



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

FRECUENCIA Y TRATAMIENTO *DE Candida albicans y*  
**Enterococcus faecalis** EN LESIONES PERIAPICALES.

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N O   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

MISAEAL DE JESÚS LÓPEZ ROBLES

TUTORA: Esp. ANA ROSA CAMARILLO PALAFOX

ASESOR: Esp. CARLOS TINAJERO MORALES

MÉXICO, D.F.

2013



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.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**A mi familia por su incondicional apoyo en todo el camino para poder conseguir un logro más en mi vida.**

**Gracias**

## ÍNDICE

Introducción.....	5
Objetivos.....	7
<b>CAPÍTULO 1: Lesiones periapicales de origen pulpar.....</b>	<b>8</b>
Clasificación de las lesiones periapicales. ....	8
Enfermedades agudas periapicales.....	10
Absceso Alveolar Agudo.....	10
Periodontitis Apical Aguda.....	11
Absceso Fénix.....	13
Absceso Alveolar Crónico.....	14
Periodontitis apical crónica. ....	16
Granuloma.....	16
Quiste.....	18
<b>CAPÍTULO 2: Factores etiológicos en conductos radiculares con lesión periapical.....</b>	<b>20</b>
Necrosis pulpar.....	20
Inicio de la colonización bacteriana.....	21
Colonización microbiana del sistema de conductos radiculares.....	21
Condiciones para la colonización bacteriana del sistema de conductos radiculares.....	22
Tipos de colonización bacteriana en endodoncia.....	23
Biofilm en endodoncia.....	24

<b>CAPÍTULO 3: Estreptococos</b> .....	26
Generalidades.....	26
<i>Enterococcus faecalis</i> .....	26
<i>Enterococcus faecalis</i> en las infecciones endodóncicas.....	29
Erradicación de <i>Enterococcus faecalis</i> .....	33
<b>CAPÍTULO 4: <i>Candida albicans</i></b> .....	35
Características.....	35
<i>Candida albicans</i> en endodoncia.....	37
Erradicación de <i>Candida albicans</i> .....	39
<b>CAPÍTULO 5: Métodos para la eliminación de <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Candida albicans</i></b> .....	41
Irrigantes.....	42
Hipoclorito de sodio.....	42
Clorhexidina.....	45
MTAD.....	48
Medicación intraconducto.....	49
Hidróxido de calcio.....	49
Conclusiones.....	52
Bibliografía.....	54

## INTRODUCCIÓN

La eliminación de las bacterias durante el tratamiento de conductos es un factor fundamental para lograr el éxito de la endodoncia, debido a que se ha demostrado que muchas alteraciones periapicales son ocasionadas por la presencia de microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares como lo son *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

Dichos microorganismos pueden estar presentes en la etiología de muchas de las lesiones periapicales como pueden ser el absceso alveolar agudo, periodontitis apical aguda, absceso alveolar crónico, granuloma y quistes. Por lo cual, se deben conocer las diferentes características y causas de cada una de ellas, para poder prevenir las lesiones, combatir estos microorganismos resistentes y saber cómo eliminar la lesión si se presenta.

Así mismo, es importante resaltar que el conocimiento de las causas y características de cada una de las lesiones periapicales antes señaladas, nos ayudará a no confundir ante que lesión nos encontramos, qué tipo de microorganismos pueden ser los causantes y así poder dar un diagnóstico correcto de la lesión, ya que la base del éxito en un tratamiento endodóncico es el correcto diagnóstico de la lesión, “debemos saber con precisión a qué nos enfrentarnos, para saber cómo atacarla”.

El primer paso por el que tienen que pasar estos microorganismos, es la entrada y la colonización del sistema del conducto radicular, la principal causa de la colonización bacteriana dentro del conducto radicular es sin duda la necrosis pulpar, ésta es la primera contaminación que se presenta en el sistema de conducto radicular, por lo tanto es de suma importancia conocer ¿Por qué se presenta ésta alteración? ¿Qué es lo que la causa? y ¿Qué microorganismos podemos encontrar en este tipo de lesión?.

Para que la colonización bacteriana se pueda presentar se necesitan ciertas condiciones del medio y de los microorganismos, para que se manifieste una

colonización bacteriana y de acuerdo a las características del medio, será la microbiota que colonice el sistema de conductos radiculares.

La colonización bacteriana se puede presentar en tres tipos: La colonización primaria, secundaria y terciarias donde encontramos microorganismos como *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* que presentan una cierta resistencia a su eliminación dentro del conducto radicular.

Uno de los factores principales por medio del cual se presentan las lesiones periapicales, la resistencia de microorganismos como *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*, que tienen ciertas peculiaridades que los hacen resistentes a las medidas de eliminación dentro del conducto radicular, como sus características físicas, factores de virulencia, capacidad de formar un biofilm, poder formar un sistema más complejo y resistir aún más a los métodos de eliminación.

Por ende tenemos que conocer los métodos que llevan a cabo para la colonización del sistema de conductos radiculares y de esta manera podamos contrarrestarlas y eliminarlas por completo del sistema de conductos radiculares.

Uno de los recursos que tenemos a nuestro alcance, es la irrigación, utilizando el hipoclorito de sodio y la clorhexidina por mencionar algunos, modificando su temperatura o su concentración para poder eliminar dichos microorganismos y llevar al diente a su estado de salud.

## OBJETIVOS

- Identificar las principales lesiones periapicales relacionadas con *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.
- Conocer los diferentes métodos que emplean *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis* para colonizar el sistema de conductos radiculares.
- Analizar las características que determinan la virulencia de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.
- Conocer los diferentes métodos para la eliminación de *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*, del sistema de conductos radiculares.
- Determinar el irrigantemas efectivo para eliminar *Candida albicans* y *Enterococcus faecalis*.

# Capítulo 1

## Lesiones periapicales de origen pulpar y periodontal.

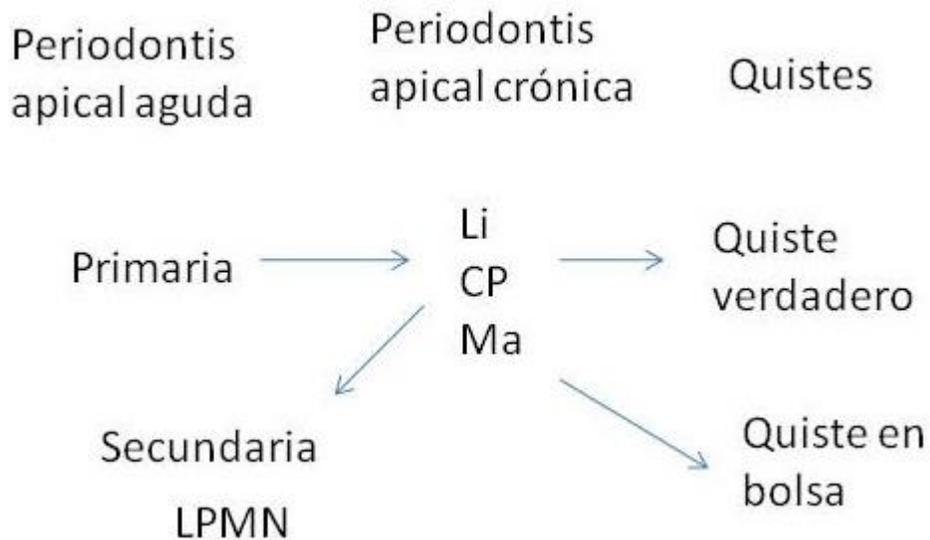
El periápice, es una zona que presenta diferentes agresiones de orígenes diversos como bacterias o traumatismos que provocan lesiones, éstas pueden tener dos orígenes, las de origen pulpar cuyo principal desencadenante es la necrosis y las lesiones de origen periodontal.(1)

En este trabajo, nos abocaremos a hablar sólo de las lesiones periapicales de origen pulpar, ya que están más encaminadas a la presencia de *Enterococo faecalis* y *Candida albicans*.

### Clasificación de las lesiones periapicales de origen pulpar.

Dentro de las lesiones periapicales podemos encontrar diferentes clasificaciones según el autor que elijamos citar; por tal motivo en éste espacio destacaré brevemente algunas de éstas, ya que es de suma importancia conocer los términos que se utilizan en las diferentes escuelas, para no confundir cada uno de éstos.(1,3)

Clasificación de Orstavik



Principales clasificaciones de las lesiones periapicales.

<b>Clasificación de Carlos Estrela</b>	<b>Clasificación clínica de Castelucci</b>	<b>Clasificación según Orstavik</b>	<b>Clasificación de Grossman</b>
1.-Periodontitis Apical Sintomática	1.-Periodontitis Apical Aguda	1.-Periodontitis Apical Aguda	1.-Enfermedades agudas periapicales
1.1.-Traumática	2.-Absceso Alveolar Agudo	1.1.-Primaria	1.1.-Absceso Alveolar Agudo
1.2.-Infecciosa	3.-Periodontitis Apical Crónica	1.2.-Secundaria	1.2.-Periodontitis apical aguda
2.-Periodontitis Apical Asintomática	4.-Periodontitis Apical Crónica	2.-Periodontitis Apical Crónica	1.2.1.-vital
3.-Absceso Periapical sin fistula		3.- Quistes	1.2.2.-no vital
3.1.- Fase inicial		3.1.-Quistes verdadero	2.-Enfermedades crónicas periapicales con área de rarefacción
3.2.-En evolución		3.2.- Quiste en bolsa	2.1.-Absceso alveolar crónico
4.-Absceso Periapical con fistula			2.2.-Granuloma
			2.3.-Quiste
			3.Osteítis condensante

Clasificación de Grossman

Ya que entre el tejido pulpar y los tejidos periapicales existe una interrelación muy estrecha, cualquier alteración o inflamación pulpar ocasiona cambios inflamatorios en los tejidos periodontales, incluso antes de que pueda manifestar una necrosis pulpar. (1,2)

Grossman clasifica a las enfermedades periapicales en agudas y crónicas:

1. Enfermedades agudas periapicales:
  1. Absceso Alveolar Agudo.
  2. Periodontitis Apical Aguda.
    1. Vital.
    2. No vital.
2. Enfermedades crónicas periapicales con área de rarefacción:
  1. Absceso alveolar crónico.
  2. Granuloma.
  3. Quiste.
3. Osteítis condensante.
4. Resorción radicular externa.
5. Enfermedades de los tejidos periapicales de origen no endodóncico.(4)

En este trabajo se hará mención de algunas alteraciones según Grossman, las cuales tienen relación con la presencia de *Candida albicans* y *Enterococo faecalis*.

