



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

LAS BIOPELÍCULAS Y SU RELEVANCIA EN LAS  
INFECCIONES ENDODÓNCICAS.

**T E S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

MARÍA FERNANDA CASTRO MENDIETA

TUTOR: Esp. MARÍA DEL ROSARIO LAZO GARCÍA

*Ma. del Rosal*



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.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la vida por permitirme llegar hasta aquí, por darme la capacidad para superar los obstáculos y brindarme las oportunidades para ser mejor día con día. Por los aprendizajes y las experiencias, y por siempre ponerme en el lugar indicado con las personas indicadas.

A mis padres, por todo su esfuerzo y su apoyo estaré eternamente agradecida. Por todo su amor y paciencia, lo más valioso en mi vida. A mis hermanos Roberto y Oscar, por siempre procurarme y estar para mí siempre cuando los necesito. Gracias por motivarme, por todo el apoyo, a los cuatro todo mi amor por siempre.

A mi tío Martín y a mi tía Zoila, por haberme apoyado tanto durante la carrera, por haberme cuidado como a una hija y por abrirme las puertas de su hogar, hay cosas que nunca olvidaré. Gracias infinitas y todo mi cariño. A mis primos Álvaro y Maricruz por siempre haberme hecho sentir parte de su familia durante el tiempo que viví con ellos.

A mi tía Leticia y a mi tío Ernesto, por el apoyo incondicional, por todos los consejos y por tanto cariño. Siempre me han hecho sentir muy querida. A mi primo Fernando, gracias también por el apoyo cuando lo he necesitado. A mi tía Carmen y a mi tía Irma, por siempre ver por mí y ofrecerme su apoyo incondicional.

Al Dr. Gómez Gallegos por compartir conmigo todos sus conocimientos, explicarme todas mis dudas y enseñarme gran parte de lo que sé. Gracias a él descubrí lo maravillosa que es la Endodoncia. Un profesional excepcional, toda mi admiración y cariño.

Al Dr. Manuell Lee, que sin duda aprendí mucho de él. Por compartir durante tanto tiempo sus enseñanzas y por todo su apoyo. Gracias por todo lo aprendido.

A la Dra. Félix Rebollo, porque en el tiempo que llevamos trabajando juntas he aprendido mucho de ella y le agradezco su confianza y apoyo para seguir creciendo profesionalmente.

A la Dra. Lazo García por brindarme su apoyo y su tiempo para la realización de este trabajo. Sin ella no hubiera sido posible. Muchas gracias.

A todos mis profesores, de cada uno de ellos me llevo una parte conmigo. Por todas las enseñanzas, sin duda son parte importante de lo que soy el día de hoy.

A mis pacientes, por brindarme su confianza y permitirme aprender de ellos.

A mi amiga Diana, que desde CCH emprendimos este viaje juntas y me hace muy feliz que estamos por concluir la meta. A pesar de las dudas al inicio, hoy confirmo que fue la mejor elección de carrera que pudimos hacer. Por su amistad y apoyo, por todas las risas, llantos y experiencias vividas, gracias. Vamos por mucho más, sé que será la mejor ortodoncista.

A mis amigas Beatriz y Adriana, por compartir conmigo, por ser parte de mi vida desde antes de la carrera y hasta la fecha seguir presentes y apoyarme en todo momento. Todo mi cariño, son muy importantes para mí.

A mi amigo Mauricio, que se convirtió en el mejor amigo que podría tener. Por tantas experiencias, buenas y malas; desvelos, risas y aprendizajes. Esta amistad es para siempre. Después de tanto, lo hemos logrado y sé que vienen cosas mejores, le deseo muchos éxitos más.

A mi Alma Máter, que me ha regalado los momentos más bellos y me ha permitido crecer en todos los ámbitos. Me siento muy orgullosa de pertenecer a ella y haré todo lo que esté a mi alcance por ser una profesional a la altura de lo que representa la Máxima Casa de Estudios. Mi querida Facultad de Odontología, gracias por todo, esto es sólo el comienzo.

