

01421  
315



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES BACTERIANAS EN LA  
PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA**

**T E S I N A**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
CIRUJANA DENTISTA  
P R E S E N T A :**

**DALILA SANTANA GARCÍA.**

**DIRECTOR: C.D. DANIEL QUEZADA RIVERA**

Vo. Bc

A



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.

*Persevera en tu empeño  
Y hallarás lo que buscas,  
persigue tu fin sin desviarte  
y alcanzarás tu empeño,  
Combate... y serás el vencedor.*

*Buda.*



*A mi padre:*

*Como testimonio al profundo agradecimiento  
por el esfuerzo ilimitado que haz realizado  
por mi persona, hasta convertirse en un  
ejemplo a seguir en mi vida.  
El día de hoy te puedo decir con satisfacción  
y orgullo que hemos logrado una de las  
metas que nos fijamos...*

*Gracias.*

*Agradesco al C.D. Daniel Quezada Rivera.,  
Por brindar su ayuda y parte de su tiempo  
para la revisión y dirección de este trabajo.*

*A esa persona especial:*

*Gracias por haber crecido al lado mio  
en todos los aspectos, por estar en todo  
momento y creer siempre en mí, por que  
gracias a ese apoyo y comprensión  
incondicional hoy realizado esta gran meta.*

*Je't aime*

*A mis amigas..*

*Por estar siempre a mi lado y por toda la  
ayuda, tiempo y paciencia, que invirtieron en  
la realización de este trabajo, que también es  
suyo...*

*Muchas gracias...*



## INDÍCE

Introducción.	
1. Clasificación de lesiones periapicales.	1
2. Definición de periodontitis apical crónica.	2
3. Etiología de la periodontitis apical crónica.	2
3.1. Especies bacterianas presentes en la PAC.	4
3.2. Factores nutricionales de las especies bacterianas de la PAC.	12
3.3. Morfología bacteriana.	15
3.4. Genética bacteriana.	17
4. Características clínicas de la PAC.	19
5. Imagenología.	20
6. Histopatología de la PAC.	23
7. Diagnóstico de la PAC.	26
8. Técnicas de identificación de especies bacterianas en la PAC.	27
8.1. Toma de muestras.	27
8.2. Cultivos.	31
8.3. Medios de cultivo selectivos.	34
8.4. Tinción de Gram.	36
8.5. Técnica de hibridación.	38
9. Tratamiento para la periodontitis periapical crónica.	41
10. Comentario.	42
11. Glosario.	44
12. Bibliografía.	46

F

## INTRODUCCIÓN

En la práctica odontológica el cirujano dentista se enfrenta a menudo con lesiones de tipo apical, y a pesar de la frecuencia con que se presentan los problemas periapicales, el tratamiento con antibioticoterapia, para ellos aun no es realizado de manera específica y más aun, muchas veces no se logra la eliminación de la lesión. Sabemos hoy en día que la microbiota de la lesión periapical es mixta, teniendo así bacterias aerobias, anaerobias y facultativas, dependiendo de sus requerimientos de oxígeno, y dependiendo de la respuesta a la tinción bacterias grampositivas y gramnegativas, y que la mayoría de estas especies bacterianas forman parte de la flora bucal, pero que en distintas circunstancias dichas especies bacterianas son introducidas a la zona periapical, de modo que comienzan a actuar como agentes irritantes, ocasionando con el tiempo una respuesta inflamatoria crónica en la zona apical.

El que se trate de una microbiota mixta complica la identificación de muchos de los microorganismos presentes y en nuestros días diversos estudios buscan determinar cada una de las especies presentes en las lesiones de tipo apical, ya que varios de ellos afirman que existen diferentes tipos de especies bacterianas tanto en la Periodontitis Apical Crónica (PAC), como en la Periodontitis Apical Aguda (PAA), y que es el número de las especies bacterianas las que hacen la diferencia entre una y otra. Por ello los métodos de identificación para las especies bacterianas buscan conocer que géneros bacterianos predominan, bajo que circunstancias, determinando sus características y comportamientos como agentes patógenos, de manera aislada, para que posteriormente en un ambiente mixto, pueda ser seleccionado el tratamiento adecuado y si es requerida una antibioticoterapia, de modo que ambos actúen de forma específica atacando al agente causal.

En la siguiente revisión se pretende identificar las especies bacterianas que son aisladas con mayor frecuencia de una Periodontitis Apical Crónica, así como los métodos de identificación de bacterias mas usados en la actualidad

X

que puedan propiciar un ambiente mixto, para el desarrollo de las diferentes especies involucradas en este tipo de lesión. Y que al mismo tiempo nos proporcionen información importante sobre cada una de las especies encontradas, ya que aunque se conocen diferentes tipos de bacterias, así como su mapa genético y la interacción que pueda presentar con otras bacterias o con algunos factores del hospedero.

Dentro de las técnicas de mayor uso encontramos a los cultivos, que son realizados de manera convencional en los laboratorios microbiológicos, pero recientes estudios nos hablan acerca de una técnica en donde es posible identificar a cada una de las especies encontradas en la lesión, esta técnica es de tipo molecular y es llamada ADN-ADN hibridación.

Es importante tomar en cuenta que los métodos de identificación deben ser lo suficientemente rápidos, eficientes, de bajo costo, pero sobre todo que tengan una utilidad clínica, práctico, de modo que el Cirujano Dentista, pueda acceder a este tipo técnicas con mayor facilidad, de esta manera se proporcione un tratamiento adecuado, que este fundamentado, de manera que este tipo de lesiones no reincida.

# 1. CLASIFICACIÓN DE LESIONES PERIAPICALES

Este tipo de lesiones se desarrollan a partir de que la pulpa dental se ha infectado, dando lugar posteriormente a reacciones en los tejidos periapicales. Dichas reacciones implican etapas diferentes, dependiendo de las reacciones tisulares, teniendo así:

Inflamación periapical (periodontitis apical)

Abscesos periapicales

Extensión a hueso

Diseminación piógena

Granuloma

Quiste radicular.<sup>1</sup>

En cuanto a las reacciones inflamatorias periapicales llamadas periodontitis apical, encontramos que: No se presentan como una entidad individual, debido a que hay un intercambio histológico y clínico. Y que se clasifican en:

Periodontitis apical aguda (PAA)

Periodontitis apical crónica (PAC)

Dicha clasificación se ha hecho en base a sus signos y síntomas clínicos y en los datos radiográficos obtenidos.<sup>2</sup>

## **2. DEFINICIÓN DE PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA (PAC).**

La inflamación de los tejidos periapicales se conoce como periodontitis apical y podemos definirla como una reacción inflamatoria del periapice del diente de origen generalmente endodóntico.

En cuanto la definición del término crónico, deriva del griego *chronos*, que significa tiempo, de esta manera describimos una lesión crónica como una lesión prolongada.<sup>2</sup>

Así podemos definir a la PAC como una lesión periapical inflamatoria de larga duración y asintomática. Causada por la infección de la pulpa. Así dicho término designa los signos radiográficos más tempranos de extensión del proceso inflamatorio desde la cavidad pulpar hasta el ligamento periodontal adyacente que rodea al orificio apical.<sup>3</sup>

## **3. ETIOLOGÍA DE LA PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.**

La respuesta a la irritación en la pulpa dental puede variar y no siempre es fácil predecir, ya que dicha respuesta es influenciada por el tiempo transcurrido y el tipo de la lesión (agentes etiológicos).