## **Enfermedades Agudas Periapicales.**

### **Absceso Alveolar Agudo.**

Al absceso alveolar agudo también se le conoce con los siguientes nombres: Absceso agudo, Absceso apical agudo, Absceso dentoalveolar agudo, Absceso periapical agudo, Absceso radicular agudo, Absceso apical sintomático o periodontitis apical irreversible sintomática purulenta. (1,2,6,)

El absceso alveolar agudo, es una zona localizada de pus que se encuentra en el hueso alveolar, el cual rodea el ápice de un diente con necrosis y que a su vez la infección ya se ha extendido a través del foramen apical hacia los

tejidos periodontales, ésta puede presentar una reacción severa localizada y en ocasiones generalizada. (1,5)

### **Causas**

La causa principal de un absceso agudo es la infección microbiana del tejido necrótico de la pulpa, aunque en ocasiones puede ser resultado de un trauma, irritación química o mecánica, ya que el tejido pulpar está dentro del sistema de conductos radiculares, se presenta completamente encerrado, por consiguiente es imposible el drenado y por ende la infección continúa extendiéndose en la dirección que le ofrezca menos resistencia, en éste caso son los tejidos periapicales. (2, 3,6)

### **Síntomas**

Puede presentarse sensibilidad del diente, la cual se presenta si se ejerce una presión continua sobre el diente para empujarlo hacia el alvéolo, después de una sensibilidad el dolor aumenta, es un dolor severo y pulsátil y puede presentar inflamación de tejidos de soporte. (1,8)

Si la infección continúa, la inflamación se incrementa y se propaga más allá del sitio de origen, por tal motivo el diente se puede sentir como elongado, doloroso y con movilidad. (3,5,)

### **Periodontitis Apical Aguda**

La periodontitis apical aguda también se le conoce como: Periodontitis perirradicular aguda, Periodontitis periapical aguda.

La periodontitis apical aguda, es una inflamación aguda y dolorosa del tejido periodontal periapical como resultado de una irritación, traumatismo o una

contaminación del conducto, sin embargo la vitalidad pulpar puede no estar comprometida. (1,2,8)

Esta inflamación aguda puede dividirse en dos: primaria o secundaria

La primaria es cuando tiene una corta duración y se inicia en un periodonto sano, sólo es una respuesta a diversos irritantes.(1)

La secundaria es cuando la respuesta ocurre en una lesión de periontitis apical crónica preexistente, a ésta también se le conoce como reactivación periapical o absceso fénix.(1,2,4)

Ante las premisas anteriormente citadas, no debemos confundir el absceso apical agudo con el absceso fénix ya que pueden presentar síntomas parecidos, pero un punto muy importante para determinar qué tipo de lesión presenta, es la presencia radiográfica de una zona de lesión periapical en el periápice del diente afectado, que nos indica la cronicidad del padecimiento y así poder determinar ante qué tipo de lesión nos presentamos, a un absceso fénix o a un absceso alveolar agudo. (2,3,5)

## **Causas**

La periodontitis apical aguda, es un cuadro de inflamación periodontal que puede ser consecuencia de una necrosis pulpar o producirse con pulpa vital generalmente inflamada por traumatismos dentales, alteraciones oclusales o pulpitis.(1,5)

La periodontitis apical en ocasiones también puede ser de causa iatrogénica (producida por el profesional), como por ejemplo en casos de tratamientos de conductos radiculares, donde se produce inflamación del tejido periodontal debido a las maniobras realizadas o al material de obturación empleado.(3)

Cuando se extrae el tejido pulpar se produce una herida en los tejidos blandos próximos al foramen apical. La sobre instrumentación puede hacer que las bacterias lleguen al periodonto, además los antisépticos que se utilizan, son en sí mismos citotóxicos. (3,4)

### **Síntomas**

Dentro de los síntomas más comunes que puede presentar esta alteración, encontramos que el diente puede presentar dolor y sensibilidad al momento de ocluir, dolor a la palpación y percusión, sin embargo esto no es suficiente para determinar que estamos ante dicha alteración, para lo cual tenemos que realizar un interrogatorio profundo al paciente sobre si ha tenido algún tratamiento endodóncico o protésico que pudo causar esas molestias, así como preguntar si no sufrió un traumatismo o dificultad para morder adecuadamente. (2,4,7)

Después de realizar la anamnesis se deben tomar radiografías para visualizar signos radiológicos que nos puedan ayudar a confirmar el diagnóstico; estos signos pueden ser el ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal. (2,5)

### **Absceso Fénix**

Esta lesión es una agudización de un proceso crónico, también se le conoce como exacerbación aguda de una lesión crónica, reactivación de la periodontitis apical crónica. (1)

Por lo tanto el absceso fénix, es una reacción inflamatoria aguda sobre una lesión crónica ya existente, que hasta ese momento se encontraba en un equilibrio y no progresaba la periodontitis apical crónica o por lo menos no con dolor. (1,3)

## **Causas**

Las lesiones crónicas pueden mantener un cierto equilibrio con el medio que los rodea sin causar ningún dolor, pero por influencia de productos necróticos derivados de pulpas necróticas, bacterias o sus toxinas así como una baja de las defensas del huésped, se pueden manifestar agudizaciones.(3,8)

La exacerbación puede estar ligado a un inicio del tratamiento endodóncico por lo cual se tiene que tener cuidado de no sobrepasar el límite apical para no extruir material necrótico al periápice o algún material que origine esta agudización.(2,5,8)

## **Síntomas**

Los síntomas comunes de esta alteración es la sensibilidad al tocar o hacer presión en el diente, ya sea por la percusión o por la masticación que realiza el paciente, después el diente se siente que se alarga y un dolor pulsátil en el área periapical del diente. (6,7)

## **Absceso Alveolar Crónico**

El absceso alveolar crónico es una infección de baja virulencia, pero de un periodo largo de exposición en el hueso alveolar, esta alteración es una variación de la periodontitis apical.(2,3)

El absceso alveolar crónico, es también conocido como absceso apical crónico, periodontitis supurativa, perirradiculitis rarefaciente crónica y periodontitis crónica. (2,3,5,6)

El absceso alveolar crónico es la consecuencia natural de la muerte pulpar con extensión del proceso infeccioso, también puede ser resultado de un absceso agudo preexistente o terapia endodóncica inadecuada, la cual proyecta microorganismos al periápice o no terminar de limpiar el tercio apical.(1,3)

El absceso apical crónico es consecuencia de una persistente estimulación de irritantes del conducto radicular a los tejidos periapicales, esto puede llegar a la formación de exudado purulento dentro del granuloma o puede ser una cronicidad de un absceso agudo. (1,3,4)

Los microorganismos más comunes que se encuentran en esta lesión son los *Streptococos* alfa hemolíticos de baja virulencia.(5)

La persistencia de las infecciones crónicas, como es ésta, ocurre usualmente debido a que las bacterias están organizadas en un biofilm y son inaccesibles a las defensas del huésped, debido a las anatomías tan complejas que puede tener el sistema de conductos radiculares.(2,6)

El diente cuando presenta este tipo de alteraciones, generalmente es asintomático sólo es detectado mediante una radiografía de inicio o también si el paciente ya presenta una fístula. (4,5)

Cuando se presenta una fístula es conveniente realizar lo que Kuttler menciona como cateterismo u otros autores como fistulografía, para determinar el diente de origen que presenta la lesión.(3)



Fotos tomadas de Estrela C. "ciencia endodóntica", primera edición

Un punto muy importante es no confundirla con una periodontitis marginal cuando existe un exudado, ya que éste puede drenar por el surco gingival, lo que puede diferenciar una de otra es la presencia de una bolsa periodontal. (1,4,5)

Cuando se presenta el absceso alveolar crónico, el diente afectado se presenta asintomático o con ligero dolor a la masticación, puede manifestar una ligera movilidad, a la percusión puede presentar un dolor moderado tanto como a la palpación, no existe respuesta a las pruebas de vitalidad pulpar como frío o calor, ya que existe necrosis pulpar.(2,7)

### **Periodontitis alveolar crónica**

La periodontitis alveolar crónica es una alteración de baja virulencia, en la cual existe un proceso patológico que tiene un periodo largo de evolución.(2)

Esta lesión se puede dividir en granuloma y en quiste, aunque algunos radiólogos puedan decir que estas alteraciones se pueden diferenciar claramente con una radiografía periapical, no es verdad, ya que el granuloma o quiste sólo se pueden diferenciar mediante un estudio histopatológico como a continuación se mostrara.(3)

### **Granuloma**

El granuloma o también conocido como osteítis perirradicular o granuloma apical se define como un crecimiento de tejido granulomatoso que se continúa con el tejido del ligamento periodontal, éste es resultado de una necrosis pulpar, por lo tanto dicha alteración contiene tejido de granulación y tejido inflamatorio crónico. (2,4)

También se puede decir que el granuloma es una reacción lenta y defensiva del hueso alveolar ante la irritación proveniente de material necrótico de una pulpa necrótica. (5)

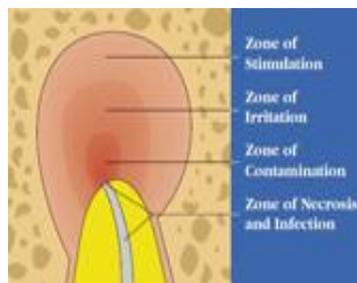


Fotos tomadas de soares I.J. Golberg F., "Endodoncia Tecnica y Fundamentos".