*“Por mi raza hablará el espíritu”.*

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVOS.....	2
Capítulo 1. GENERALIDADES DE LAS BACTERIAS .....	3
1.1 Clasificación bacteriana.....	3
1.2 Componentes bacterianos.....	6
1.2.1 Membrana citoplasmática.....	6
1.2.2 Pared celular .....	8
1.2.3 Cápsulas .....	13
1.2.4 Fimbrias.....	14
1.2.5 Flagelos.....	14
1.2.6 Vesículas.....	15
1.2.7 Endosporas .....	16
Capítulo 2. MICROBIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES ENDODÓNCICAS	17
2.1 Vías de infección del conducto radicular .....	17
2.1.1 Túbulos dentinarios .....	17
2.1.2 Comunicación pulpar.....	19
2.1.3 Vía periodontal .....	19
2.2 Mecanismos de patogenicidad bacteriana y factores de virulencia .....	21
2.3 Distribución espacial de la microbiota.....	30
Capítulo 3. BIOPELÍCULA .....	32
3.1 Composición y características .....	32

3.2 Bacterias planctónicas y sus diferencias con la biopelícula.....	36
3.3 Crecimiento y desarrollo .....	38
3.4 Mecanismos de comunicación interbacteriana .....	42
3.5 Resistencia a los antimicrobianos.....	44
Capítulo 4. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA BIOPELÍCULA EN ENDODONCIA.....	47
4.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	48
4.2 Microscopía de escaneo láser confocal.....	49
4.3 Hibridación in situ de fluorescencia de rRNA (FISH) .....	51
4.4 Marcadores de viabilidad celular .....	52
4.5 Modelos in vivo para pruebas de biopelícula .....	53
Capítulo 5. TIPOS DE INFECCIONES ENDODÓNCICAS SEGÚN SU LOCALIZACIÓN ANATÓMICA .....	55
5.1 Infección intrarradicular .....	55
5.2 Infección extrarradicular .....	60
Capítulo 6. PERIODONTITIS APICAL .....	62
6.1 Periodontitis Apical Sintomática (Aguda).....	62
6.2 Periodontitis Apical Asintomática (Crónica) .....	63
6.3 Periodontitis apical como enfermedad asociada a las biopelículas. ....	64
CAPÍTULO 7. REMOCIÓN DE LA BIOPELÍCULA ENDODÓNCICA DURANTE EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS.....	69
7.1 Irrigantes proteolíticos .....	73
7.2 Antisépticos .....	75
7.3 Agentes desmineralizantes.....	76
7.4 Combinación de soluciones irrigantes .....	77

7.5 Nanopartículas.....	78
7.6 Medicación intraconducto .....	80
7.7 Mecanismos de activación del irrigante .....	81
7.8 Desinfección activada por láser .....	84
Capítulo 8. LA BIOPELÍCULA Y SU RELACIÓN CON LA PERSISTENCIA DE LA ENFERMEDAD ENDODÓNCICA.....	86
8.1 Factores que afectan el resultado del tratamiento de conductos.....	86
8.2 Infecciones persistentes o secundarias y fracaso del tratamiento de conductos .....	90
8.3 Tratamiento del fracaso endodóncico.....	93
CONCLUSIONES .....	95
GLOSARIO .....	96
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

## INTRODUCCIÓN

El presente trabajo busca profundizar en el conocimiento que se tiene acerca de la microbiología y las infecciones endodóncicas, ahondando un poco más en la biopelícula que como se mostrará a lo largo del trabajo, es de suma importancia en la mayoría de las infecciones endodóncicas debido a que es un mecanismo de resistencia de las bacterias y que se convierten en un verdadero desafío para la desinfección del sistema de conductos radiculares.

A lo largo del tiempo, diversos autores han estudiado el importante papel de la biopelícula en el proceso infeccioso del sistema de conductos radiculares y de la periodontitis apical, logrando establecer una estrecha relación en ambos. Mediante estudios de microscopía, estudios moleculares y estudios histopatológicos han logrado recabar datos que han sido relevantes para la comprensión de las infecciones en Endodoncia.

Gracias a estos estudios, a la comprensión del proceso de las infecciones endodóncicas y la formación de la biopelícula en el conducto, también se ha analizado un aspecto muy importante que se refiere a la remoción de la biopelícula del sistema de conductos radiculares. En conjunto con los avances tecnológicos en el estudio microbiológico y en los auxiliares para la realización del tratamiento endodóncico, se ha incrementado la tasa de éxito a largo plazo de los tratamientos.