Cuando la pulpa se infecta da lugar al desarrollo de una lesión inflamatoria en los tejidos periapicales, llamada periodontitis apical, si la inflamación es de larga duración y asintomática, estaremos hablando de una PAC, esta reacción inflamatoria es provocada por los irritantes provenientes del sistema del conducto radicular.<sup>4</sup>

Debido a que en ellos se albergan gran cantidad de microorganismos, si dichos irritantes son de carácter transitorio, el proceso inflamatorio es breve y cederá solo, pero cuando estos se presentan en forma excesiva y de manera constante, las reacciones inmunitarias inespecíficas y

específicas, que actúan a la vez ocasionando la destrucción de los tejidos periapicales.<sup>2</sup>

Las reacciones inespecíficas comprenden a los mediadores de la inflamación, como aminas vasoactivas, cininas, fragmentos del complemento, metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas), que se desencadenan por daños químicos, térmicos o microbiológicos. En cuanto a las reacciones específicas tenemos: la salida continua de antígenos (microorganismos, fármacos e incluso productos autólogos de tejido de un conducto patológico.<sup>1</sup> Pero la irritación del tejido periapical también puede ser de tipo mecánico o eléctrico.<sup>4</sup>

Por lo tanto, la constante salida de los irritantes hacia los tejidos periapicales hace que el tejido de granulación prolifere y reemplace a los tejidos normales.<sup>2</sup> La pulpa dental responde generalmente a la irritación bacteriana con una hiperemia, resultado del aumento del flujo arterial o la disminución del flujo venoso, en esta la pulpa responde a estímulos como calor y frío mediante el dolor, que desaparece si el estímulo se retira, posteriormente la pulpa responde a una irritación severa en aumento con una inflamación.<sup>5</sup> Así que las bacterias son la causa principal de la periodontitis apical.<sup>1</sup>

En la PAC, se habla de una presencia bacteriana de bajo grado y larga duración y se puede decir que la respuesta inflamatoria puede afectar a toda la pulpa o solo a una parte de ella y que puede desarrollarse como resultado del tratamiento inadecuado del conducto radicular y a una variedad de irritantes, entre los que destacan las bacterias.<sup>5</sup> Las bacterias juegan un papel esencial en la iniciación, progresión y persistencia del proceso apical.<sup>6</sup>

Y que dicha inflamación iniciada en la pulpa puede extenderse a los tejidos periapicales, donde se manifiesta como un granuloma -nombre que se le da para clasificarlo en patología bucal-, cuando es de tipo crónico.<sup>7</sup>

José F. Siqueira y sus colaboradores manifiestan en un estudio que la salida de los microorganismos y los productos del sistema del conducto radicular dentro del tejido perirradicular pueden causar daños en los tejidos y precipitar la inflamación perirradicular. Así mismo que la pulpa necrótica provee un excelente microambiente para los microorganismos, que directa o indirectamente causa daño en el tejido perirradicular.<sup>8</sup>

L. B. Peters, discute una posible correlación entre el número de especies en la cavidad pulpar y el tamaño de la radiolucidez periapical.<sup>6</sup>

### **3.1. ESPECIES BACTERIANAS PRESENTES EN LA PAC.**

Sabemos hoy en día que existen alrededor de 400 géneros y especies microbianas en la cavidad oral.<sup>4</sup>

Parte esta microbiota puede infectar la cámara pulpar cuando los dientes pierden su integridad

Así podemos decir que existe una microbiota bacteriana polimicrobiana (diversas especies, géneros) y mixta, con distinto tipo respiratorio, aerobias y anaerobias. Y que dependiendo de su tinción para identificación y de su respuesta a ella, las bacterias pueden ser clasificadas como Gram (+), Gram (-). De tal forma tenemos que han sido referidas las siguientes especies:

	Género	Especies Comunes
<i>Bacterias anaerobias estrictas</i>		
<i>Bacilos gramnegativos</i>		
	<i>Prevotella</i>	<i>P.oralis, P. oris, P. buccae, P. intermedia, P. melaninogenica</i>
	<i>Porphyromonas</i>	<i>P. gingivalis P. endotelialis</i>
	<i>Mitsuokella</i>	<i>M. dentalis</i>

*Bacilos gramnegativos*

*Fusobacterium*

*F. nucleatum*

*Selenomonas*

*S. sputigena,*

*S. flueggel,*

*S. infelix,*

*S. artemidis,*

*S. noxia*

*Treponema*

*T. denticola,*

*T. orale*

<p><i>Bacilos grampositivos</i></p>	<p><i>Eubacterium</i></p>	<p><i>E. timidum,</i> <i>E. nodatum,</i> <i>E. brachy, E. yurii</i></p>
<p><i>Cocos grampositivos</i></p>	<p><i>Actinomyces</i></p>	<p><i>A. isrraelli,</i> <i>A. melleri</i> <i>A. naeslundii,</i> <i>A. odontoliticus</i> <i>A. viscosus</i></p>
	<p><i>Peptostreptococcus</i></p>	<p><i>P. micro,</i> <i>P. anaerobiou</i> <i>P. prevotti,</i> <i>P. magnus</i></p>



<p><i>Bacilos gramnegativos</i></p>	<p><i>Neisserias</i></p>	<p><i>N. cinerela</i>  <i>N. elongata</i>  <i>N. mucosa</i>  <i>N. lactamica</i>  <i>N. polysaccharea</i></p>
<p><i>Bacilos grampositivos</i></p>	<p><i>Capnocytophaga</i></p> <p><i>Lactobacillus</i></p>	<p><i>C. camimorsus</i>  <i>C. cynodegm</i>  <i>C. ochracea</i>  <i>C. sputigena</i>  <i>C. gingivalis</i></p> <p><i>L. salivarius. L. oris,</i>  <i>L. acidophilus,</i>  <i>L. gasseri,</i>  <i>L. fermentum,</i>  <i>L. casei</i></p>

En la PAC las reacciones patogénicas son resultado de invasiones mixtas en donde la proporción de anaerobios bacilos gramnegativos es mayor en conjunto con anaerobias facultativas que se encuentran en menor cantidad. Dentro de las especies que tienen mayor prevalencia encontramos:

*-Fusobacterium*

*-Porphyromonas*

*-Prevotella*

*-Eubacterium*

*-Peptostreptococcus*

Aun que, H. Fukushima reporta junto con sus colaboradores que en un estudio realizado en la patogénesis de lesiones periapicales. Las bacterias anaerobias y facultativas fueron aisladas de casi la mitad de los casos clínicamente asintomáticos clasificados estos como clase III.<sup>9</sup>

La mayoría de estas especies forman parte de la microbiota considerada como normal en la cavidad bucal y que en determinadas situaciones son agentes irritantes de la pulpa, es decir cuando se les da la oportunidad de invadir a la pulpa o las áreas periapicales por las siguientes vías:

-A través de una cavidad abierta, causada por un trauma ya sea la fractura de una corona o raíz con exposición pulpar. O por procedimientos operatorios que accidentalmente la exponen y permiten el acceso de la flora oral.

-A través de los túbulos dentinarios recortados o dentina cariada, en donde si estos no son obturados inmediatamente quedarán expuestos a la saliva y dichos microorganismos tendrán acceso a dichos túbulos

-A través del surco gingival y a lo largo de la membrana periodontal, esto sucede cuando existe enfermedad periodontal y grandes cantidades de microorganismos habitan en áreas cercanas al surco gingival normal y, a medida que las lesiones periodontales progresan al ápice los canales accesorios pueden quedar expuestos al medio oral y proveer acceso a la pulpa.

-Por extensión de una infección periapical a partir de dientes infectados adyacentes.

-A través de la corriente sanguínea durante bacteremias y septicemias.<sup>5</sup>

Una posible influencia en la penetración puede depender de la orientación de los túbulos dentinarios.<sup>6</sup>

Del porcentaje de las especies microbianas que colonizan la cavidad oral, algunas bacterias son potencialmente patógenas pueden estar implicadas en la patogénesis de la lesión perirradicular.<sup>8</sup>

El número de células inflamatorias está relacionada con el contenido bacteriano del conducto.<sup>1</sup> Y La severidad de la lesión del tejido depende del número y la virulencia de microorganismos que logran acceder al tejido perirradicular.<sup>8</sup>

### **3.2. FACTORES NUTRICIONALES DE LAS ESPECIES BACTERIANAS DE LA PAC.**

Las bacterias anaerobias están incluidas el ambiente en la región apical, muchas de ellas son exigentes y tienen requerimientos muy específicos para su crecimiento, obtienen muchos nutrientes de los exudados séricos del tejido vital fuera del foramen apical, esto nos puede explicar por que bacterias proteolíticas como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus* y *Fusobacterium*, constituyen la mayor parte de la microbiota de la porción apical, también intervienen factores del hospedero, factores del crecimiento como vitaminas, hormonas y otros productos sanguíneos, el contacto con tejido vital puede proporcionar también una elevada tensión de oxígeno restringiendo así a las especies anaerobias estrictas, aunque las facultativas también presentes en esta región pueden consumir el oxígeno disponible, el intercambio de productos entre los tejidos periapicales y los tejidos necróticos del conducto quizá sea limitado, de manera que esto afecta la disponibilidad de nutrientes y la capacidad de defensa del hospedero, aunque estos sea suficiente para aportar los nutrientes necesarios para sobrevivir, el intercambio depende ampliamente del foramen del conducto principal, tanto de los conductos accesorios. Algunos anaerobios, (*Prevotella*, *Porphyromonas*) se ven favorecidos por los productos sanguíneos, lo que puede dar lugar a un aumento del crecimiento y un cambio en el equilibrio ecológico, desarrollando una respuesta del hospedero y posteriormente una periodontitis apical.