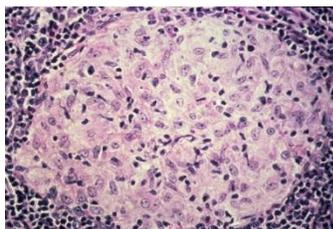
La causa de la alteración es la muerte pulpar seguida de irritación o infección suave del tejido periapical. En algunos casos es precedida de un absceso alveolar crónico.(6)

Histológicamente el tejido periapical es estéril. Un granuloma no es un sitio donde las bacterias vivan, sino que son destruidas. Red capilar rica, fibroblastos, linfocitos y células plasmáticas. Macrófagos y células gigantes (2)

Zonas esquemáticas de un granuloma periapical:



- zona de infección,
- contaminación,
- irritación y
- estimulación



Imágenes tomadas de Grossman, Louis. Practica endodòncica.

Un granuloma se desarrolla cuando los mecanismos inmunológicos tratan de contener un agente dañino que es difícil o imposible erradicar. En varios sitios corporales, es caracterizado por una participación fuerte de respuesta celular inmune. (3)

### **QUISTE RADICULAR**

Al quiste radicular también se le llama quiste apical, periodontal, apical o radicular. Esta lesión es un pequeño saco, su centro está lleno de líquido o material semisólido cubierto internamente con epitelio y externamente con tejido conectivo fibroso (2,3)

Se presenta de 3 modos diferentes:

- Periapical: Se sitúa en el espacio relacionado con el ápice dental.
- Lateral: Está en dependencia de un conducto lateral accesorio o de una falsa vía producida endodóncicamente.
- Residual: Relacionado con un diente ausente en la arcada, ya extraído y que ya presentaba esta lesión.(4)

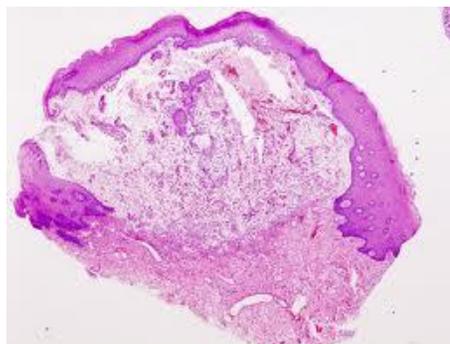
El quiste se puede deber a un daño físico, químico o bacteriano que resultó de muerte pulpar, seguida de estimulación de los restos epiteliales de Malassez.(1)

La transformación de estas células epiteliales en quistes puede ocurrir por caries con consiguiente necrosis pulpar, se forma un granuloma como reacción defensiva hiperplásica frente a un estímulo inflamatorio persistente y no intenso. La proliferación de las células epiteliales se hace de modo irregular, las células situadas en el interior sufren una degeneración hidrópica y se necrosan, formando una cavidad llena de líquido. Por otro lado, las células plasmáticas de la vecindad son asiento de la degeneración grasa y se incorporan al contenido líquido. (3)



Imágenes tomadas de Estrela C. "Ciencia endodóncica"

Histológicamente, un quiste periapical es muy similar al granuloma excepto por la presencia de una cavidad patológica recubierta internamente por epitelio el cual contiene un líquido o un material semisólido compuesto fundamentalmente de células epiteliales degeneradas, su recubrimiento es usualmente epitelio escamoso estratificado con anchura variable. En raras circunstancias, los quistes periapicales están recubiertos por un epitelio ciliar columnado que también ha sido descrito. Cristales de colesterol también han sido reportados.(3)



Imágenes tomadas de Estrela C. "Ciencia endodóncica"

## **CAPITULO 2.**

### **Factores etiológicos en conductos radiculares con lesión periapical**

#### **Necrosis Pulpar**

La necrosis pulpar, es un término que se le acuña a la muerte del tejido pulpar; se refiere a una condición histológica originada por una alteración pulpar no tratada que originó una falta de riego sanguíneo y por ende la muerte del tejido pulpar. (2)

La necrosis puede ser parcial o total de acuerdo al tiempo de evolución del trastorno. (3)

La necrosis total es asintomática antes de afectar al ligamento periodontal, puesto que los nervios de la pulpa se encuentran afectados, por lo cual no responderá a pruebas térmicas de calor y frío, sólo en algunos casos se observa un cambio de coloración del diente afectado, pero no es muy confiable este signo para poder diagnosticar correctamente dicha alteración.(1,2)

La necrosis parcial, es una alteración complicada de diagnosticar, dado que puede manifestar algunos de los síntomas asociados con la pulpitis irreversible, ya sea porque una parte del mismo conducto radicular aún no presenta del todo una necrosis o porque el diente presenta más de un conducto radicular. (2,4,7)

## **Inicio de la colonización bacteriana.**

Diversas situaciones de la práctica odontológica dan como resultado una colonización al sistema de conductos, como son: infiltración a través de la obturación, micro grietas en el esmalte y la dentina, fracturas coronarias, túbulosdentinarios provenientes de bolsas periodontales, conductos laterales. (1)

Una inflamación pulpar progresiva, como consecuencia de la interacción de las bacterias y sus productos con los mecanismos de defensa del tejido pulpar. Los mecanismos de defensa del cuerpo actúan en contra de la microbiota desde el momento en que los primeros microorganismos entran en el conducto radicular.(3)

Las toxinas bacterianas y los mediadores inflamatorios que viajan por la sangre desde la pulpa a la zona periapical, pueden producir una lesión en esta zona. Una vez que el tejido pulpar pierde su vitalidad, se queda sin células de defensa para contrarrestar el crecimiento y la diseminación de los microorganismos. (2)

Se considera que los microorganismos y sus productos son el principal factor implicado en el desarrollo de la lesión periapical. El entorno anaerobio de los conductos radiculares permite que sobrevivan determinados tipos de microorganismos debido a ésto, la composición de la flora bacteriana de los conductos radiculares difiere del entorno periodontal y oral.(1)

## **Colonización microbiana del sistema de conductos radiculares.**

Los microorganismos acceden al sistema de conductos radiculares por la corona o por la raíz a través de aberturas cariosas. Algunos investigadores han encontrado que las bacterias invasoras son en su mayoría cocos o bacilos anaerobios Gram positivos, además de ello también se detectaron especies Gram negativas, ésto depende de las fuerzas ecológicas, como los

nutrientes, presencia o ausencia de oxígeno y la habilidad de adaptación y supervivencia de las bacterias. (1,3)

Los microorganismos pueden quedar suspendidos en las paredes del conducto radicular formando colonias, éstos producen una matriz amorfa similar a la placa, con condensaciones bacterianas sencillas o multiestratificadas. Los cocoides y los bacilos son más abundantes en la parte coronal, los filamentos y las espiroquetas predominan en la pared apical.(2,9,10)

La reabsorción en la superficie radicular y la pérdida del cemento, (que generalmente está presente en el ápice radicular de la periodontitis apical crónica) facilita la penetración bacteriana en la dentina y así todo el sistema de conductos radiculares. (2,3)

### **Condiciones para la colonización bacteriana del sistema de conductos radiculares.**

La ecología de los microorganismos depende de una variedad de factores, incluyendo nutricionales, cantidad de oxígeno, condición pulpar, vía de infección, competencia y colaboración interbacteriana. Cuando la invasión se produce a través de la vía normal por caries dentaria, en la microbiota inicial se encuentran en gran parte bacilos y cocos Gram-positivos. (5,10)

Los factores nutricionales son fundamentales para el crecimiento microbiano, éstos los proporciona la pulpa necrótica y el exudado inflamatorio, el cual contiene elementos séricos y hemáticos que fomentan la proliferación bacteriana. Al haber una baja disponibilidad de oxígeno en los conductos radiculares infectados, se favorece el crecimiento de bacterias anaeróbicas facultativas y posteriormente anaerobias estrictas. (1,9,11)

La interacción de sinergismo y de cooperación es una cadena de reacciones, en donde un microorganismo a través de su metabolismo garantiza la fuente de un nutriente esencial que es requerido; pero no sintetizado por otro miembro de esa población.(10)

### **Tipos de colonización bacteriana en endodoncia.**

Las colonizaciones bacterianas endodóncicas pueden ser clasificadas de acuerdo a la localización anatómica en Intra o extra-radicales, a su vez se subdividen en tres categorías: La infección Primaria, Secundaria, y la Persistente, dependiendo del tiempo en que los microorganismos se establecieron dentro del conducto radicular, la composición de la microbiota puede variar en función de los diferentes tipos de infección.(1,7)

#### **Colonización primaria**

En ésta, los microorganismos inicialmente invaden y colonizan el tejido pulpar necrótico, dominado por bacterias anaeróbicas, sin embargo se pueden encontrar algunos facultativos de forma común.(7)

#### **Colonización secundaria**

Los microorganismos que estaban presentes en la infección primaria, se introducen en el sistema de conductos radiculares, la entrada puede ser durante el proceso de necrosis de la pulpa, el sellado ineficiente de la restauración provisional entre citas o incluso después de la obturación del conducto radicular.(6,7)

#### **Colonizaciones persistentes**

Los microorganismos pueden resistir procedimientos antimicrobianos y soportar períodos largos con la privación de nutrientes, a esto también se le denomina infección recurrente, en donde los microorganismos involucrados son los restos de una infección primaria o secundaria. La microbiota

asociada a infecciones persistentes se compone generalmente de menos especies que las infecciones primarias, siendo las Gam positivas o bacterias anaerobias facultativas, las que más predominan.(5)

Los hongos también se pueden encontrar más significativamente, en comparación con las infecciones primarias. Las infecciones persistentes y secundarias, son las más comunes y es difícil distinguir las clínicamente, motivo por el cual se puede ser responsable al diagnosticar un mal procedimiento clínico, provocando síntomas persistentes y llegando hasta el fracaso del tratamiento endodóncico.(5,7)

