una sustitución del grupo de guanidina en la molécula de clorhexidina, ya que al ser mezclada con hipoclorito, sus moléculas se hidrolizan en pequeños fragmentos, cada uno forma un producto. (Fig.39)

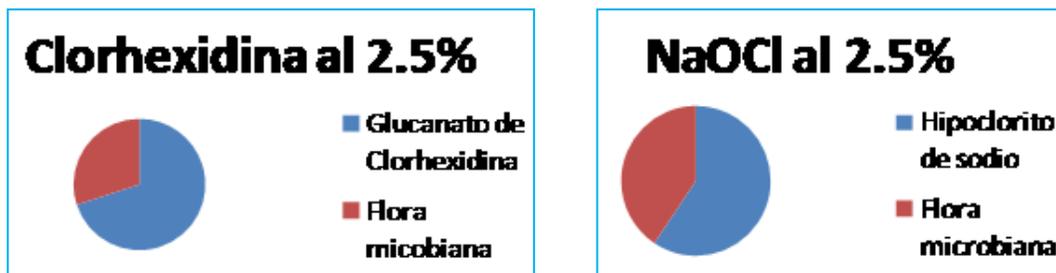


Fig. 39 Efecto de la Clorhexidina y el Hipoclorito de Sodio sobre a flora microbiana.

Los estudios han reportado que la para-cloroanilina es tóxica. Al ser una amina aromática el principal efecto toxicológico es la formación de metahemoglobina. La exposición a corto plazo de PCA en humanos resulta en cianosis la cual es una manifestación por la formación de metahemoglobina.

Estudios en ratas muestran que el sistema hematopoyético es el objetivo y el sitio de predilección atacado por la PCA.

En 1991 reportaron que la PCA es carcinogénica debido al incremento de sarcomas en el bazo.

En ratones machos hubo un aumento en el caso de carcinoma hepatocelular y hemangiosarcomas del bazo.



Estos estudios sugieren que la clorhexidina tiene efectos tóxicos sobre las células humanas y tejido de granulación. Concentraciones de clorhexidina inferiores a las utilizadas en odontología han reportado causar daño celular, muerte celular y la inhibición de la síntesis de proteínas en cultivos de fibroblastos humanos.

Debido a estas investigaciones realizadas, es importante reducir al mínimo la formación de este compuesto.

## 6.5 PROTOCOLO DE IRRIGACIÓN

1. Hipoclorito de Sodio al 3%. (Fig.40)
2. Neutralizar con agua bidestilada o suero fisiológico.
3. EDTA al 17%.
4. Neutralizar con agua bidestilada o suero fisiológico.
5. Colocar apósito de hidróxido de calcio entre citas.

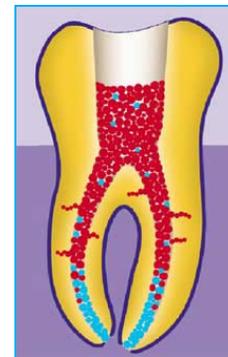


Fig. 40 Irrigación.

## 6.6 MEDICACIÓN INTRACONDUCTO.

La medicación intraconducto se caracteriza por la colocación de un fármaco en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóncico.



La medicación intraconducto será un auxiliar en la desinfección del sistema de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación, como las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios <sup>64</sup>.

### 6.6.1 Hidróxido de calcio

El hidróxido de calcio  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  representa un auxiliar en la terapéutica endodóncica, se utiliza en diversas situaciones clínicas por su poder antiséptico y su propiedad de estimular o crear condiciones favorables para la reparación. (Fig.41)



Fig. 41 Hidróxido de calcio

Fue introducido en Endodoncia por B. W. Herman en 1920. El hidróxido de calcio es un polvo blanco alcalino, poco soluble en agua. Se utiliza normalmente a temperatura corporal, menos del 0.2% se disocia en iones de calcio e hidroxilo. (Fig. 42)



Para usarlo como medicación intraconducto entre sesiones, el hidróxido de calcio se mezcla con un vehículo, preferentemente acuoso o hidrofílico (agua estéril, solución fisiológica, propilenglicol, polietilenglicol, entre otros), para conformar una suspensión con pH aproximado de 12.4. Aunque existen los vehículos antes mencionados para mezclarlos con el polvo, la presencia de agua es fundamental para que se produzca la disociación iónica.