Las bacterias pueden invadir por crecimiento, de manera que sea superado el efecto bactericida o bacteriostático del sistema de defensa del hospedero. También se pueden adherir a los componentes tisulares lo que puede aumentar la invasión.

Las bacterias se protegen del ataque por las defensas del hospedador, algunas forman cápsulas con acción antiopsonica, las proteasas producidas por numerosas bacterias actúan destruyendo inmunoglobulinas u otras proteínas del sistema de defensa o destruyendo inhibidores de proteasas de los líquidos corporales. Como *Prevotella* y *Porphyromonas*, que muestran resistencia al complemento.

Aunque existen bacterias que producen diversas clases de enzimas como las proteasas que son producidas por especies bacterias proteolíticas como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* y *Enterococcus*, la hialuronidasa, la condroitinsulfatasa, la glucuronidasa, ADNasa y otras son producidas por especies de *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*.

El crecimiento bacteriano es importante ya que puede superar los factores de defensa, el crecimiento de ciertas especies bacterianas depende por completo de la presencia de otros, que producen los metabolitos y productos nutricionales necesarios, así mismo algunas bacterias contrarrestan el crecimiento y desarrollo de otras.

Un aumento del número de células bacterianas con gran actividad metabólica nos hace suponer que existe una mayor cantidad de toxinas, enzimas y productos metabólicos que son liberados.

El desarrollo de la reacción inflamatoria conduce a un aumento de la cantidad extravascular de líquido tisular que puede penetrar en el conducto de la raíz, las bacterias capaces de resistir la acción antibacteriana pueden ser estimuladas por los nutrientes del exudado, así el proceso llega a una fase química destructiva que provoca la destrucción de tejidos. Así que la cantidad de bacterias, como el número de

mediadores de la inflamación producen en conjunto las alteraciones periapicales.

Cuando los productos bacterianos se producen a mayor velocidad de la que el organismo pueda eliminarlos, el equilibrio entre las bacterias y las defensas del hospedero puede alterarse y dar lugar al avance de una infección.

Cuando las infecciones del conducto alcanza los tejidos periapicales tiene lugar una respuesta inespecífica inmediata, el curso y la gravedad de esta respuesta depende de varios factores, pero con el tiempo disminuye y se alcanza una situación de equilibrio ocasionando un proceso crónico, esto sucede hasta que las bacterias o productos bacterianos no sean eliminados, así se mantiene el proceso crónico y se impide la curación de los tejidos periapicales.<sup>1</sup>

En las infecciones polimicrobianas y mixtas de los conductos radiculares existen constantemente intercambios metabólicos entre las diferentes especies microbianas. Esta dependencia nutricional establece unas asociaciones fuertemente positivas o negativas. En donde *Fusobacterium nucleatum* promueve asociaciones positivas con *Peptostreptococcus micros*, *Selenomona sputigena*, *Campylobacter rectus* y *Porphyromona endodontalis*. *Prevotella intermedia* es afín a *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus anaerobius* y *Eubacterium*, mientras que *Porphyromona endodontalis*, inhibe el crecimiento de *Prevotella intermedia*. Estas asociaciones bien reguladas en parte, por la capacidad de algunas bacterias de liberar bacteriocinas, proteínas capaces de inhibir el crecimiento de determinados microorganismos.

El fenómeno de congregación también influye en la capacidad asociativa de las bacterias. Ejemplos de dichas congregaciones bacterianas son: *Fusobacterium nucleatum*, que muestra una fuerte tendencia a unirse por congregación a una diversidad de bacterias de la cavidad oral como a *Peptostreptococcus micros* y *Campylobacter rectus*.<sup>10</sup>

### 3.3. MORFOLOGÍA BACTERIANA

Las bacterias son microorganismos unicelulares pertenecientes al reino procaryotae, son los seres vivos mas pequeños con capacidad de crecer, dividirse y realizar procesos esenciales para su supervivencia. De forma esférica (coco), se encuentran aislados o agrupados, si es en parejas diplococos (dos), en cadenas (estreptococos), o en racimos (estafilococcus), en tétradas o sarcinas. Las formas alargadas llamadas bacilos (Cilíndricos), que varían en longitud, llamados cocobacilos a los pequeños, y las formas alargadas o filamentosas. Aparecen rectos, curvos (con una o varias curvaturas) o ramificados con extremos redondos o cuadrados. Y las formas helicoidales.

La célula bacteriana consta de una envoltura que rodea a una parte central o interior, esta se compone de: pared celular, membrana citoplasmática (estructuras esenciales), cápsula, glicocálix y citoplasma celular. En algunos géneros aparecen otras estructuras como glucocalix, además puede poseer proyecciones filamentosas: flagelos y pili (elementos facultativos).

La pared celular de cualquier tipo de bacterias es una cubierta rígida que envuelve a las bacterias por fuera de la membrana citoplasmática, es un elemento obligado, responsable de la morfología bacteriana, protege a la membrana citoplasmática de la presión osmótica interior, de los agentes detergentes que la desorganizan y de elementos tóxicos extraños. Interviene en la división celular en el momento de la división en las dos células hijas, hace impermeable a las bacterias, posee numerosos antígenos y es el responsable de la tinción de Gram. Aunque se puede teñir con distintos colorantes, que permiten observar los microorganismos

al microscopio, su componente fundamental es la mureína o péptidoglicano.

La pared celular de las bacterias grampositivas, está constituida por ácidos teicoicos (principales antígenos de estas bacterias e importantes para la adherencia a los receptores), como *S. aureus* o *E. feacalis*. Es el péptidoglicano o mureína, lo que la hace una cubierta rígida por lo que envuelve a las bacterias. Por fuera de la membrana citoplasmática, se encarga de dar rigidez y forma a la bacteria. A parte puede poseer carbohidratos y proteínas.

La pared celular de las bacterias gramnegativas, consta de una membrana externa (constituida por una doble cadena de lípidos, proteínas y lipoproteínas enclavadas) y un espacio llamado periplásmico (donde se encuentra la mureína) el límite de este es la membrana citoplásmica.

La membrana citoplásmica es una estructura constante en todas las bacterias, se sitúa por dentro de la pared celular. Se compone de fosfolípidos, proteínas y una pequeña proporción de glucolípidos. Funciona como barrera osmótica, aquí se produce la energía, hay síntesis de elementos estructurales, es responsable de la excreción de proteínas, intervienen en la división celular, posee proteínas receptoras, es el lugar de acción de detergentes antimicrobianos. El citoplasma bacteriano, es un sistema coloidal formado por agua, minerales y enzimas, ribosomas, inclusiones, mesosomas, el nucleoide, los plásmidos y bacteriófagos atemperados.

El glicocálix, es la cubierta más externa, tiene aspecto de gel, es un elemento facultativo, como se menciono anteriormente posee gran contenido acuoso y es esencial para la adherencia bacteriana a superficies lisas no descamativas (como los dientes). Actúa como

mecanismo defensivo para los microorganismos porque impide que fagocitos, anticuerpos, enzimas biodegradables o antibióticos contacten con ellos.

La cápsula es una estructura perfectamente definida, adherida al soma bacteriano, al que rodea en su totalidad (elemento facultativo), es un gel con gran contenido acuoso, protege a la bacteria y es importante en la patogenicidad y la virulencia, además impide la fagocitosis. Pueden actuar como adhesinas y a veces como elementos de resistencia a los antibióticos.

Los flagelos son filamentos largos, finos, flexibles ondulados y libres, responsables del movimiento de las bacterias, aquellas carentes de estos se llaman atricas. Es un elemento facultativo, de estructura proteica, se involucran en la patogenicidad porque facilitan la extensión de las bacterias en superficies, cavidades, además de la penetración a través de la capa de moco que recubre las mucosas, son antígenos. <sup>1</sup>

### **3.4. GENÉTICA BACTERIANA**

El estudio de la composición de la genética bacteriana, nos permite conocer el mapa genético de las distintas bacterias y establecer su presencia y clasificación. Por lo que es importante conocerla.