### **Colonizaciones extraradiculares**

Se caracteriza por la invasión microbiana y su proliferación en la inflamación de los tejidos periapicales, provocando la complejidad del caso. La colonización extraradicular depende de la colonización intraradicular, al presentarse la situación anterior, se asume especial relevancia desde un punto de vista terapéutico, si se quieren obtener resultados favorables.(7,8)

Una mejor comprensión de la enfermedad y el desarrollo de estrategias terapéuticas eficaces de los antibióticos, depende del conocimiento de la infección, puesto que el resultado ideal del tratamiento de endodoncia se basa en la eliminación de los microorganismos. (6,7)

### **Biofilm en endodoncia**

Los microorganismos en los conductos radiculares se organizan conformando un biofilm, así mismo su formación depende de la especie microbiana que reside en ellos, la superficie del sustrato o la composición y el recubrimiento de la capa de acondicionamiento de las superficies sobre las que se forman. (12)

La microbiota endodóncica es más diversa en comparación con la microbiota bucal, además de ello es más evidente en el progreso de la infección al ser alterado el estado nutricional y ambiental del conducto radicular, ya que el entorno se hace más anaeróbico. Estos cambios ofrecen un nicho ecológico para la supervivencia de microorganismos.(7,8,10,20)

Los microorganismos persisten en la complejidad anatómica como istmos, deltas y en la parte apical del sistema de conductos radiculares, así como en regiones más allá del foramen apical, estas complejidades anatómicas y geométricas de sistemas de conducto son un refugio de las bacterias.(6,7)

El biofilm ofrece otras ventajas a las bacterias, entre las cuales se citan las siguientes:

1. La resistencia a los antimicrobianos.
2. Aumento de la concentración local de nutrientes.
3. Oportunidades para el intercambio de material genético.
4. Capacidad de comunicación entre las poblaciones de bacterias de la misma y/o especies diferentes (*quorum sensing*), éste es un mecanismo de las bacterias Gram positivas y Gram negativas.
5. Producen factores de crecimiento entre especies diferentes.(9,11,20)

## CAPÍTULO 3.

### ESTREPTOCOCOS

#### GENERALIDADES

Dentro de la medicina encontramos gran número de microorganismo, pero cabe mencionar a un grupo muy peculiar que son los estreptococos, los cuales son parte de los grupos Gram positivos así como ser catalasa negativos y microorganismos inmóviles. (10,11)

Así mismo, en éste género los de mayor importancia son el estreptococo y el enterococcus, los cuales presentan una forma ovoide y redondeada, estos microorganismos se pueden presentar en diplococos o en cadenas de cocos, la mayoría de ellos son capaces de crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, por tal motivo se le confiere el término de anaerobios facultativos. (9,12,13)

#### ***Enterococcus faecalis***

A partir de 1988 el género *estreptococcus* fue clasificado como grupo D, *Streptococci Enterococcus* es un género de cocos anaerobios facultativos Gram positivos, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*,son las especies de *Enterococcus* más representativos, siendo *E. faecalis* el patógeno más común que puede causar infecciones del tracto urinario, infecciones abdomino-pélvica, endocarditis infecciosa y prótesis de articulaciones, entre otras. (11,14)

Por medio de sus características físicas puede sobrevivir en medios hostiles como en el suelo, agua, plantas, animales, insectos, sí como en la comida, además de ello tienen la característica de invadir partes del cuerpo como mucosas y piel (10,11)

Para que éstos microorganismos puedan desarrollarse primeramente tienen que adherirse a un hospedero, lo cual pueden realizar a través de adhesivos específicos que tienen en su matriz extracelular, además de ello para que el proceso de invasión se lleve a cabo, el enterococo debe encontrar un medio ambiente adecuado para sobrevivir con potencial de oxidoreducción, abundantes nutrientes, leucocitos fagocitarios y otras defensas del hospedero atenuadas. (10,12,15)

### **Características**

*E. faecalis* es un coco Gram positivo que puede aparecer solo, en pares o cadenas, éstas células pueden presentarse como coco-bacilos cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de placas de Agar, además pueden aparecer como ovals o cadenas cuando se realiza la tinción de Gram en muestras provenientes de caldo de tioglicolato.(9,11,13)

Este microorganismo presenta características de anaerobio facultativo y su crecimiento ocurre a 35°C aunque se puede observar crecimiento en temperaturas que oscilan de los 10 y 45° C (11,12)

*E. faecalis* contiene una pared celular con antígeno del grupo D, el cual es un ácidolipoteicoico glicerol intracelular que se relaciona con la membrana citoplasmática, dicha pared celular está constituida por peptidoglicanos y ácido teicoico. (9,16)

Esta bacteria presenta una habilidad de crecer en medios tanto ácidos como alcalinos, donde normalmente otros microorganismos no podrían sobrevivir. (16)

## Factores de virulencia

Enterococos como *E. faecalis* han demostrado tener una característica de intercambiar material genético entre microorganismos del mismo género al igual que con otros, ésto se puede llevar a cabo por medio de la transcripción del material genético hacia otros microorganismos. (10,15,17)

Ante la premisa anteriormente mencionada, esta capacidad es de suma importancia para producir patologías en el huésped, ya que ésta tiene relación con la eficacia de sobrevivir y de tal forma colonizar el medio. (11,12,16)

La colonización de esta bacteria depende de diversos aspectos que afectan a dichas capacidades y se denominan factores de virulencia, entre los cuales se destacan los siguientes:

1. Sustancia de agregación: Esta sustancia provoca alteraciones en la superficie de la bacteria donadora, haciéndola más adherente a la célula receptora y de esta manera ayudar a que se facilite la agrupación para que se realice el intercambio genético y en consecuencia hacer más resistente a las cepas de *E. faecalis* y a otras especies. (9,14,15)
2. Proteínas de adhesión: *E. faecalis* presenta en su pared celular numerosas proteínas de superficie, cada una cumpliendo una función específica, relacionadas con la formación de biofilm y con la adherencia del microorganismo a las proteínas de la matriz extracelular. (11,12,16)
3. Feromonas sexuales: Las feromonas sexuales son péptidos hidrofóbicos codificados cromosomalmente a lo largo de 7 u 8 aminoácidos, los cuales promueven la transferencia conjugativa de plásmidos de ADN entre las cepas, favoreciendo así el intercambio de material que permite que la bacteria sea más resistente. (10,12)

4. Ácido lipoteicoico: Estos ácidos son segregados para estimular la respuesta leucocitaria y liberar así numerosos mediadores químicos, los cuales son importantes en varias fases de la respuesta inflamatoria.(11,15,16)

5. Gelatinasa: Es una metaloproteinasa extracelular que contiene zinc, ésta es importante para hidrolizar gelatina, colágeno, fibrinógeno, caseína, hemoglobina, algunos péptidos relacionados con las feromonas sexuales y otros péptidos. (10,12)

6. Hialuronidasa: Ayuda con la proliferación bacteriana, así como de sus toxinas a través de los tejidos del hospedero.(8,11,15)

7. Hemolisina: Es una enzima tóxica codificada por plásmidos, capaz de destruir eritrocitos, neutrófilo polimorfonucleares y macrófagos, matar células bacterianas y reducir la fagocitosis.(10,12)

### **Enterococcus faecalis en las infecciones endodóncicas.**

*E. faecalis* es un huésped natural de la microbiota del hospedero de acuerdo a las características y condiciones de éste podemos encontrar a *E. faecalis* en diferentes lugares como en el dorso de la lengua, así como dentro del sistema de conductos radiculares. (15,17)

*E. faecalis* invade los túbulos dentinarios facilitando su protección, por lo que la preparación quimio-mecánica de conductos radiculares y la medicación intraconducto, son ineficaces para su eliminación. (19)

La premisa anteriormente citada, es gracias a que posee una variedad de factores que le confieren la capacidad de predominar en un ambiente bajo en

nutrientes y crecer dentro de los túbulos dentinarios, facilitando su adherencia. (12,20)

Además de ello, tiene la capacidad de coagregarse con una variedad de estreptococos, como lo son *Streptococcus gordinii*, *S. mutans* y *S. sániginis*, así como también *Candida albicans*. (10,11,20)

## **Incidencia**

En colonizaciones endodóncicas primarias así como en las provocadas por necrosis pulpar, se caracterizan por presentar una micro flora mixta, misma que puede presentar microorganismos Gram positivos y Gram negativos. (9,18)

Generalmente se pueden encontrar más de tres especies distintas de microorganismos dentro de un conducto radicular. (27)

En un estudio realizado por que Siqueira y Rocas, observaron la presencia de cepas de *Enterococcus faecalis* en infecciones endodóncicas primarias, en el cual obtuvieron que en 18% de las de los casos recopilados presentaban ésta cepa, provocando posteriormente una reincidencia de las lesiones periapicales. (13)

La microbiota dentro del conducto radicular puede ser resistente, no sólo por sus características físicas, sino también porque pueden sobrevivir a procedimientos biomecánicos o se encuentran en partes donde la lima o el irrigante no pueden acceder tan fácilmente como son los deltas apicales o conductos no encontrados, así como un mal control de la asepsia y medidas de aislamiento que propician que exista una contaminación corono apical ya sea en el momento biomecánico (limas contaminadas), obturación (contaminación del material obturador), una tardía o inadecuada reconstrucción del diente afectado. (5,7)

Por consiguiente, lo antes mencionado nos sirven para asegurar que la microbiota encontrada después del fracaso endodónico es diferente a una infección primaria o en dientes ya con necrosis y por ende se tienen que tomar medidas adecuadas para combatir realmente a esta flora resistente. (2,4,13,20)

La microbiota de dientes con tratamiento de conductos previa y periodontitis apical, se caracteriza por una mono-infección (presencia de una o dos especies) con predominio de microorganismos Gram positivos y mayormente especies anaerobias facultativas. (27)