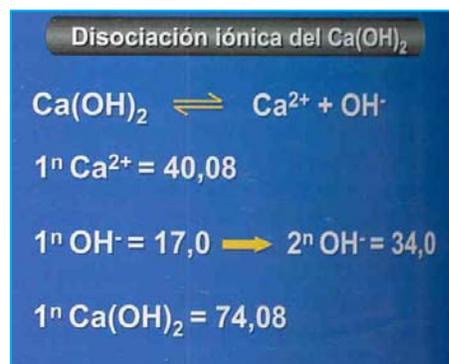


Fig. 42 Disociación del Hidróxido de calcio.

En una suspensión acuosa, a 15°C de temperatura, la disociación de apenas 0.17% del hidróxido de calcio es suficiente para producir el pH elevado de 12.4. Así, en una pasta de éste fármaco habrá abundante disponibilidad de iones calcio e hidroxilo, capaces de sustentar su acción por períodos prolongados.

En el tratamiento de dientes con necrosis pulpar, la indicación para el uso de hidróxido de calcio como medicación temporal entre sesiones se funda en su acción antiséptica reconocida.

Al colocarlo en el interior del conducto y en presencia de agua se produce la ionización del hidróxido de calcio y por consiguiente, la alcalinización del medio.



Al llegar al interior de los túbulos dentinarios, los iones hidroxilo modifican el pH de la dentina, lo que provoca la destrucción de la membrana celular de las bacterias y de sus estructuras proteicas. La alteración del pH de la masa dentinaria torna inadecuado el medio para la supervivencia de la mayoría de los microorganismos de la flora endodóncica.

El hidróxido de calcio actúa sobre las endotoxinas bacterianas; hidroliza la porción lipídica del lipopolisacárido (LPS), presente en la pared celular de las bacterias Gramnegativas, y neutraliza su acción estimulante sobre el proceso de reabsorción del tejido óseo. Su acción en el proceso de reparación de esos tejidos se relacionará con su capacidad para eliminar los microorganismos y crear un ambiente con condiciones propicias para la reparación, lo que no ocurre en presencia de contaminación.<sup>65</sup>



## 7. IMPORTANCIA DE LA BIOLOGÍA MOLECULAR.

En Endodoncia, los conceptos predominantes son todavía en gran medida basados en los resultados de los estudios de cultivo clásico. Sin embargo, se han empezado a utilizar métodos moleculares, y una nueva comprensión de las infecciones endodóncicas está actualmente en evolución.

Los fundamentos de los métodos moleculares que se han aplicado a la Microbiología oral son los siguientes: sondas de ADN (técnicas de hibridación ADN-ADN), PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), PCR múltiple, detección de ARNr 16S, proteómica.y genómica.<sup>66</sup>

La primer técnica de biología molecular que se utilizó fue la sonda de ácidos nucleicos, Con ella se detecta si en un microorganismo aislado o muestra clínica existe un trozo o fragmento (exclusivo de una especie microbiana) de ADN o ARN denominado diana. La detección se realiza mediante unión entre el trozo del ácido nucleico del microorganismo a detectar (diana) y un oligonucleótido sintético (cadena de ADN de varios nucleótidos) con una secuencia de bases complementaria a la diana. Se denomina sonda al oligonucleótido complementario de la diana. Para saber si existe un determinado microorganismo en una muestra de un paciente, se coloca ésta en contacto con la sonda y de existir ese microorganismo se producirá la unión entre la sonda y la diana.

La PCR permite obtener múltiples copias de una secuencia diana de ADN mediante un proceso de amplificación.