El genoma bacteriano se compone por moléculas de ADN con capacidad de autorreplicación. El mensaje genético bacteriano es portado por dos tipos de ADN, el cromosómico (elemento obligado, se identifica con el núcleo bacteriano-nucleoide o nucleoplasma) y ADN extracromosómico (elemento facultativo), que se replica en forma autónoma del cromosómico y que es pequeño, constituido por plásmidos y bacteriófagos atemperados o lisogénicos (virus bacterianos no virulentos).

El nucleóide bacteriano se constituye por una sola molécula circular de doble cadena de ADN, superenrollada, localizada en el citoplasma o citosol, no existe membrana nuclear que lo separe de este último, carece de nucleolo e histonas y esta constituida por un solo cromosoma, llamado nucleóide, su función es contener la información genética propia y esencial. Esta información contenida en el nucleóide, regula gran parte de las funciones bacterianas como la síntesis de proteínas o la división bacteriana. Y se puede transferir de una bacteria a otra, al pasar parte del cromosoma por transformación (a través del medio), conjugación (arrastrado por un plásmido), o por transducción (por un bacteriófago).

La doble cadena de ADN se compone por bases púricas (adenina, guanina) y pirimidícas (citosina, timina), desoxirribosa y ácido fosfórico. Y se encuentran unidas por puentes de hidrógeno entre las bases complementarias. Además de estar enrollada en espiral. La replicación del ADN bacteriano es realizado en donde cada cadena sirve de molde para una complementaria nueva, en este proceso participan los mesosomas. En la división cada célula hija lleva un cromosoma que está constituido por una cadena original y su complementaria sintetizada en la replicación. <sup>1</sup>

#### 4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA PAC

Como se menciono anteriormente, este tipo de lesiones es de larga duración generalmente es asintomático. Ha sido mostrado que los microorganismos del canal radicular del diente pueden invadir lesiones periapicales endodónticas de dientes asintomáticos y establecer un proceso infeccioso. <sup>11</sup> Esta lesión puede estar asociada con una ligera molestia, como la pulpa esta necrótica, los dientes con esta alteración, no responden a los estímulos eléctricos, ni térmicos(fig1 y2).



Fig.1 Prueba térmica al calor.



Fig. 2 Prueba térmica al frío.

La percusión produce poco o ningún dolor (Fig. 3), puede haber una sensibilidad a la palpación (Fig. 4), que indica una alteración de la lamina cortical del hueso y extensión de la PAC a los tejidos blandos. <sup>12</sup>

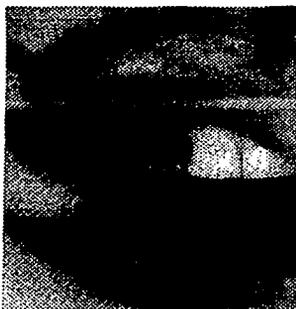


Fig. 3 Prueba de percusión



Fig. 4 Prueba a la palpación

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Aunque clínicamente el diente puede mostrar todavía algún signo débil de vitalidad, cuando es estimulado eléctricamente y puede tener alguna reacción positiva a la prueba de percusión. Esto se debe a que la respuesta inflamatoria afecta a la pulpa haciendo que sufra una necrosis progresiva.

El espacio del ligamento periodontal como respuesta a la inflamación en la región apical tendrá aspecto de estar ensanchado. <sup>3</sup>

También se encuentran afectados la lámina dura y el hueso alveolar con la necrosis del tejido. Así tenemos que: Esta lesión que se presenta después de la necrosis de la pulpa suele ser indolora, evoluciona muy lentamente y rara vez es grande siendo este un "granuloma periapical". <sup>3</sup>

La intensidad de la respuesta del hospedero es usualmente proporcional a la intensidad del daño. ( José F. Siqueira)

## **5. IMAGENOLÓGÍA**

Será un auxiliar para poder identificar a la periodontitis apical crónica, y los datos que podamos recopilar serán de gran importancia, para ello, sabemos que:

El tejido periapical esta constituido por cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar. <sup>2</sup>

La reacción que se provoca por los irritantes provenientes del sistema del conducto radicular se extiende por el ligamento periodontal hasta el hueso, por lo que los cambios inflamatorios en la pulpa afectan profundamente a los tejidos que rodean los dientes. El signo más significativo de una lesión inflamatoria periapical es la resorción apical visible solamente en las radiografías.

Esta lesión suele relacionarse con cambios radiolúcidos de los tejidos duros periapicales, dichos cambios varían desde engrosamiento del espacio del ligamento periodontal y resorción de la lámina dura hasta destrucción del hueso periapical con francas lesiones periapicales.<sup>2</sup> (Fig. 5)



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Fig. 5 Imágen radiográfica del ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal.

Una de las estructuras anatómicas que interviene para poder detectar alguna alteración intra y extrapulpal es el ligamento periodontal, y se da entre el diente y la lámina dura, como una línea uniforme que se puede observar en las radiografías, aproximadamente de 1.0mm de espesor en condiciones normales.<sup>5</sup>

Sabemos que el engrosamiento del espacio del ligamento periodontal que observamos es debido a la respuesta inflamatoria que provoca la irritación bacteriana.

Así que la PAC, se presenta radiográficamente como una lesión radiolúcida oval o redondeada con un contorno bien definido, localizado en el vértice de la raíz del diente. <sup>3</sup>



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Fig. 6 Imagen radiográfica de una lesión periapical

Y tenemos que con un proceso crónico de larga duración, las lesiones que se ven en las radiografías suelen ser muy distintas teniendo límites bien definidos de tejido óseo, Así el tamaño de la lesión puede variar en la radiografía desde un ensanchamiento hasta una lesión de tamaño sustancial. <sup>1</sup>

## 6. HISTOPATOLOGÍA DE LA PAC.

El estudio histopatológico será quien nos ayudará a corroborar el diagnóstico clínico de una PAC. (Fig. 7)



Fig. 7 Inflamación crónica apical.

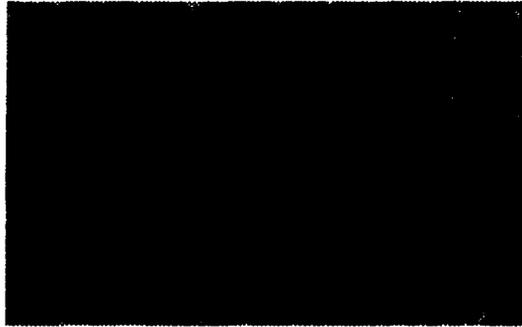


Fig.8 Tejido de granulación

En una PAC se observa tejido de granulación (Fig.8), con tres zonas:  
Áreas cercanas al ápice que contienen gran número de linfocitos T y B.  
(Fig.9)



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

(Fig. 9) Inflación crónica periapical de tejido de granulación en relación con el foramen apical

-Áreas más periapicales casi libres de estas células y donde predominan estructuras de colágeno y fibroblastos.

-La existencia de numerosos osteoclastos adyacentes al tejido óseo que se considera una forma o signo de la pérdida de hueso o remodelación.

Los granulocitos neutrófilos y los macrófagos, pueden detectarse frecuentemente en la zona rica en células e identificar una forma más aguda se han encontrado lesiones con numerosos mastocitos(Fig.10), lo que indica que pueden tener lugar reacciones inmunológicas de hipersensibilidad tipo I. También pueden ser detectados granulocitos, basófilos y eosinófilos.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Fig. 10. Lesión crónica rodeada de tejido conjuntivo que contiene mastocitos y en el centro se compone por células inflamatorias mononucleares como linfocitos, macrófagos y células plasmáticas**

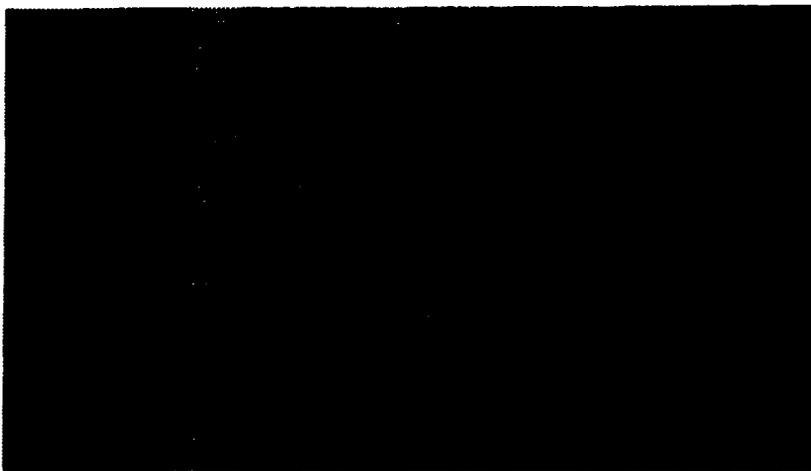
El punto en el que dicho proceso pasa de ser estado crónico latente a transformarse en un agudo no está bien determinado, aunque los clínicos lo definen como el momento en el que aparecen los síntomas.