Los microorganismos anaerobios facultativos son menos sensibles a las terapias antimicrobianas y gracias a esto persisten con mayor frecuencia en el sistema de conductos radiculares, luego de procedimientos endodónicos inadecuados. (10)

Estos microorganismos pueden sobrevivir en una fase de latencia, con una actividad metabólica baja por un período de tiempo largo, así como de la filtración de saliva durante o después del tratamiento endodónico, mismas que pudiesen cambiar las condiciones nutricionales y de ésta manera desencadenar la colonización bacteriana. (3,10,20)

Algunas de las características requeridas por el microorganismo para entrar y establecerse por primera vez dentro del sistema de conductos radiculares son similares a los de los microorganismos presentes en una pulpa necrótica, como la habilidad para encontrar nutrientes, competir con otros microorganismos y evadir las defensas iniciales del hospedero.(3,18)

Numerosos estudios señalan que *E. faecalis* es un microorganismo prevalente de las lesiones endodónticas persistentes, con porcentajes que varían desde 12 a 77%, su habilidad para causar enfermedades periapicales

y fracasos endodóncicos, se debe a su capacidad de invadir los túbulos dentinarios y mantenerse viable dentro de ellos.(13,18,19,20)

### **Resistencia**

*E. faecalis* tiene la capacidad de formar biofilm, donde las estructuras están altamente organizadas, encerrado en una matriz de producción propia exopolimérica, dicha matriz dificulta la penetración de agentes en el biofilm, lo que limita su eficacia. (17,19,20)

Este microorganismo presenta una gran resistencia a muchos de los antibióticos que se presentan actualmente debido a la transcripción de genes entre la misma bacteria que la ayudan a resistir los efectos de antibióticos, betalactámicos, aminoglucósidos y la clindamicina, así como la capacidad de resistir el pH alto. (10,16)

El desarrollo y modificación del biofilm formado por *E.faecalis* en el conducto radicular, así como su penetración dentro de los túbulos dentinarios se ve modulada por las condiciones del sistema de conducto radicular.(17,19,20)

### **Prevalencia**

*E. faecalis* puede resistir diferentes condiciones ambientales y nutricionales, está presente en raíces de dientes con fracaso endodóncico y también podría ser encontrado en los conductos radiculares con afecciones periodontales persistentes. (5,6,13)

Por medio de varios estudios como el de Bettina R., Sarab Heward, Jung Eun, se ha demostrado que la acción del hidróxido de calcio no es suficiente para la eliminación de *E. faecalis* dentro del sistema de conductos radiculares, por consiguiente se sugiere la combinación de otro antimicrobiano a la acción antiséptica del hidróxido de calcio. (16,35,36)

## **Erradicación de *Enterococcus faecalis*.**

Uno de los objetivos biológicos de la terapia endodóncica, es la eliminación de los microorganismos del sistema de conductos radiculares, debido a la anatomía compleja del mismo, una desinfección efectiva sólo se logra con una adecuada preparación biomecánica junto con la acción de los irrigantes antimicrobianos.(4,7,17,21,35)

Bonnie Retamozo y Sbabrokb, evaluaron la concentración de hipoclorito de sodio para poder eliminar a *E. faecalis*, de mostrando que al 5.25% a los 40 minutos se eliminaba completamente a éste, demostrando de tal forma que a mayor tiempo de exposición y mayor concentración al hipoclorito de sodio es mejor la descontaminación del sistema de conductos radiculares. (21)

En otros artículos se menciona que la actividad antimicrobiana de NaOCl en diferentes concentraciones; siendo las concentraciones del 0.5% y 1% capaces de erradicar a *E. faecalis* a los 15 segundos. (14,23,27)

José F. Siqueira Jr. y Rocas, estudiaron el efecto antibacteriano del NaOCl al 0.5%, 2.5% Y 4%, clorhexidina al 2%, ácido cítrico al 10% Y EDTA al 17% sobre *E. faecalis*, donde se concluyó que NaOCl a una concentración del 4% obtuvo los mejores resultados contra *E. faecalis*. (22)

José F. Siqueira Jr, evaluó la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio y clorhexidina contra *E. faecalis*, concluyendo que el hidróxido de calcio solo, fue significativamente menos eficaz que si se combina con la Clorhexidina, ésto nos ayuda a corroborar la resistencia de *E. Faecalis* frente al hidróxido de calcio. (29)

Trisba A. Krausse y Federick Liewebr, demostraron que la actividad antibacteriana de las soluciones fue directamente proporcional a la

concentración usando MTAD(Mixture of Tetracycline Acid and Detergent, es un irrigante constituido por una mezcla de un isómero de tetraciclina (doxiciclina), un ácido, y un detergente amonio cuaternario, ya que éste mantiene su eficacia frente a *E. faecalis* cuando se diluye a 0.75 ml.; el NaOCl fue eficaz a una concentración del 0.5%. (29)

## CAPÍTULO 4

### CANDIDA ALBICANS

#### **Características**

Este microorganismo, es un tipo de flora endógena, esto quiere decir que es huésped dentro de nuestro organismo, el cual se mantiene en equilibrio si las condiciones de su medio son adecuadas, pero si dicho equilibrio se rompe, se presentan como organismos oportunistas que se instalan en las infecciones secundarias después de una infección bacteriana (30,33)

El primer contacto que tenemos con este microorganismo es al nacimiento, en el paso del bebé por el tracto vaginal, sin embargo, la podemos encontrar en diferentes lugares de nuestro cuerpo como mucosa bucal, mucosa vaginal, tracto digestivo, inclusive hasta en la piel, cabe destacar que el primer contacto es crucial para una colonización de este microorganismo cuando nacemos. (30)

#### **Composición de la pared celular**

Según Madigan y Cols, contienen una pared celular rígida compuesta por celulosa, polisacáridos, además poseen en su pared un 80-90% de carbohidratos, dentro de las cuales se encuentran las proteínas, lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos (31,32)

#### **Morfología de *Candida Albicans***

Madigan y Cols, mencionan que normalmente son células ovales o cilíndricas que presentan pseudomicelios por alargamiento de células que no llegan a desprenderse y micelio cuando llegan a desprenderse, poseen estructuras tubulares denominadas hifas las cuales crecen en ramificación.(31)

*Candida albicans* es una levadura potencialmente patógena que causa infecciones, necesita estar en su forma filamentosa o pseudomicelial para ser verdaderamente patógena. (32)

### **Reproducción**

La reproducción se realiza por gemación de 2.5um x 4 y 6 um, se origina una pequeña yema que aumenta de tamaño gradualmente y se separa de la célula madre. (31)

### **Factores de virulencia**

La virulencia de *Candida albicans*, está determinada por la producción de clamidosporas típicas de este género y las hacen diferentes del resto, ya que incrementa su patogenicidad. Además se ha demostrado que también va a depender de otros factores como:

-Producción de hifas, mismas que permiten la adherencia al tejido mineral. Hifas que, a medida que crecen, dan lugar al tubo germinal, el cual es un apéndice largo con crecimiento hacia afuera.

-Pseudomicelios o micelios. (31,32,38)

### **Fases de infección de *Candica Albicans***

Para desarrollar el proceso de infección el género *Candida albicans* presenta varios estadios como son:

#### **1.- Invasión y colonización**

*Candida albicans*, es capaz de ingresar por medio de sus hifas a los túbulos dentinarios y sobrevivir a baja tensión de oxígeno molecular, gracias a:

-Fuentes nutritivas: Pulpa necrótica.

-Las interacciones microbianas

-Exudado inflamatorio que contiene elementos séricos y hemáticos, los cuales son producto de alteraciones inflamatorias pulpares y periapicales.

Si se presenta una comunicación entre el espacio pulpar y el medio bucal, la saliva aportará elementos que fomentarán su crecimiento bacteriano. (33,38)

## 2.- Penetración y producción de enzimas hidrolíticas

La producción de tubos germinales de *Candida albicans* que luego se transforman en largas hifas, facilita y permite la penetración por los espacios intracelulares. (32,38)

### ***Candida albicans* en endodoncia.**

Esta levadura se encuentra en las infecciones endodóncicas persistentes debido a su virulencia y morfología capaz de vivir en zonas inaccesibles. Está involucrada en la infección extra e intraradicular persistente, junto con *Enterococcus faecalis*, ya que son capaces de resistir los cambios de ambiente efectuados durante y después de la terapia endodóncica, de ésta manera se involucra en el fracaso del tratamiento de conductos (31)

La presencia de *Candida albicans* es básicamente infrecuente (10%) en infecciones primarias de conductos radiculares a diferencia de las infecciones persistentes, donde *Candida* y *Enterococcus* en toda la flora son los más predominantes. (10,30,31)

## Resistencia

La resistencia de un microorganismo se define como la capacidad de resistir métodos de eliminación, esto se debe principalmente a las características de virulencia y la capacidad del microorganismo a sobrevivir a medios hostiles para él. (31)

En el estudio de Waltimo sobre la prevalencia de Candida, menciona que la cepa más encontrada en tratamientos endodóncicos re infectados es Candida albicans con un 60% de todas las muestras, por lo que él concluye que esta levadura está íntimamente relacionada con periodontitis apical crónica, también menciona que eso se debe a que existe un sinergismo con otros microorganismos como *E. faecalis* para que puedan sobrevivir en este medio. (22, 27,32)

Se a reportado la presencia de microorganismos resistentes a la terapia endodóncica, de esta manera se evidenció la presencia del crecimiento microbiano, el cual consiste básicamente en *Candida albicans* y bacterias como *Enterococcus*. (32,33)

En un estudio microbiológico con microscopia electrónica de barrido a muestras radiculares con periodontitis apical crónica persistente, después del tratamiento quirúrgico apical, se demostró la presencia de cocos, bacilos y levaduras adheridas a la superficie radicular seleccionada. (10,11,33)