Las PCR múltiples son reacciones que consiguen detectar de forma simultánea y en un único tubo diferentes secuencias diana, permitiendo la detección e identificación simultánea de distintos genes de una misma bacteria o de diferentes especies en una sola muestra clínica.

El ARN ribosómico o ribosomal 16S es la macromolécula más ampliamente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacterianas para establecer las relaciones filogenéticas dentro del mundo procariota.

La genómica proporciona la secuencia en un ADN, los elementos reguladores y la expresión de un gen.

La proteómica fue acuñada por Marc Wilkins para describir a todas las proteínas expresadas por un genoma.

El proteoma es el que más se utiliza en el estudio comparativo de dichas proteínas en diferentes condiciones fisiológicas, lo que ofrece una visión de los cambios fenotípicos que sufre un microorganismo en función de las circunstancias que los rodean.



Así, la infección del conducto radicular es claramente más compleja de lo revelado sólo por los métodos de cultivo (Cuadro 2), y microorganismos no identificados previamente y sin cultivar, han sido detectadas por métodos moleculares. Una estimación razonable en la actualidad es que el canal radicular infectado contiene no menos de 10, sino más bien entre 10 y 50 especies de bacterias, que coinciden además con el número de especies de bacterias que normalmente se encuentran en una muestra de placa dental y en diferentes lugares de la cavidad oral .<sup>67</sup>

Anaerobios		Aero-Micro-Facultativos**	
Cocos Gram +	<i>Peptostreptococcus</i>	Cocos Gram +	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i>
Bacilos Gram +	<i>Actinomyces</i> <i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium</i>	Bacilos Gram +	<i>Actinomyces</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Corynebacterium</i>
Cocos Gram –	<i>Veillonella</i>	Cocos Gram –	<i>Neisseria</i>
Bacilos Gram –	<i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Selenomonas</i> <i>Campylobacter</i>	Bacilos Gram –	<i>Capnocytophaga</i> <i>Eikenella</i>
Espiroquetas	<i>Treponema</i>	Levedura	<i>Candida</i>

**Cuadro 2 Microorganismos de importancia en las infecciones endodóncicas.**

Un hallazgo interesante también en los estudios con técnicas moleculares es que la microbiota de los conductos radiculares infectados parece ser muy similar a la flora de la bolsa periodontal en pacientes con enfermedad periodontal activa.



Así, por medio de técnicas moleculares, fueron identificadas por primera vez dentro de los canales radiculares infectados, o se detectaron en mayor número, las siguientes bacterias: *Prevotella tannerae*, *Actinomyces radicidentis*, especies de *Olsenella*, *Dialister pneumosintes*, *Maltophilum Treponema*, *T. amylovorum*, *T. medio* y *T. lecithinolyticum*.

La mayoría de las especies se consideran comensales, un pequeño grupo de ellas se comporta como patógenos oportunistas en la propia cavidad oral, otras pueden causar infecciones sistémicas como endocarditis, neumonía por aspiración, osteomielitis en niños y, finalmente, algunas también podrían estar implicadas en la patogenia de la obstrucción coronaria y la trombosis cerebral a través de su contribución a la formación de placas de ateroma.

Actualmente, y gracias a técnicas de biología molecular, empezamos a conocer a través de estudios sistemáticos parte de esa flora oral hasta ahora desconocida.



## CONCLUSIONES:

1. El biofilm es el principal agente etiológico de las enfermedades pulpares y periapicales. Su componente principal es el exopolisacárido.
2. Los exopolisacáridos son producidos por las mismas bacterias y pueden actuar como fuentes de nutrientes para estas, inhibir funciones y permitir el desarrollo bacteriano.
3. El biofilm cuenta con mecanismos de comunicación interbacteriana (quórum sensing), mecanismos de coagregación entre célula y célula (que le ayuda a mejorar sus redes de alimentación).
4. El trayecto más frecuente de invasión por un biofilm en el sistema del conducto radicular y en los tejidos periapicales es la vía coronaria (caries dental).
5. Cuando el biofilm infecta el sistema del conducto radicular presenta el potencial de estimular la inflamación periapical.
6. El LPS tiene la propiedad de activar mediadores de la inflamación como las interleucinas IL-1, IL-6, IL-8, factor de activación de macrófagos, factor de atracción de osteoclastos, factor de necrosis tumoral (TNF).