En la periodontitis apical crónica existe desmineralización ósea.<sup>1</sup>

Las células inflamatorias predominantes en la periodontitis apical crónica son las mononucleares. Se encuentran macrófagos, leucocitos y células plasmáticas aunque en ocasiones también se observan leucocitos polimorfonucleares.<sup>2</sup> Y macrófagos, rodeados por una cápsula fibrosa apenas inflamada compuesta por colágeno, fibroblastos y botones capilares.<sup>13</sup> (Fig. 10)

Junji Ninomiya reporta en un estudio que la formación de tejidos de granulación asociados con infiltración de linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y polimorfonucleares es el hallazgo histopatológico en las lesiones crónicas.<sup>14</sup>

A nivel histológico, estas lesiones se clasifican como granulomas perirradiculares (tejido de granulación, infiltrado con mastocitos, macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y leucocitos polimorfonucleares.)<sup>2</sup> (Fig. 11)



**Fig. 11** Inflamación crónica periapical: tejido de granulación con hiperplasia epitelial de restos de Malassez, delimitados por una reacción fibrosa.

## **7. DIAGNÓSTICO DE LA PAC.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El diagnóstico clínico de la PAC se hace a través de los signos observados radiográficamente y el que dicha lesión no presente síntomas. En el caso de la patología periapical, esta se debe a diversas combinaciones de bacterias, por lo general anaeróbicas, a sus productos bacterianos y respuestas del huésped (la inflamación) a ellos. Los diferentes diagnósticos periapicales son sólo diferentes estadios en la respuesta inflamatoria.<sup>13</sup>

En cuanto al diagnóstico microbiológico tiene como aspecto:

- Identificar los microorganismos causantes de la lesión en el paciente
- Establecer si la infección ha aparecido en el suero del paciente.

## **8. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES BACTERIANAS EN LA PAC.**

En los últimos años se han desarrollado y perfeccionado diversas técnicas de trabajo para la identificación de especies bacterianas, para conocer mejor la ecología microbiana y el mecanismo patogénico. Ya que el estudio de las características cuantitativas y cualitativas de la microbiota oral pueden servir de orientación para precisar el riesgo de aparición de determinados tipos de enfermedades odontogénicas y su recurrencia.

En los siguientes puntos se abordaran las técnicas de cultivo y la técnica de hibridación para la identificación de especies bacterianas en la PAC.

Ya que el ambiente endodóntico proporciona un hábitat selectivo para el establecimiento de una comunidad microbiana mixta, predominantemente anaerobia en el tercio apical del conducto radicular. <sup>4</sup>

### **8.1 TOMA DE MUESTRAS.**

Es importante saber que para la toma de muestras se requieren precauciones especiales, para proteger algunos microorganismos sensibles, que pueden morir una vez obtenida y, en el transcurso de ser cultivada, como ejemplo tenemos a las bacterias anaerobias localizadas en la PAC que sucumben en un ambiente aerobio, y para proteger las especies obtenidas en dicha muestra se han creado una serie de dispositivos para tomar la muestra y transportarla en forma anaeróbica (con una jeringa, un hisopo de algodón colocado en medio

anaeróbico, en recipientes cerrados con atmósfera anaeróbica, o la mini jarra de anaerobiosis). Como se menciona anteriormente en este tipo de lesión encontramos en mayor cantidad especies de microorganismos tanto facultativos como anaeróbios, por lo que debemos cuidar la proliferación de cada especie, ya que la proliferación excesiva de uno o más de ellos puede incubar la presencia de algún patógeno en el siguiente cultivo. Para tomar la muestra de una PAC, necesitamos hacer un procedimiento quirúrgico (apicectomía), que requiere hacer una incisión para levantar un colgajo mucoperióstico. (Fig. 12 y 13)



Fig. 12. Diseño del colgajo mucoperióstico.

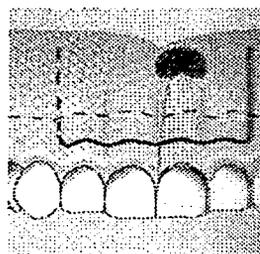
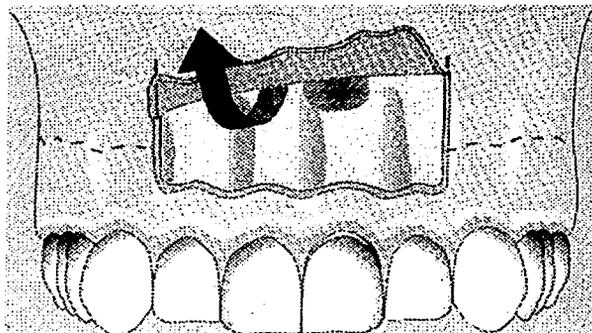
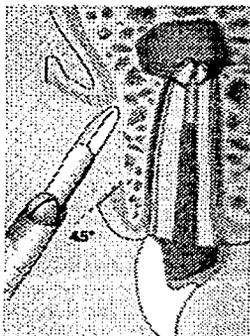


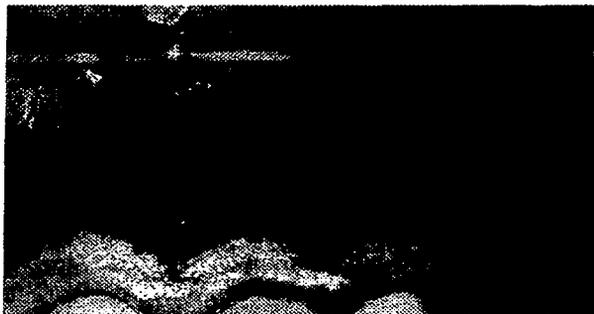
Fig. 13. Esquema del Colgajo.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



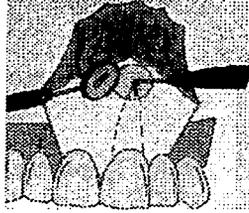
**Figs. 13 y 14 Esquemas del levantamiento del colgajo**

Una vez levantado el colgajo(Fig. 13,14,15) se toma la muestra, por medio de la técnica de raspado, mediante un hisopo o alguna cucharilla, teniendo cuidado de evitar la contaminación con microorganismos de otro sitio(Fig.16), esto es difícil, en especial tratándose de raspados que han de ser tomados de la cavidad oral, y hay que mantenerlos en un ambiente que proporcione el crecimiento de los distintos tipos de bacterias.