Spratt publica que la persistencia de Candida está relacionada con el biofilm bacteriano, misma que afecta a la difusión e ingreso a los túbulos dentinarios de la solución irrigante. Sundqvist adicionalmente refiere que, la interacción de la solución irrigante con los fluidos del tejido, sangre y dentina, son capaces también de inactivar el químico, perdiendo su potencial antimicrobiano y de ésta forma no ataca a la levadura. (10,32,33)

## **Erradicación de *Candida Albicans***

En camino de evaluar y determinar mecanismos de eliminación de estos patógenos, se han realizado estudios sobre la sensibilidad de *Candida albicans* a ciertas soluciones antisépticas y medicamentos endodóncicos. (31,33,34)

Varios autores han demostrado la efectividad de la clorhexidina en gel como medicamento intraconducto, en comparación con otros irrigantes como: el hipoclorito de sodio al 1% para eliminar el *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*, por lo que concluyeron que la clorhexidina tiene la actividad antimicrobiana más potente contra levaduras y bacterias. (33)

Según los resultados obtenidos por el estudio de Siqueira, donde fue evaluado in vitro la actividad antimicrobiana de la clorhexidina e hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones, sobre diversos microorganismos entre los cuales se encontraba *Candida albicans*, demostraron que la clorhexidina al 2% en el gel y líquida, es capaz de eliminar a *Candida albicans* en 15 segundos. (22)

En estudios realizados por Hayhan y Cols, sobre la eficacia antimicrobiana de varios irrigantes ante *Candida albicans*, determinaron que el hipoclorito de sodio al 2% e inclusive sobre la clorhexidina al 2%. (33)

En otros estudios se evaluó la eficacia de hipoclorito de sodio ante *Candida albicans* y *Enterococo faecalis* demostrando que el hipoclorito de sodio es eficaz contra *Candida albicans* en una concentración al 2%. (10,33)

Se han realizado otros estudios en busca de encontrar sustancias capaces de eliminar letalmente a esta levadura, por lo cual se sugiere que el EDTA produce inhibición del crecimiento de microorganismos micóticos como la *Candida albicans*, por lo tanto concluyeron que aunque el EDTA no se

comporta como antifúngico puede inhibir el desarrollo de las hifas y esporas, de ésta manera ataca a la levadura. (33,40)

## CAPÍTULO 5

### **Diversos métodos para la eliminación de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.**

El principal objetivo de la terapia de conductos radiculares, es la eliminación de los microorganismos, estos es un poco difícil de lograr ya que nos podemos encontrar ante anatomías complejas del conducto, deltas apicales curvaturas radiculares muy pronunciadas, por lo tanto una desinfección efectiva sólo se logra con una adecuada preparación biomecánica junto con la acción de los irrigantes antimicrobianos. (1, 3, 7).

Como se ha mencionado anteriormente, *E. faecalis* y *C.albicans* han sido asociadas a las lesiones periapicales persistentes y gracias a sus características y a la presencia de determinados factores de virulencia, estos microorganismos son capaces de sobrevivir en medios hostiles para ellos, así como de invadir espacios donde acciones como la preparación biomecánica, la colocación de medicación intraconducto o la utilización de irrigantes no son capaces de actuar y eliminarlos. (1,2, 5,14)

A continuación se expondrán diversos estudios donde se trata de controlar la presencia de *E. faecalis* y *C.albicans* bien sea con medicación local como irrigantes o medicación intraconducto,. (15,23,28,34)

## Irrigantes

### Hipoclorito de sodio.

El hipoclorito de sodio es la solución irrigadora más utilizada en la práctica endodóncica actual, ya que reúne las condiciones ideales de un irrigante, por su efectividad para eliminar tejido vital y no vital, además de poseer un amplio efecto antimicrobiano, eliminan rápidamente bacterias, esporas, hongos y virus. (2,5,7)

Las ventajas del hipoclorito de sodio son:

- Tiene un pH alcalino entre 11.5 a 11.7.
- Es excelente lubricante y blanqueador.
- Posee una tensión superficial baja.
- Posee una vida media de almacenamiento prolongada
- Disuelve tejido vital y no vital.
- Amplio efecto antimicrobiano.

Las desventajas del hipoclorito de sodio son:

- Es irritante citotóxico para el tejido periapical si éste es extravasado.
- Sabor inaceptable
- No remueve la capa de desechos, ya que sólo actúa sobre la materia orgánica de la pulpa y predentina. (3)

Las concentraciones con aplicación clínica se presentan desde el 0.5% hasta el 5.25%, las diluciones que se practiquen a estas concentraciones están directamente relacionadas con la disminución significativa de las propiedades: antimicrobianas, tóxicas, disolutivas del tejido y propiedad de desbridamiento del conducto.

Bonnie Retamozo, Neal Johnson en el 2010, afirman que la única concentración capaz de volver no viables a las bacterias, es el hipoclorito de sodio al 5.5 aunque también depende de su tiempo de exposición. (21)

Jose F. Siqueira y Karen M. en el 2007, estudiaron la inhibición bacteriana de varias soluciones y llegaron a la conclusión de que el hipoclorito de sodio al 2.5% era mejor irrigante que el hidróxido de calcio. (22)

Trissha A., demostró que el hipoclorito de sodio al 5.25% o al 2.6% tiene el mismo efecto cuando se utilizan en endodoncia durante un periodo de 5 minutos. (24)

### **Factores que afectan las propiedades del hipoclorito de sodio.**

Se ha reportado que factores como el aire, la luz, la temperatura, los metales y los contaminantes orgánicos afectan la eficacia de la solución. (2,3,)

### **Acción del hipoclorito a diferentes temperaturas.**

El hipoclorito de sodio al 5.25% y al 2.6% es igual de eficaz a una temperatura corporal de 37°C., sin embargo a temperatura ambiente (21°C), la solución al 2.6% resultaba menos eficaz. (23)

Ante esto se comprueba que al aumentar la temperatura al hipoclorito de sodio mejora el desbridamiento, las propiedades bactericidas y disolutorias y que este aumento no afecta la estabilidad química de la solución, sin embargo se presentan desventajas como que solo se mantiene estable por 4 horas y luego se degrada, aunque se recomiendan ciertas precauciones ya que no se sabe qué daño puede causar a los tejidos periapicales. (3,14,22,23,25)

### **Efectos de la dilución del hipoclorito.**

Es un factor importante la disolución de las soluciones, ya que a menor concentración menor acción, por lo tanto en disoluciones menores las propiedades del hipoclorito de sodio disminuyen. (26)

Cuando se diluye el hipoclorito de sodio, por temor a su acción irritante en caso se sobrepasar el ápice con la irrigación se presenta la desventaja de que se reduce la acción antimicrobiana, acción de desbridamiento y disolución del tejido.

Las ventajas de diluir el hipoclorito de sodio es la disminución de la acción irritante en caso de sobrepasar el ápice con la irrigación, pero las desventajas que se presentan son mayores ya que se reduce la acción antimicrobiana, así como también la acción de desbridamiento y la disolución del tejido. (1,2,5,7,13)

Se ha demostrado que a mayor concentración el hipoclorito de sodio es más eficaz, por lo tanto la penetración en los túbulos dentinarios es mayor. (26)

### **Combinación de hipoclorito de sodio y clorhexidina.**

Al alternar el empleo de hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina se obtiene como resultado la reducción de la flora microbiana en un mejor porcentaje 84.6% a diferencia con el uso individual del hipoclorito de sodio que reduce la flora bacteriana en un 59.4% o gluconato de clorhexidina 70%. (35)

En esta combinación de hipoclorito de sodio y clorhexidina se recomienda emplear entre cada una de ellas un irrigante para eliminar del conducto radicular todo resto del irrigante anterior, ya que al mezclar hipoclorito de

sodio y clorhexidina se forma un precipitado de color café llamado paracloroanilina la cual forma cristales y oblitera los conductos dentinarios, además de que éste precipitado es una sustancia potencialmente carcinogénica, por lo tanto se recomienda utilizar EDTA, alcohol o agua bidestilada entre cada una de las irrigaciones de hipoclorito de sodio y clorhexidina, para evitar la formación de dicho precipitado. (35)

## **Clorhexidina**

La clorhexidina es una sustancia antiséptica de acción bactericida y fungicida. Pertenece al grupo de las biguanidas y se utiliza ampliamente en odontología en concentraciones de 0.2%, 0.12% y 0.10 % en presentaciones para el uso como colutorio o enjuague bucal. (3,5,9)

Esta solución puede aparecer como digluconato, gluconato o acetato de clorhexidina, sin existir diferencias en el mecanismo de acción de sus diferentes formas químicas. (3,4)

Las principales ventajas de la clorhexidina son las siguientes:

- Excelentes propiedades antibacterianas contra bacterias Gram positivas y negativas, levaduras, virus como el VIH.
- Un buen sustituto en pacientes alérgicos al hipoclorito de sodio.
- Indicado en dientes con ápices muy abiertos o en dientes con perforaciones.
- No causa inflamación periapical excesiva si se extravasa al periápice como lo hace el hipoclorito de sodio.
- No es cáustico.
- Fácil almacenamiento y manipulación.

- Tiene baja tensión superficial por lo que posee la capacidad de penetrar 100um de profundidad en los túbulos dentinarios. (1,3,5,6,15,22)

Presenta las siguientes desventajas:

- No disuelve el tejido pulpar.
- Causa toxicidad baja en los tejidos.