7. Estos mediadores de la inflamación pueden participar en la reabsorción ósea y en el desarrollo de la lesión periapical.
8. El conocimiento del biofilm nos permite conocer que no estamos ante una bacteria, sino ante comunidades bacterianas bien organizadas que requieren de un adecuado diagnóstico, preparación, limpieza y conformación del sistema del conducto radicular para lograr mejores técnicas de eliminación.
9. Y con esto evitar daño hacia los tejidos periapicales, ya que el biofilm es capaz de inhibir funciones importantes como quimiotaxis, fagocitosis y penetración de antibióticos.
10. Durante los últimos años la biología molecular se ha orientado a identificar los genes y enzimas responsables de la transición célula planctónica biofilm con el objetivo de poder degradar la matriz de exopolisacáridos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Costerton, J. W., K.-J. Cheng, G. G. Geesey, T. I. Ladd, J. C. Nickel, M. Dasgupta, and T. J. Marrie. *Bacterial biofilms in nature and disease*. Annu. Rev. Microbiol..41:435–464. 1987
2. Costerton, J. W., and H. M. Lappin-Scott. *Introduction to microbial biofilms*,. In H. M. Lappin-Scott and J. W. Costerton (ed.), *Microbial biofilms*. 1995 Pp. 1–11. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
3. Costerton, J,W., Donlan R. *Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms*. CLIN. MICROBIOL. REV. Apr. 2002. Vol. 15, No. 2 Pp. 167–193.
4. Estrela. *Ciencia Endodóntica*, 1ª ed. Brasil. Editorial Artes Médicas, 2005.
5. Negroni M. *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2ª ed. Editorial Medica Panamericana, 2003. Pp. 13-17.
6. Estrela. *Ciencia Endodóntica*, 1ª ed. Brasil. Editorial Artes Médicas, 2005.p 152-153.
7. Liébana Ureña J. *Microbiología Oral*, 2ª ed. España. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana,2002, Pp 27-33.
8. Watson JD, Crick FHC. *The structure of DNA*. Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol. 18: 123-131. 1953.
9. Estrela. *Ciencia Endodóntica*, 1ª ed. Brasil. Editorial Artes Médicas, 2005.



10. Negroni M. *Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica*. 2ª ed. Editorial Medica Panamericana, 2003. Pp. 13-17.
11. Liébana Ureña J. *Microbiología Oral*, 2ª ed. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, 2002, España Pp. 27-33.
12. <http://www.enotes.com/microbiology-encyclopedia/plankton-planktonic-bacteria>
13. Lasa I. *Biofilms bacterianos*. Actualidad SEM. 37:14-18 Macnabb y Tomasi, *Host defense mechanisms at mucosal surfaces*. Annual Review of Microbiology. 35: 477-496. 1981.
14. Gibbons, Van Houte, *Bacterial adherence in oral Microbial Ecology*. Annual Review of Microbiology. 29: 19-44. 1975.
15. Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 5ª ed. Editorial Médica Panamericana; 2008.
16. Lasa, J. L. del Pozo, J. R. Penadés, J. Leiva. *Biofilms bacterianos e infección Bacterial biofilms and infection*. Anales del sistema sanitario de Navarra, ISSN 1137-6627, Vol. 28, Nº. 2, 2005 , Pp. 163-176 .
17. Rolph H. J. Lennon A, Riggio M.P, Saunders W.P., Mackenzie D., Coldero L., Bagg J. *Molecular Identification of Microorganisms from Endodontic Infections*. J of Clinical Microbiology, September 2001, Pp. 3282-3289, Vol. 39, No. 9.
18. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. *Microbial biofilms*. Annu Rev Microbiol 1995; 49: 711-745.
19. Davey ME, O'Toole GA. *Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics*. Microbiol Mol Biol Rev 2000; 64: 847-867.
20. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. *Biofilms as complex differentiated communities*. Annu Rev Microbiol 2002; 56: 187-209.