**Fig. 15. Levantamiento del colgajo.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Fig.16 Esquema de la recolección de muestras.**

**Pia Titterud Sunde, indica junto con sus colaboradores que las muestras bacterianas fueron tomadas de las lesiones periapicales, inmediatamente después del levantamiento del colgajo para realizar su estudio.<sup>11</sup>**

**Los sitios de donde se obtendrá la muestra, no deberán ser frotados con alcohol o algún desinfectante antes de la toma de la muestra, ya que esto podría afectar la viabilidad de los microorganismo de la región y podrían morir durante el transporte, es importante recordar que dichas muestras han de ser obtenidas antes de la administración de antibióticos, puesto que la recuperación de algunos microorganismos en medios saturados con estos fármacos es deficiente aunque sepamos que dichos fármacos solo actúen como agentes bacteriostáticos en los microorganismos, en caso de que la muestra haya sido obtenida con la presencia de alguna de estas sustancias, se deberá dar aviso al laboratorio para poder auxiliario en la planeación de los procedimientos apropiados para la interpretación de los resultados. <sup>15</sup> (Fig. 17)**



Fig.17. Inflamación crónica periapical:  
Tejido de granulación a nivel de la raíz

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 8.2 CULTIVOS:

Los medios de cultivo son sustancias nutritivas, que permiten obtener en el laboratorio (*in vitro*), el desarrollo de microorganismos.<sup>4</sup>

Por lo regular los medios de cultivo son mezclas de agua y sustancias orgánicas y/o inorgánicas en cantidades apropiadas para los requerimientos de los microorganismos que se desean propagar, brindando artificialmente las condiciones optimas para su crecimiento. Ya que los microorganismos toman del ambiente sustancias que requieren para sintetizar su material celular, generar energía y efectuar un funcionamiento adecuado estas sustancias se denominan nutrientes (como la sangre de cordero, vitaminas, agar). Hay que tener en cuenta que los nutrientes en exceso son inhibidores del crecimiento o resultan tóxicos

Los medios de cultivo deben ser fáciles de preparar, baratos y que permitan el desarrollo de una variedad de microorganismos. Esto es porque los microorganismos requieren ser manejados en poblaciones, para su estudio, debido a su tamaño.

La preparación de estos medios, se hace añadiendo los diversos componentes al agua, en donde ya disuelto el medio, se aplica calor, se ajusta el pH adecuado al medio, se esterilizan y vierten en cajas de petri en donde se solidificará al enfriarse en una superficie plana.<sup>1</sup>

En la PAC el cultivo de especies bacterianas debe hacerse mediante medios de cultivos anaerobios y facultativos a modo de simular las condiciones de su hábitat natural, reuniendo en este los nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que creen las condiciones necesarias para el crecimiento y multiplicación de las diferentes especies bacterianas, siendo su objetivo aislar a cada una de ellas y proceder a identificarlas o llevar a cabo estudios complementarios.

Se debe tener como condiciones para realizarlos:

- Temperatura (generalmente 36 ° C)
- Atmósfera (dependiendo del tipo de microorganismo)
- Presión osmótica.<sup>1</sup>
- Contener los nutrientes adecuados para el microorganismo.
- Contener humedad suficiente.
- Poseer un pH ajustado.
- Ser estéril inicialmente.<sup>4</sup>

Los cultivos son útiles para el diagnóstico y tratamiento de cualquier tipo de lesión o enfermedad.

Generalmente los cultivos de muestras tomadas de la PAC se hacen en un medio de cultivo que sea de uso común en bacteriología médica, como el agar, se toma este tipo de cultivo, debido a que es propicio para poder incubar bacterias en ambiente aerobio como anaerobio.

El agar se encuentra clasificado según su estado físico como un medio de cultivo sólido, que es vertido en una caja de petri, en donde se realizará la siembra, incubando a la bacteria y su multiplicación será visible solo microscópicamente, llamándose a esta última colonia. <sup>1</sup>

H. Fukushima y colaboradores refieren que las patosis periapicales resultan de infecciones endógenas. Y reportan que estudios en los cuales se han incluido muestras anaeróbicas y técnicas de cultivo han reportado la asociación de varias bacterias anaeróbicas con patosis periapicales, especies de *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* y *Eubacterium* son los agentes causantes de esta enfermedad. Además de que reportan a las bacterias anaeróbicas y facultativas como las especies aisladas en casi la mitad de los casos clínicamente asintomáticos, para este estudio, dientes obturados caracterizados por un área de radiolucidez en el ápice, sin dolor espontáneo, a la percusión o exudado fueron extraídos, observados por un microscopio electrónico buscador (scanner) y examinados bacteriológicamente, y se obtuvieron 7 de los 12 casos con cultivos positivos, siendo importante señalar que las regiones periapicales no fueron expuestas a la microbiota de la cavidad oral, por lo que se considera que la existencia de bacterias en esta área es independiente de la anacoresis o de la presencia de bacterias que habían invadido antes o durante el tratamiento endodóntico. <sup>9</sup>

### 8.3 MEDIOS DE CULTIVOS SELECTIVOS

Los medios selectivos, son los que permiten el crecimiento de un solo tipo de microorganismos, porque contienen sustancias que inhiben el crecimiento de otros. <sup>4</sup>

Es importante saber que se deben emplear este tipo de medios, para favorecer el aislamiento de ciertas especies de interés, en este caso nos referimos a las especies mas frecuentemente aisladas en la PAC.

Para *F. nucleatum* los medios de cultivo selectivo se preparan con:

- CVE, constituido de de sangre de carnero, agar, tripticasa, triptofano, cristal violeta y eritromicina.
- FEA, compuesto de agar brucilla, yema de huevo, hemina, vancomicina, neomicina, josamicina y polisorbato.

Para las *Porphyromonas*. El medio selectivo es el propuesto por Hunt, compuesto por agar columbia, sangre de carnero, hemina, vitamina K, sulfato de colistina, ácido nalidixico, bacitracina.

Un estudio realizado a tejido periapical de 22 muestras dentro de 28 lesiones contenía (79%) de microorganismos, los 22 casos mostraron crecimientos positivos en los cultivos, de ahí que 15 fueron polimicrobianos, 7 con especies aisladas y fueron 53 especies diferentes recolectadas, 29 anaeróbias, 19 facultativas y 5 aeróbias, los organismos más comunes aislados fueron *Propionibacterium acnes*, *Stapilococcus epidermidis*, *Streptococcus intermedius*, *Wolinella recta*, especies de *Fusobacterium* y especies de *Clostridium*. El tejido removido de la lesión periapical fue inmediatamente transportado en un medio anaerobio contenido 5% de dióxido de carbono, 10 % de hidrógeno, 85% de hidrógeno e incubado en varios medios de cultivos aerobios y anaerobios.

hidrógeno e incubado en varios medios de cultivos aerobios y anaerobios. El medio anaerobio uso, incluyendo el CDC, agar sangre, alcohol, agar sangre bilis y kanamicina / vancomicina.

El medio aerobio incluye agar chocolate, agar MacConkey, agar triptosa, agar soya con 5% de agar sangre de carnero. La identificación de aerobios aislados fue hecha por técnicas microbiológicas estándar. La identificación de anaerobios fue efectuada usando el IDS rápido sistema ana II. <sup>16</sup>

Gary V. Vigil, discute que el tejido periapical de 22 de 28 (79%) de especímenes contienen microorganismos. En casos donde no se detecto comunicación con la cavidad oral se nota, 10 (67%) de crecimiento microbiano demostrado. Un total de 23 cultivos aislados: donde 13 fueron organismos facultativos, 9 fueron anaerobios obligados y solo uno fue aerobio. <sup>16</sup>

En otra investigación se dice que la microbiota de las lesiones periapicales, hace la identificación preliminar de cultivos puros de dichas bacterias basada en la aerotolerancia, colonias y morfología celular, pigmentación de la colonia y tinción Gram de las células. <sup>11</sup>

Una vez hechos los cultivos se realizan los frotis fijados de manera rutinaria, tomando la muestra de nuestro cultivo, para posteriormente poder identificar los microorganismos presentes por medio de la técnica de Gram.

Aun que José F. Siqueira reporta en uno de sus estudios que los cultivos fallan para detectar especies incultivables, y que muchas de ellas están involucrados en la patogénesis de la enfermedad. <sup>17</sup>

## 8. 4 TINCIÓN DE GRAM

La técnica consiste en cuatro reactivos:

1.- El cristal violeta, es el colorante de uso primario y el primer reactivo de la serie e imparte su color a todos los microorganismos del frotis.

2.- El segundo reactivo es una solución de yodo, denominada yodo de Gram o lugol, que actúa como mordente (aumenta o refuerza la unión entre el colorante y el sustrato, formando un complejo cristal violeta iodo-ribonucleato de magnesio)

3.- El tercer reactivo es una mezcla de alcohol-acetona, que actúa como decolorante, disolviendo y arrastrando fuera de las células (La decoloración solo se lleva a cabo en las bacterias Gram negativas) al colorante primario

4.- El cuarto reactivo es la safranina o colorante de contraste e imparte el color solo a las bacterias que durante la decoloración perdieron al colorante primario.