## OBJETIVOS

- Conocer la microbiología de las infecciones endodóncicas.
- Analizar la estructura de las biopelículas y sus asociaciones con el sistema de conductos radiculares.
- Entender los métodos microscópicos y moleculares de análisis de la biopelícula endodóncica.
- Describir los tipos de infección endodóncicas y su relación microbiológica.
- Comprender la relación e importancia de los auxiliares del tratamiento endodóncico para la remoción de la biopelícula.
- Establecer la relación entre la biopelícula y la persistencia de la enfermedad endodóncica.

## Capítulo 1. GENERALIDADES DE LAS BACTERIAS

Por medio de un análisis detallado de la estructura celular interna es posible diferenciar dos tipos de células: la procariota y la eucariota. Las células eucariotas son por lo general más grandes y estructuralmente más complejas que las procariotas. Las células procariotas tienen una estructura interna más simple y carecen de organelos rodeados por membranas. Las bacterias pertenecen al dominio Bacteria que junto con el dominio Archea comprenden los dos grandes grupos que conforman a las células procariotas. (1)

### 1.1 Clasificación bacteriana

El bacteriólogo danés Christian Gram, desarrolla una tinción diferencial (Figura 1) por medio de la cual revela diferencias estructurales importantes entre dos grupos de bacterias, esta tinción se basa en el espesor y grado de formación de enlaces cruzados en la pared celular; con ello se clasifican la mayoría de las bacterias en dos grandes grupos: Bacterias Gram positivas y Gram negativas. (2)

Existen microorganismos que no pueden clasificarse con base en la tinción de Gram, por ejemplo: *Mycobacterium tuberculosis* debido a que tiene una envoltura celular formada por ácidos micólicos y ceras; por lo que se emplea para el grupo de las micobacterias la tinción de Ziehl-Neelsen conocida como tinción para bacilos acidorresistentes. La tinción de Gram y técnicas similares son útiles para identificar bacterias, aunque actualmente el establecimiento de las relaciones filogenéticas entre las mismas se realiza con base en comparaciones de secuencias de los nucleótidos y proteínas de los microorganismos. (2)

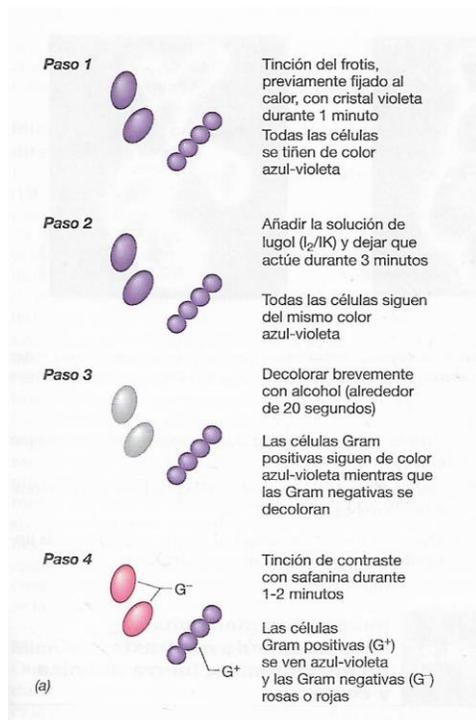


Figura 1. Pasos en la tinción de Gram. (1)

Asimismo, se puede clasificar a las bacterias con base en la diversidad de la estructura microbiana, las capacidades metabólicas y ambientales en las que pueden proliferar estos microorganismos. (2)

Existen bacterias que se multiplican de manera óptima a valores de pH de alrededor de 2 (acidófilas), otras sólo se reproducen en pH cercano a 10 (alcalófilas). Algunos procariones apenas sobreviven a temperaturas superiores a  $15^{\circ}C$  (psicrófilos), mientras que otros prosperan a  $100^{\circ}C$  en chimeneas hidrotermales, (termófilos) (Figura 2). Ciertos microorganismos pueden vivir con combustible de aviación o queroseno, como principal fuente de carbono y energía, otros crean diminutos imanes internos para dirigir su movimiento, otros más emiten luz, y algunos otros desintoxican mercurio en el ambiente. Existe una variedad de bacterias que pueden corroer metales, y muchas otras, como *Streptomyces*, sintetizan productos de importancia económica, como antibióticos o polisacáridos complejos que se utilizan en alimentos o productos farmacéuticos. (2)