21. Herrera M. *Biofilm, infección, Resistencia y tratamiento*.
22. Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 5ª ed. Editorial Médica Panamericana; 2008.
23. Goncalves J. *Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodónticas*. Consultado en: [www.carlosboveda.com](http://www.carlosboveda.com); 2007 Junio.
24. Lindhe J. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 5ª ed. Editorial Médica Panamericana; 2008.
25. Walden, W.C. & Hentges, D.C. *Differential effects of oxygen and oxidation-reduction potential on the multiplication of three species of anaerobic intestinal bacteria*. *Applied Microbiology* 30, 781-785.
26. Lasa, J. L. del Pozo, J. R. Penadés, J. Leiva. *Biofilms bacterianos e infección Bacterial biofilms and infection*. *Anales del sistema sanitario de Navarra*, ISSN 1137-6627, Vol. 28, Nº. 2, 2005 , Pp. 163-176.
27. Goncalves J. *Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodónticas*. Consultado en: [www.carlosboveda.com](http://www.carlosboveda.com); 2007 Junio.
28. Colón-González M, Membrillo Hernández J. Comunicación entre bacterias  
en: [http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO\\_04/Capitulo04.pdf](http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_04/Capitulo04.pdf).
29. Trostand L, Sunde P. *The evolving new understanding endodontic infections*. *Endodontic Topics*, 2003, 6: 57–77.



30. Marsh, P.D. *Physiological approaches to the control of oral biofilm*. Adv Dent Res 11: 176-85 1997.
31. Costerton, J.W. *Biofilm the customized microniche* J Bacteriology.
32. Socransky, S.S. Haffajee, A. D. *Biofilm dentales objetivos terapéuticos difíciles*. Periodont 8: 12-55. 2000,2003.
33. George S. Kishen A. Song K.P. *The Role of Environmental Changes on Monospecies Biofilm Formation on Root Canal wall by Enterococcus faecalis*. JOE. Vol. 31, No.12 Pp.867-872. December 2005.
34. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzegard RJ, *The effects of surgical exposures of dental pulp in germ-free and conventional laboratory rats*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1965; 20:340-349.
35. Möller AJR, Fabricus L, Dahlén G, Öhman AE, Heyden G. *Influence on periapical tissues of indigeneous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys*. Scand J Dent Res 1981; 89: 475-484.
36. Estrela. *Ciencia Endodóntica*, 1ª ed. Brasil. Editorial Artes Médicas, 2005
37. Leonardo MR, Rossi M, Silva L., Ito I, Kleber B. *EM Evaluation of Bacterial Biofilm and Microorganisms on the Apical External Root Surface of Human Teeth*. J Endod. 2002. December; 28 (12):815-818.
38. Viviani MJ. *Patología Periapical. Estructura del Biofilm*. Consultado en: [http:// Electronic Journal of Endodontics Rosario/año 07/Volumen01/Abr.2008](http://ElectronicJournalofEndodonticsRosario/año07/Volumen01/Abr.2008).
39. Leonardo MR, Ased R, Assed S, Nelson-Filho P. *Importance of Bacterial Endotoxin (LPS) in Endodontics*. J Appl Oral Sci. 2004; 12 (2): 93-8.