Las bacterias Gram positivas, presentan una pared celular con un mayor contenido de peptidoglucano y con numerosos enlaces transversales entre las cadenas de N-acetilmurámico y N-acetil-glucosamina. En este grupo bacteriano, el decolorante deshidrata y reduce la permeabilidad de la pared, por lo que al ser tratadas con alcohol acetona no pierden el complejo cristal violeta-yodo.

En las bacterias Gram negativas, la pared celular es más delgada y contiene poco peptidoglucano, con pocos enlaces transversales, además

presentan una capa externa constituida por lipopolisacáridos. En estas especies el alcohol-acetona disuelve los abundantes lípidos de la pared abriendo los poros y facilitando la salida del complejo cristal violeta-yodo y la decoloración por lo que las bacterias se tornan invisibles y reaccionan con la safranina.

Las bacterias que retienen el colorante primario a lo largo de todo el proceso y no reaccionan con el colorante de contraste son llamadas Gram. positivas se ven teñidas de morado, las bacterias que pierden el colorante primario, reaccionan con el colorante de contraste y se denominan Gram negativas, estas se tiñen de rojo. Las bacterias cuya composición las sitúa entre las Gram positivas y las Gram negativas, durante las primeras 8hrs de crecimiento se comportan como Gram positivas y posteriormente se tornan a Gram negativas, se denominan Gram variables.<sup>1</sup>

El resultado de un control microbiológico a través de medios de cultivos, podrá estar alterado por ciertas causas, entre las más importantes tenemos:

-Que un medio de cultivo resulte inadecuado por el desarrollo de distintas variedades de géneros bacterianos en la zona apical.

-Que algunos agentes antibacterianos usados en el proceso endodóntico hayan sido trasladados a la zona apical durante dicho proceso y que sean trasladados al cultivo al obtener la muestra.

-Los antibióticos como causa de inhibición de crecimiento en el medio de cultivo dando resultados falsos de cultivos negativos.

Cabe mencionar que el cultivo y el aislamiento de especies en los cultivos es un procedimiento complejo y laborioso y que necesita de un

personal bien preparado, además que debido al gran número de especies bacterianas involucradas en la PAC, se requieren múltiples medios para poder garantizar el aislamiento de todos los microorganismos.

Quizá por ello el estudio microbiológico en boca no se realice con tanta frecuencia, aunque es importante señalar que este tipo de técnica nos permite conocer la etiología, seleccionar el antimicrobiano adecuado y determinar la eficacia del tratamiento.

## 8.5 TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN

Los métodos de genética molecular son usados para detectar microorganismos que son imposibles o difíciles de cultivar.<sup>17</sup>

Estos métodos pueden ser usados para identificar bacterias en muestras clínicas sin necesidad de cultivarlos o aislarlos, o sin pruebas bioquímicas para identificación, son más rápidos que los métodos de cultivos.<sup>17</sup>

Uno de los estudios con mayor exactitud en cuanto al reporte de la identificación de especies bacterianas en lesiones periapicales asintomáticas fue reportado en el 2000 por Gatti JJ. Y Smith C. quien reporta que hay algunas dificultades para cultivar algunas especies, muchas no pueden ser detectadas usando métodos bacteriológicos y que las técnicas moleculares pueden resolver este problema. La tecnología de la ADN-ADN hibridación es un avance adicional en el que el ADN no es amplificado.<sup>18</sup>

El proceso de su investigación es determinar que bacterias de la lesión endodóntica perirradicular podrían ser identificados usando ADN-ADN hibridación. Para su estudio uso la técnica intrasurcal mucoperiosteal (IS) y la técnica submarginal (SM). El ADN fue extraído en incubado con 40 dígoxigenina-lavando todas las pruebas genéticas. El ADN fue extraído de

36 lesiones, 7 pruebas fueron positivas en lesiones obtenidas por el IS, pero no en la técnica SM. Donde 36 pacientes con lesión periapical asintomática, diagnosticada como crónica, o Periodontitis Apical Crónica Supurativa, fueron seleccionados para este estudio, pacientes con previa terapia del canal radicular en molares libres de caries, premolares y dientes anteriores. Las lesiones se extienden de 2.0cm<sup>2</sup> a 3.0cm<sup>2</sup>, el ADN bacterial fue detectado en las 36 lesiones. Hay 12 lesiones con más de 10 especies, la mayoría en el grupo IS. En pacientes con comunicación a la cavidad 4 de 13 pruebas proporcionaron signos. De las 8 lesiones obtenidas de dientes que no tienen la corona intacta 5 de 13 pruebas positivas. En los 5 pacientes con historia de trauma 4 de 13 pruebas con resultados positivos.<sup>19</sup>

Sunde PT y sus colaboradores realizaron un estudio acerca de la distribución de la microbiota perirradicular por ADN-ADN hibridación. En donde cuyo propósito fue establecer cuales bacterias de las lesiones endodónticas perirradiculares asintomáticas, podrían ser identificadas usando la técnica de ADN-ADN hibridación "Checkerboard".

Para realizar dicha técnica, cada muestra fue pipeteada en volúmenes de 0.1mL y transferidos a tubos separados, 1 ml de 0.5 M NaOH fue sumado a cada muestra, y estas fueron congeladas (-20° C), todas las muestras fueron colocadas en agua a (100° C) y hervidas por 5min, se neutralizaron usando 0.8mL de 5M de acetato de amonio. Se liberaron DNAs de las 34 muestras periapicales, en dos grupos unidos con ADN estándar extraídos de 10<sup>5</sup> y 10<sup>6</sup> células de 40 especies bacterianas usadas, fueron colocadas dentro de los canales en un Minislot y depositadas en una membrana de nylon, estas membranas fueron fijadas a 68° C por 30min, seguidas por la exposición de luz ultravioleta por 30 segundos, la membrana con el DNA fijado fue colocada en un Minibloter 45 con los canales de ADN a 90° , a los canales de los dispositivos,

cada canal fue usado como una cadena de hibridación para separar las pruebas de DNA, las membranas fueron prehibridizadas. Con esta técnica el DNA bacterial fue identificado en todas las muestras de lesiones periapicales asintomáticas.<sup>19</sup>

Dentro de las ventajas de usar este tipo de técnica se encuentra que, se estiman alrededor de 500 especies bacterianas en la periodontitis apical, pero solo el 50% es cultivable. Actualmente 200 de estas especies incultivables pueden ser detectadas en un variedad de enfermedades periodontales por métodos moleculares, así que con este método un gran número de bacterias es detectado periapicalmente en dientes con PAC, esto contrasta con un estudio en el cual sean usados medios de cultivo anaeróbios donde normalmente el número de especies bacterianas reconocidas es menor a 10.<sup>17</sup>

Otros estudios realizados por José F Siqueira en el 2002 reportan la extracción de ADN para evaluar la incidencia de 13 especies bacterianas usando las pruebas genéticas de ADN y "Checkerboard" ADN-ADN hibridación, describe a las lesiones peripicales asintomáticas e identifica como las especies bacterianas más prevalentes a *S. intermedius*, *E. feacali* y *S. anginosus*. Algunos grupos de las especies microbianas orales pueden ser reportados al ser asociados con formas particulares de enfermedad perirradicular). En este mismo estudio José F. Siqueira reporta que varios estudio usan el método molecular que mejora considerablemente el entendimiento de la microbiología de la enfermedad periodontal. Y que esto permite la determinación simultánea de la presencia de múltiples especies bacterianas en simples o múltiples muestras clínicas<sup>17</sup> Los resultados obtenidos por ADN hibridación difieren mucho de los obtenidos por las técnicas de cultivo. <sup>17</sup>

## **9. TRATAMIENTO PARA LA PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.**

Para la resolución de la PAC, es importante eliminar los irritantes iniciadores de la pulpa necrótica, tras dicha eliminación, primordialmente de bacterias, la lesión sana habitualmente.<sup>1</sup>

Se debe colocar hidróxido de calcio CaOH y sellar siempre la abertura del acceso con una torunda de algodón y obturación temporal.<sup>12</sup>

Tras la eliminación de la bacteria, la lesión sana habitualmente y tiene una nueva formación ósea.<sup>1</sup>

La reparación de los tejidos perirradiculares después del tratamiento de los conductos radiculares suele asociarse con la formación y organización y maduración de tejido de granulación, la reducción de la inflamación y la restauración de la arquitectura normal del ligamento periodontal. Dado que las reacciones inflamatorias suelen acompañarse de resorción microscópica y macroscópica de los tejidos duros, también ocurre la reparación de hueso y cemento. Las lesiones perirradiculares se reparan desde la periferia hacia el centro. Si la placa cortical es perforada por reabsorción, el proceso de reparación será en su mayor parte de naturaleza perióstica. Si las lesiones no han afectado el periostio, la reacción de reparación será principalmente del endosito, con formación de trabéculas óseas que se extienden hacia adentro desde las paredes de la lesión hasta la superficie radicular. En la periferia aparecen osteoblastos que elaboran matriz ósea (osteoides) la cual poco a poco se mineraliza al madurar. Si el cemento o la dentina han sido reabsorbidos por la inflamación, la remodelación y la reparación se efectúan con cemento secundario. El último tejido que se recupera es el ligamento periodontal

Siempre que persista la irritación de los tejidos perirradiculares, continuará la destrucción y la reparación simultánea de estos tejidos.