### **Efectos sobre *Enterococcus faecalis*.**

El digluconato de clorhexidina (CXH) ha sido recomendado para la irrigación del sistema de conductos radiculares infectados debido a su acción antimicrobiana y a su absorción por parte de los tejidos dentarios duros con una liberación gradual y prolongada a niveles terapéuticos, llamado frecuentemente efecto residual o sustantividad. Sin embargo, la inhabilidad de la clorhexidina de disolver tejido orgánico ha sido un problema. Se evaluó la actividad antimicrobiana del gel de CXH al 2% sobre *E. faecalis*, comparándolo con otros irrigantes como la CXH líquida al 2% y el NaOCl al 5.25%. (17)

Se ha encontrado que al momento de la muestra intermedia, no hay diferencias significativas en cuanto al irrigante utilizado y el número de colonias detectadas de *Enterococcus faecalis*; sin embargo a los 7 días de la preparación biomecánica, ambos tipos de CXH mostraron la menor cantidad de colonias formadas, muy por encima del NaOCl. Diferentes autores también apuntan que la CXH, tanto en presentación líquida como en gel, es absorbida por el esmalte y la dentina luego de 7 días de la instrumentación e irrigación de los conductos radiculares y a pesar de que el NaOCl fue igualmente efectivo en la exposición inicial, éste no presenta la propiedad de sustantividad.

Otros autores coinciden en afirmar que el tiempo requerido para la erradicación total del microorganismo fue inversamente proporcional a la concentración del mismo, así el gel de CXH al 2% detuvo el crecimiento del microorganismo al minuto, y el líquido de CXH al 2 % necesitó sólo 15-30 segundos de contacto para su erradicación. (17,37,38)

### **Efectos sobre *Candida albicans*.**

El gluconato de clorhexidina presenta propiedades antimicóticas, ya que impiden la adherencia de la levadura hacia los tejidos radiculares.

*La Candida albicans* es la especie de hongo más comunmente encontrado en el sistema de conductos radiculares o en conductos con nuevos casos reinfectados y se requiere entre 30 segundos a 15 minutos para ser eliminados por la clorhexidina en contacto directo ya sea en gel o en líquido. (38)

Se evaluó la efectividad de soluciones irrigantes como: hipoclorito de sodio al 1%, hipoclorito de sodio al 2%, Digluconato de clorhexidina al 2%, en especímenes contaminados con *Candida albicans* y sus resultados demostraron que la clorhexidina era mejor contra *Candida albicans*. (10)

Debido a las propiedades que la clorhexidina posee, es favorable también para el punto de vista restaurativo de las piezas dentales ya que al no destruir el colágeno permite mayor adhesión dentaria de los materiales restaurativos, por tanto, este medicamento es apropiado como irrigante cuando se va a restaurar el diente con materiales adhesivos. También la clorhexidina es utilizada como medicamento intraconducto, cuando se realiza tratamientos de varias citas, en combinación con el hidróxido de calcio para disminuir el dolor y la carga microbiana. (34,37,41)

## **MTAD®**

El MTAD, cuyo nombre se origina de las palabras en inglés Mixture of Tetracycline Acid and Detergent, es un irrigante constituido por una mezcla de un isómero de tetraciclina (doxiciclina), un ácido, y un detergente amonio cuaternario. Su presentación comercial se conoce como Biopure MTAD® (38,39,40)

### *Acción contra *Enterococcus faecalis**

Se ha encontrado una completa inhibición del *E. faecalis* por MTAD en un biofilm de 3 semanas pero se ha reportado que el MTAD tiene menos actividad antibacteriana en el *E. faecalis* pero tiene una actividad antibacteriana menor, si éste se encuentra formando un biofilm por su inhabilidad de penetrar a éste. (25)

Se ha combinado el MTAD con la nisina (es un antibiótico peptídico policíclico, usado como bioconservante, ésta es sintetizada de forma natural por la bacteria *Lactococcus lactis*) y se ha conseguido efecto antibacteriano significativo contra el *Enterococcus faecalis* logrando una sinergia contra este mejor que el MTAD solo. (26)

Kho y Baumgartner evaluaron y compararon la acción antimicrobiana de la irrigación con NaOCl al 1.3% y Biopure MTAD® y de NaOCl al 5.25% y EDTA en los 5mm apicales de dientes infectados con *E. faecalis*. El tiempo de irrigación final para ambos grupos fue de 2 minutos, en sus resultados no obtuvieron diferencias significativas en cuanto al número de colonias formadas cuando se utilizaron los dos tipos de irrigación final. (39)

Soley Arlan y Hatice Ozbilge en el 2011, realizaron un estudio comparando diferentes irrigantes como el propoleo, biopure MTDA, hipoclorito de sodio y clorhexidina, donde se demuestra que el MTDA tiene efectividad ante *Candida albicans* y *E. faecalis*, sin embargo en este experimento se hace visible la efectividad del MTDA ante *E. faecalis*, ya que necesita menor concentración y tiempo de exposición para eliminar esta bacteria en comparación a la eliminación de *Candida albicans*, donde necesita mayor tiempo de exposición y una elevada concentración del mismo. (40)

## **Medicación intraconducto**

### **Hidróxido de calcio**

El hidróxido de calcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), descubierto por Herman en 1920, ha sido la medicación intraconducto de elección para los dientes con lesiones periapicales persistentes, sin embargo numerosos estudios revelan la resistencia de *E. faecalis* y *C. albicans* a los efectos antibacterianos de dicha medicación. (4,18,)

El hidróxido de calcio presenta un ph de 12.6 lo cual nos indica que es una base fuerte, además es poco soluble en agua, esta sustancia se obtiene de la calcinación del carbonato de calcio que se transforma en óxido de calcio y mediante la hidratación de ésta obtenemos el hidróxido de calcio. (3)

El medicamento más utilizado actualmente es sin duda alguna el hidróxido de calcio, aunque varios estudios nos indiquen una inconsistencia en la disminución de cultivos negativos de la flora dentro del conducto radicular, por lo cual esto nos indicaría que esta sustancia puede tener ciertas limitantes al momento de desinfectar el conducto radicular.

El hidróxido de calcio ejerce efectos letales en las células bacterianas cuando se encuentran en contacto directo a esta solución, de esta manera la concentración de iones calcio es muy elevada alcanzando niveles que son incompatibles para supervivencia bacteriana.

Pero clínicamente este contacto no se puede dar tan fácil debido a la baja solubilidad del hidróxido de calcio que no le permite penetrar profundamente a los túbulos dentinarios, por consiguiente se puede encontrar dentro del conducto radicular con anatomías complejas, restos de tejido o biofilm que impiden el íntimo contacto del hidróxido de calcio con el microorganismo. (22)

Por lo antes citado se recomienda que el hidróxido de calcio se mezcle con otra sustancia que le ayude a mejorar su distribución dentro del conducto radicular y así poder tener ese íntimo contacto con los microorganismos y de esta forma lograr eliminarlos. (22)

### **Usos del hidróxido de calcio**

El hidróxido de calcio se puede utilizar para la eliminación de los microorganismos que puedan persistir en los conductos tras su preparación. (2)

El efecto antibacteriano del hidróxido de calcio es debido al aumento del pH provocado al liberarse iones hidroxilo, que inhibe el crecimiento bacteriano. Hay autores que opinan que el efecto antibacteriano del hidróxido de calcio podría deberse a que éste absorbe el dióxido de carbono, necesario para el desarrollo de microorganismos como *C. albicans* y *E. faecalis*. (3)

Se ha comprobado que el hidróxido de calcio hidroliza la fracción lipídica de los lipopolisacáridos, presentes en la pared celular de muchas bacterias anaerobias, favoreciendo la destrucción bacteriana. (5)

Controla el absceso periapical: mediante una disminución del exudado persistente en la zona apical. (1)

Siqueira y Rocas en el 2007, realizaron una comparación entre el hidróxido de calcio e hipoclorito de sodio al 2.5%, en el cual se demuestra que el hidróxido de calcio después de un lapso de 7 días en contacto directo con los microorganismos tuvieron una reducción del 90.9% entre los cultivos bacterianos. (22)

Sarab y Cristine Sedley en el 2011, realizaron un estudio comparativo entre el cambio de pH que provoca el MTAD y el hidróxido de calcio, en éste experimento se realizaron las pruebas de pH a las 3hrs., 24 hrs., una semana, dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, donde se obtuvo que a las cuatro semanas dentro del conducto radicular era igual entre MTAD y el hidróxido de calcio, ya que el pH es igual de alto, el hidróxido de calcio es un buen antimicrobiano, ya que ante pH tan elevados, microorganismos como *Candida albicans* y *E. fecalis* no pueden sobrevivir. (3,36)

SE REALIZO LA COMPARACION CON EL MTA NO CON EL MTAD

Jung Eun y Kyoung Soon en el 2011, efectuaron un estudio donde demostraron la efectividad del hidróxido de calcio ante el ácido lipoteicoico que es un componente principal de *E. fecalis* y por ende reduce la proliferación de esta bacteria. (16)

Estrela, realiza un estudio comparativo entre el hidróxido de calcio, el hipoclorito de sodio y la clorhexidina, en el cual nos demuestra que la

solución de hidróxido de calcio al 1% es efectiva para eliminar *Candida albicans*, en un periodo de 30 minutos de exposición a éste. (3)

Lynne, evaluó la actividad microbiana entre el hidróxido de calcio y combinaciones de éste con agua esterilizada y clorhexidina al 0.12%, en donde los resultados nos indican que la combinación entre hidróxido de calcio y clorhexidina es más efectiva que solo utilizar un irrigante (3)

## CONCLUSIONES

La microbiota encontrada en dientes con tratamiento de conductos previo y periodontitis apical se caracteriza por una monoinfección (presencia de una o tres especies) con predominio de microorganismos Gram positivos, y mayormente especies anaerobias facultativas, siendo el microorganismo más aislado *Enterococcus faecalis*, así como *Candida albicans*.

*Enterococcus faecalis* y *Candida albicans* poseen numerosos factores de virulencia, todos ellos importantes y fundamentales para su supervivencia y crecimiento dentro del sistema de conductos radiculares previamente obturado, donde las condiciones ambientales son pobres y la cantidad de oxígeno molecular y nutrientes son escasos o nulos, pero aún así estos microorganismos son capaces de sobrevivir no permitiendo la reparación de la lesión periapical

*Enterococcus faecalis* ha demostrado poseer la capacidad de formar biofilm entre especies del mismo género o con otros microorganismos, por tal motivo lo hace ser más resistente a los protocolos de limpieza y conformación del sistema de conductos radiculares durante la terapia endodóncica.