40. Estrela C. *Diagnóstico y Tratamiento de la Periodontitis Apical*. Ciencia Endodóntica, 1a ed. Editorial Artes Médicas Latinoamericanas. 2005; 6: 175-233.
41. Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. *Extraradicular endodontic infections*. Endod Dent Traumatol 1987; 3:86–90.
42. Estrela C. *Diagnóstico y Tratamiento de la Periodontitis Apical*. Ciencia Endodóntica, 1a ed. Editorial Artes Médicas Latinoamericanas. 2005; 6: 175-233.
43. Sunde, P. T., I. Olsen, G. J. Debelian, and L. Tronstad. *Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy*. J. Endodont. 2002 28:304–310.
44. Leonardo MR, Rossi M, Silva L., Ito I, Kleber B. *EM Evaluation of Bacterial Biofilm and Microorganisms on the Apical External Root Surface of Human Teeth*. J Endod. 2002. December; 28 (12):815-818.
45. Sundqvist G. *Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora*. O Surg O Med O Pathol 1994; 78: 522-30.
46. Lomoncali G, Sen BH, C, Ankaya H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. Endod Dent Traumatol 1996;12:70–6.
47. Tronstad L, Kreshtod D, Barnett F. *Microbiological monitoring and results of treatment of extraradicular endodontic infection*. Endod Dent Traumatol 1990;6:129–36.
48. Sundqvist G. *Ecology of the root canal*. J Endodon 1992;18:427–30. Tronstad L, Barnett F, Riso K, Slots J. Extraradicular endodontic infections. Endod Dent Traumatol 1987;3:86–90.
49. Goldberg, F. y Soares IJ. *Endodoncia. Técnica y fundamentos*. Editorial médica Panamericana. 4a Edición; 2002.



50. Gonçalves J. *Relevancia y participación de las biopelículas microbianas en las infecciones endodónticas*. Consultado en: [www.carlosboveda.com](http://www.carlosboveda.com); 2007 Junio.
51. Burlenson A, Nusstein J, Beck M. *The in Vvivo Evaluation of hand/Rotatory/Ultrasound Instrumentation in Necrotic, Human Mandibular Molars*. J Endod. 2007, July; 33 (7): 782-787.
52. Goldberg, F. y Soares IJ. *Endodoncia. Técnica y fundamentos*. Editorial médica Panamericana. 4a Edición; 2002.
53. Cohen, S. *Vías de la pulpa*. 9ª ed. Madrid. Editorial Mosby Elsevier; 2002.
54. Burlenson A, Nusstein J, Beck M. *The in Vvivo Evaluation of hand/Rotatory/Ultrasound Instrumentation in Necrotic, Human Mandibular Molars*. J Endod. 2007, July; 33 (7): 782-787.
55. Cohen, S. *Vías de la pulpa*. 9ª ed. Madrid. Editorial Mosby Elsevier; 2002.
56. Viviani MJ. *Patología Periapical. Estructura del Biofilm*. Consultado en: [http:// Electronic Journal of Endodontics Rosario//año 07//Volumen01//Abr.2008](http://ElectronicJournalofEndodonticsRosario/año07/Volumen01/Abr.2008).
57. Leonardo MR, Filho MT, Silva LAB, Filho N, Bonifacio KC, Ito IY . *In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution*. *Journal of Endodontics*, 25, 167–71.1999.
58. Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *Journal of Medical Microbiology* 44, 79–87.1996.
59. Cohen, S. *Vías de la pulpa*. 9ª ed. Madrid. Editorial Mosby Elsevier; 2002.



60. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Jhonson WB, Bozhilov K, et al: *A new solution for removal of the smear layer*, J Endodon 29: 170:, 2003.
61. Byström A, Sundqvist G. *Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy*. Scand J Dent Res 1981;89:321–8.
62. Byström A, Sundqvist G. *The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy*. Int Endod J 1985;18:35–40.
63. Cohen, S. *Vías de la pulpa*. 9ª ed. Madrid. Editorial Mosby Elsevier; 2002.
64. Basrani B, Manek S, Sodhi R, Filley E, Manzur A. *Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate*. JOE. 2007; Vol. 33 (8): 966-969.
65. Goldberg, F. y Soares IJ. *Endodoncia. Técnica y fundamentos*. Editorial médica Panamericana. 4a Edición; 2002.
66. Cohen, S. *Vías de la pulpa*. 9ª ed. Madrid. Editorial Mosby Elsevier; 2002.
67. Perea E. *La flora de la boca en la era de la biología molecular*. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2004; 9:1-10.
68. Yuichiro Noiri, 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*. JOE. Vol. 28. No. 10. October 2002.