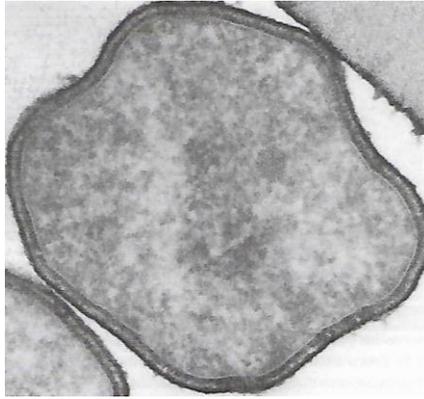


Figura 2. *Pyrolobus*. hipertermófila, capaz de crecer muy bien por encima del punto de ebullición del agua. (1)

Las bacterias que se encuentran en la superficie y el interior del cuerpo humano exceden en número a las células corporales, en una proporción de 10 a 1. La cantidad de bacterias que colonizan al ser humano es muy pequeña en comparación con el número total de bacterias conocidas, y las que provocan determinadas enfermedades son un grupo aún menor. Cabe resaltar que la comunidad microbiana oral constituye el grupo más diverso de microorganismos, entre los que colonizan los distintos lugares del medio ambiente del cuerpo humano. (2)

Las bacterias suelen medir de 1 a 5  $\mu\text{m}$  en su eje mayor. Una colonia bacteriana de alrededor de 3 mm de diámetro que se forma en una placa de agar puede contener más de 100 millones de microorganismos. Las bacterias también tienen una amplia variedad de formas: cocoide o esférica; bacilar o de bastón; fusiforme o de bastón largo y delgado, helicoidal o de sacacorchos. curva, irregular; o mixta. (2) (Figura 3)

Muchas bacterias tienen la capacidad de formar estructuras multicelulares complejas, o son capaces de diferenciarse en formas alternadas con actividades y potencial metabólico, distintos. (2)

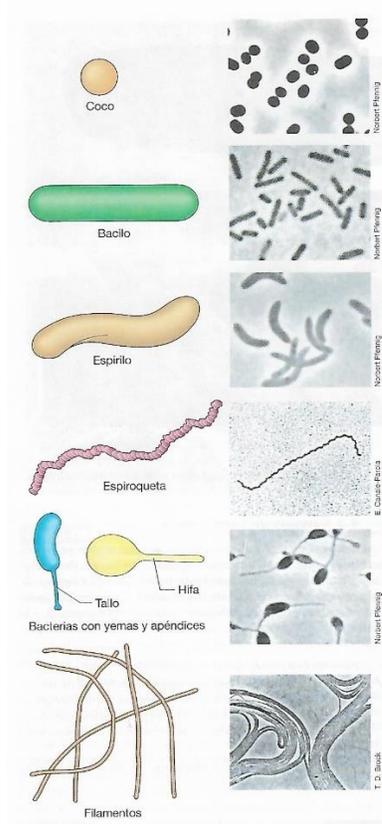


Figura 3. Formas celulares representativas de diferentes morfologías. (1)

## 1.2 Componentes bacterianos

### 1.2.1 Membrana citoplasmática

La membrana citoplasmática (Figura 4) es una estructura fina que rodea por completo a la célula; cumple una función vital, mide 8nm de espesor, constituye la barrera que separa el interior de las células (citoplasma) del exterior. Si esta membrana se rompe, la integridad de la célula se destruye debido a que se liberan al medio los componentes que la integran y se produce la muerte celular. Es una barrera muy selectiva que permite que en el interior de la célula se concentren determinados metabolitos y se excreten las sustancias de desecho. (1)