Muchos han sido los protocolos de irrigación utilizados para la erradicación de estos microorganismos; sin embargo la combinación entre el irrigante de elección en la terapia endodóncica, el hipoclorito de sodio y la clorhexidina al 2% han demostrado ser capaces de lograr la erradicación total de *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*.

Gracias a su capacidad de penetración dentro de los túbulos dentinarios y de adherirse a las paredes de colágeno de la dentina radicular, *Enterococcus faecalis* es capaz de resistir medicaciones intraconducto con altos valores de pH como el hidróxido de calcio. Sin embargo, al combinar las propiedades antibacterianas del hidróxido de calcio con la sustantividad de la clorhexidina al 2%, las tasas de erradicación del microorganismo son un poco más elevadas.

A pesar de que los irrigantes pueden penetrar dentro de los túbulos dentinarios, no significa que la concentración de dichos irrigantes sea suficiente para eliminar todo tipo de microorganismo presente y que la preparación biomecánica por sí sola no es capaz de erradicar al 100% la microbiota existente.

A pesar de haber citado muchos de los irrigantes y medicamentos utilizados en endodoncia, se ha demostrado que el hipoclorito de sodio es más eficaz para eliminar a *E. faecalis* mediante una exposición de tiempo mayor y al incremento de la temperatura de dicho irrigante, aunque tiene la desventaja de ser activo solamente cuatro horas después de su calentamiento.

La clorhexidina ha demostrado ser el mejor antimicótico, por ende puede eliminar a *Candida albicans* del conducto radicular en un tiempo relativamente corto.

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Gunnar Bergenholtz, Preben Horsted-Bindslev, Claes Reit. Endodoncia , Segunda edición, 2011
- 2.- Lima Machado ME. Endodoncia: de la biología a la técnica. Caracas; México, DF. Editorial; Amolca; 2009.
- 3.- Estrela C. Ciencia Endodóntica 1era edición, Editorial Artes Medicas Latinoamérica, 2005.
- 4.- Cohen S. , Hargreaves K.M. , Vias de la pulpa, Novena edición Editorial Elsevier, 2008.
- 5.- Leonardo M.R. Endodoncia Tratamiento de Conductos Rídiculares Principios Técnicos y Biológicos Volumen 1 Editorial Artes Medicas Latinoamérica, 2005
- 6.- Soares I. J. , Goldberg F. , Endodoncia Técnica y Fundamentos segunda edición, Editorial Panamericana, buenos aires argentina, 2012.
- 7.- Castellucci A. Endodontics, Editorial Florence, italy, 2004.
- 8.- Gutman J. L., Dumasha T. C. , Lovdahi P. E. , Soluciones de problemas en endodoncia Prevención, Identificación y Tratamiento, cuarta edición, Editorial Elsevier, 2007.
- 9.- Sherris. Microbiología Médica, 4º edición, Editorial McGrawwHill, 2004.
- 10.- Brock TD, et al. Biología de los microorganismos. 12ª edición, Addison Wesley, 2009.

11.- 2M. Microbiología estomatológica. 1a edición, México, Editorial Panamericana, 2009.

12.- Lima Wang, MD, Ming Dong, MD, Jinbo Zbeng, MD, . Relationship of Biofilm Formation and gel E Gene Expression in Enterococcus faecalis Recovered from Root Canals in Patients Requiring Endodontic Retreatment. J. Endod 2011, Volume 37; Number 5, May 2011.

13.- Isabela N. Rocas, José F. Siqueira. , Identification of Bacteria Enduring Endodontic Treatment Procedures by a Combined Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction and Reserve-Capture Checkerboard Approach, Endod 2010, Volume 36, Number 1.

14.-Isabela N. Rocas, José F.Siqueira. , Coomparison of the In Vivo Antimicrobial Effectiveness of Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Used as Root Canal Irrigants: A Molecular Microbiology Study. , Endod 2011 Volume 37, Number 2.

15.-Zeyun Ma., Yixiang Wang, Ya Sben. , Role of Polymorphonuclear Neutrophils in the Clearance of Enterococcus faecalis Derived from Saliva and Infected Root Canals. , Endod 2011, Volume 37, Number 3.

16.-Jung Eun Baik, Kyoung-Soon Jang, Seok-Seong Kang. , Calcium Hydroxide Inactivates Lipoteichoic Acid from Enterococcus faecalis through Deacylation of the Lipid Moiety. , Endod 2011, Volume 37, Number 2.

17.- Ya Sben, Sonja Stojicic, Markus Haapasalo. , Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine against Bacteria in Biofilms at Different Stages of Development. , Endod 2011. , Volume 37 Number 5.

18.- Gretchen B. Jungermann, Krystal Burns, Renu Nandakumar. , Antibiotic Resistance in Primary and Persistent Endodontic Infections. , Endod 2011. , Volume 37 Number 10.

- 19.- Lei-Meng Jiang, Michel A. Hoogenkamp, Lucas W.m. van der Sluis. , Resazurin Metabolism Assay for Root Canal Disinfectant Evaluation on Dual-species Biofilms. , Endod 2011, Volume 37 Number 37.
- 20.- Jason M. Duggan, Christine M. Sedgley. , Biofilm Formation of Oral and Endodontic Enterococcus faecalis. , Endod 2007 Volume 33, Number 7.
- 21.- Bonnie Retamozo, Neal Johnson, Mahmoud Torabinejad. , Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate Enterococcus faecalis. , Endod 2010, Volume 36, Number 3.
- 22.- José F. Siqueira Jr, Karen M. Magalbaes, Isabela N. Rocas. , Bacterial Reduction in Infected Root Canals Treated With 2.5 NaOCl as Irrigant and Calcium Hydroxide/Camphorated Paramonochlorophenol Paste as an Intracanal Dressing. , Endod 2007 Volume 33, Number 6.
- 23.-Pilar Baca, María Luisa Mendoza-Llamas, María Teresa Arias-Moliz. , Residual Effectiveness of Final Irrigation Regimens on Enterococcus faecalis-infected Root Canals. , Endod 2011, Volume 37, Number 8.
- 24.- Trisha A. Krause, Frederick R. Liewehr, Chin-Lo Hahn. , The antimicrobial Effect MTAD, Sodium Hypochlorite, Doxycycline and Citric Acid on Enterococcus faecalis. Endod 2007, Volume 33 Number 1.
- 25.- J. Prahakar, M. Senthikumar, M.s. Priya. , Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Herbal Alternatives (Triphala and Green Tea Polyphenols), MTAD, and 5% Sodium Hypochlorite against Enterococcus faecalis Biofilm Formed on Tooth Substrate: An In Vitro Study. , Endod 2010, Volume 36, Number 1.
- 26.-Zhongchun Tong, Lin Zhou, Jie Li. , In Vitro Evaluation of the Antibacterial Activities of MTAD in Combination with Nisin against Enterococcus faecalis. , Endod 2011 Volume 37, Number 8.

27.-Grasiela Longhi Gründling, Janaína Guzzo Zechin, Wagner Mariano Jardim. , Effect of Ultrasonics on Enterococcus faecalis Biofilm in a Bovine Tooth Model. , Endod 2011, Volume 37, Number 8.

28.- Ahmet Rifat Özok, Suzanne Bernardina Ida Luppens, Paul Rudolf Wesselink. , Comparison of Growth and Susceptibility to Sodium Hypochlorite of Mono- and Dual-Species Biofilms of Fusobacterium nucleatum and Peptostreptococcus (micromonas) micros. , Endod 2007, Volume 33, Number 7.

29.- José F. Siqueira Jr, Tatiana Guimaraes-Pinto, Isabela N. Rocas. , Effects of Chemomechanical Preparation With 2.5% Sodium Hypochlorite and Intracanal Medication With Calcium Hydroxide on Cultivable Bacteria in infected Root Canals. , Endod 2007, Volume 33, Number 7.

30.- Romero Cabello Raúl, Microbiología y Parasitología Humana; 3era edición, Editorial Medica panamericana. 2007.

31.- Cuenca, M. Gavaldá, JL. Microbiología e infección fúngica tercera edición, panamericana, 2006.

32.- Ingle J. Bakland. Endodoncia quinta edición, interamericana, Mc-graw\_hill Mexico,2005

33.- Bilge Hakal Sen and B. Guniz Endodontict, Microbiology, segunda edición, editorial Elsevier, 2009

34.- Christian Senges, Karl-thomas Wrbas, Markus Altenburger. , Bacterial and Candida albicans Adhesion on Different Root Canal Filling Meterials and Sealers. , Endod 2011, Volume 37, Number 9.

35.- Bettina R. Basrani, Shela Manek, Rana N.S. Sodhi. , Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate. , Endod 2007, Volume 33 Number 8.

36.- Sarah Heward, Christine M. Sedgley. . Effects of Intracanal Mineral Trioxide Aggregate and Calcium Hydroxide During Four Weeks on pH Changes in Simulated Root Surface Resorption Defects: An In Vitro Study Using Matched Pairs of Human Teeth. , Endod 2011, Volume 37, Number 1.

37.- José F. Siqueira Jr, Simone S.M. Pativa, Isabela N. Rocas. , Reduction in the Cultivable Bacterial Populations in Infected Root Canals by a Chlorhexidine-based. , Endod 2007 Volume 33, Number 5

38.-N.T.Sena, GOMES, M.E., In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilm, international journal endodontic 2006

39.-Bettina R. Basrani,,DDS, Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate, international journal endodontic 2007

40.- Soley Arslan, Hatice Ozbilge, In vitro antimicrobial activity of propolis, BioPures MTDA, sodium hypochlorite, and chlorhexidine on Enterococcus faecalis and Candida albicans, Saudi J 2011: vol. 32 (5)