## 10. COMENTARIO

La incidencia de una periodontitis apical crónica, es alta, para dientes tratados por primera vez, como en los que ya han estado bajo algún tratamiento endodóntico. Este tipo de inflamación periapical es regularmente asintomática, por lo que es importante diagnosticarla a tiempo y dar un tratamiento de antibioticoterapia específico.

Este tipo de inflamación puede reactivarse como una periodontitis apical aguda. La mayor parte de los problemas al tratar esta lesión se debe a la antibioticoterapia que se ha elegido, ya que esta la mayoría de veces se selecciona de manera empírica, de modo que no siempre ataca al germen causal. Esto se dificulta más debido a que en la PAC las bacterias juegan un papel importante, así como sus productos y los tejidos pulpaes necróticos, que están presentes en los conductos radiculares afectados, estos escapan fuera a través del foramen apical a los tejidos periapicales. De manera, que las bacterias son importantes en la iniciación, progresión y persistencia de la infección. Y sabemos que las especies encontradas en la PAC son anaerobias o facultativas, por lo que hacen un poco compleja su identificación y su tratamiento.

De manera convencional, se usa para la identificación de especies en lesiones periapicales la técnica de cultivo, aunque tiene ciertas desventajas, que es un poco laboriosa, necesita de equipo especial y de un personal calificado para realizar las distintas pruebas y las posteriores identificaciones además de que algunos estudios refieren que con dicha técnica no pueden ser identificadas todas las especies bacterianas de una infección severa de PAC, y que por las desventajas mencionadas no es usada por el cirujano dentista, de manera rutinaria en el diagnóstico de la PAC.

Por otro lado tenemos que se ha reportado una nueva técnica para identificar especies bacterianas más sensibles y específicas, de manera que ya no sea un inconveniente la manera de transportar las muestras en medios específicos, y con una metodología basada en la detección de ácidos nucleicos, dicha técnica ha sido introducida tanto en laboratorios de investigación como en los clínicos, y esta revolucionando el conocimiento acerca de varias enfermedades, permitiendo el diagnóstico rápido y efectivo de estas.

## 11. GLOSARIO

**Acidos teicoicos.**- Polímeros de glicerol, fosfato orbitol.

**Adhesinas.**- Elementos microbianos que permiten la adherencia a las células del hospedador.

**Agar.**- Polisacárido obtenido a partir de algas rojas, insoluble al agua fría y soluble al agua caliente.

**Antibacteriano.**- Que impide el desarrollo de las bacterias.

**Anticuerpo.**-Glucoproteína producida en el organismo por los linfocitos B y células plasmáticas en respuesta directa a la introducción de un antígeno.

**Apicectomia.**- Excisión del vértice de una raíz dental

**Complemento.**- Sistema enzimático inespecífico del suero fundamental en la inmunidad humoral que consta de 9 componentes. Los diversos componentes proteícos, se numeran del C<sub>1</sub> al C<sub>9</sub>. Los diversos componentes o fracciones se activan en presencia de antígeno-anticuerpo, de manera secuencial según la vía estimulada dando lugar a la liberación de sustancias biológicas activas

**Enzimas.**-Sustancias capaces de acelerar o provocar ciertos procesos químicos sin sufrir ninguna alteración.

**Hiperplasia.**- Multiplicación anormal de los elementos de los tejidos.

**Inclusiones citoplasmáticas.**- Elementos genéticos sin estructura, que sirven como mecanismo de regulación o almacenaje.

**Patogenicidad.**- Capacidad del microorganismo para producir enfermedad en el hospedador.

**Peptidoglicano.**-Polímero de aminoácidos (peptidos) y azúcares (glicano)

**Plásmidos.**- Son moléculas circulares de ADN de doble cadenas independientes del nucleóide y de los bacteriófagos.

**Inmunidad.**- Insensibilidad relativa de una persona para una infección por microorganismos patógenos o para los efectos nocivos de ciertas sustancias antigénicas.

**Vitaminas.**- Sustancias orgánicas que existen en cantidades menores en materias nutritivas, que sin ser alimento son indispensables para el desarrollo y funciones del organismo.

**Virulencia.**-Menor o mayor grado de un microorganismo para producir alteraciones al huésped.

**Toxinas.**-Sustancias productoras de efectos tóxicos, en especial las proteínas de origen vegetal, o bacteriana, cuyas características son producir efectos tóxicos y ser antígenos.

**Proteasas.**- enzimas orgánicas que digieren las proteínas.

**DNasa.**- Desoxirribonucleasa, enzima que hidroliza al ácido desoxirribonucleico.

## 12.-BIBLIOGRAFÍA

1. Liébana José Ureña. Microbiología Oral, México 1997 Interamericana McGraw-Hill.
- 2.- Ingle Blackland. Endodoncia, 4ª edición 1996, México, Mc-Graw-Hill
- 3.-, Sapp J. Philip, Patología oral y maxilofacial, España, Harcourt
- 4.- Negroni Marta. Microbiología Estomatológica. México 1999. Panamericana.
- 5.- Burnett W George, Microbiología oral y enfermedad infecciosa, 1982, Argentina, panamericana.
- 6.- L. B. Peter y colaboradores. Journal of endodontics. Viable Bacteria in Root dentinal Tubules of Teeth with Apical Periodontitis
- 7.- Regezi Joseph, Patología bucal, 2ª edición 1995, Interamericana.
- 8.- José F. Siqueira y colaboradores. Oral Surgery Oral Medicine oral Pathology. Vol. 89 N° 6 June 2000 pp. 744-747
- 9.- H. Fukushima, Localization and Identificación of Root Canal Bacteria in Clinically Asymptomatic Periapical Pathosis, Journals of Endodontics, Vol.16, N° 11, Noviembre 1990
- 10.- Canalda Carlos, Endodoncia técnicas clínicas y bases científicas, España, 2001, MASSON.
- 11.- Pia Titterud y colaboradores. Journal of endodontics. Microbiota of Periapical Lesions Refractory to Endodontic Therapy Vol. 28 N° 4 April 2002 pp. 304-310
- 12.- Walton Richard E. Endodoncia principios y practica, 2ª edición 1997, México, Mc-Graw-Hills,
- 13.- Stephen Cohen, Vías de la de la pulpa 7ª edición 1999, España, Mc-Graw-Hills

14. Juni Nynomia y colaboradores. Journal of endodontics. Cellular Inmono-Competence of Infected Root Canal Contents in Pathogenesis of Periapical Lesions. Vol. 23 N<sup>o</sup> 4 April 1997. pp. 213-216
- 16.- Gary V. Vigil y colaboradores. Journal of endodontics. Identificación and Antibiotic Sensitiviti of Bacteria Isolated From Periapical Lesions. Vol 3 N<sup>o</sup> 2. february 1997 pp. 110,113.
- 17.- José F. Siqueira y colaboradores. Oral Surgery Oral Medicine oral Pathology. Vol. 92 N<sup>o</sup>4 October 2001 pp.451-457.
- 18.-Gatti J.J. y colaboradores. Endodontics y Dental Traumatology bacteria of asymptomatic perirradicular endodontic lesions identified by DAN-DNA hybridization . N<sup>o</sup> 16, 2000 pp197-204.
- 19.-Sunde Pt, Endodontics y dental traumatology, Assessment of periradicular microbiota by DNA-DNA hybridization. N<sup>o</sup> 16 2000