La estructura general de la mayoría de las membranas biológicas es una bicapa lipídica. Los fosfolípidos poseen regiones hidrofóbicas (ácidos grasos) como hidrofílicas (glicerol); cuando los fosfolípidos se agregan en soluciones acuosas tienden a formar bicapas de manera espontánea; los ácidos grasos se orientan hacia el interior, de forma que se mantienen en un ambiente hidrofóbico, y las porciones hidrofílicas se exponen a la fase acuosa. La estructura de bicapa de las membranas es probablemente la organización más estable que pueden alcanzar las moléculas lipídicas en un entorno acuoso. (1)

La capa externa de la membrana citoplasmática en algunas bacterias contacta con proteínas implicadas en la unión de sustratos y el procesamiento de grandes moléculas para su transporte al interior celular (proteínas periplásmicas). La cara interna de la membrana citoplasmática orientada hacia el citoplasma interacciona con proteínas involucradas en reacciones de obtención de energía y otras funciones de importancia para la célula. (1)

Las membranas se consideran como un mosaico fluido en el que proteínas globulares atraviesan la bicapa lipídica. Su organización le confiere propiedades funcionales de importancia. (1)

La membrana citoplasmática separa el interior y el exterior celular; lleva a cabo funciones celulares muy importantes:

- Como una barrera de permeabilidad, evitando la pérdida pasiva de componentes del citoplasma y la entrada indiscriminada de constituyentes. (1)
- En ella se asientan proteínas, que algunas son enzimas o están implicadas en el transporte de sustancias hacia el interior y hacia el exterior de la célula.
- Es el lugar donde se produce energía en la célula. (1)

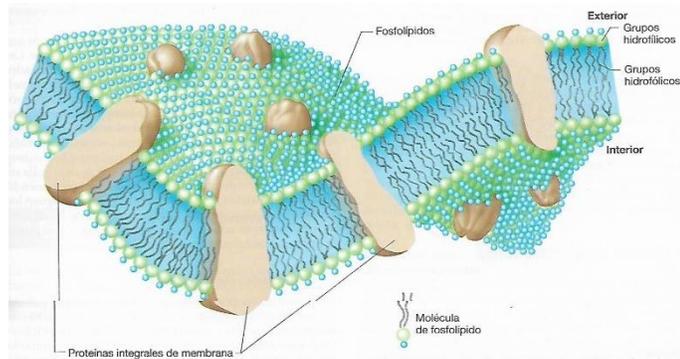


Figura 4. Diagrama de la membrana citoplasmática. (1)

### 1.2.2 Pared celular

Estructura bacteriana responsable de dar forma y rigidez a la célula. No se observa fácilmente con el microscopio óptico, pero es visible en cortes finos mediante microscopio electrónico de transmisión. (1)

Las bacterias se dividen en 2 grupos: Gram positivas y Gram negativas. (Figura 5) La diferencia en la reacción a esta tinción se basa en las diferencias en la estructura de las paredes celulares. La pared celular en las Gram negativas está compuesta por varias capas y es bastante compleja, mientras que la pared de las Gram positivas está formada fundamentalmente por un solo tipo de molécula. Mediante microscopía electrónica de barrido se pueden detectar diferencias entre estas paredes celulares. (1)

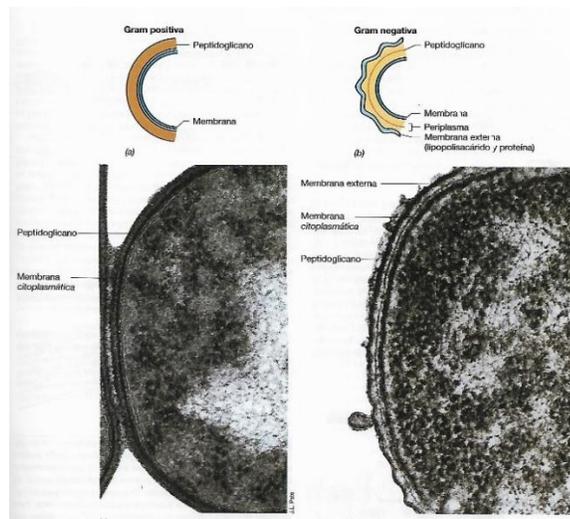


Figura 5. Diagramas esquemáticos de paredes celulares Gram positivas y Gram negativas y microfotografías electrónicas. (1)

### Peptidoglicano

En la pared celular de las bacterias hay una capa rígida que provee de resistencia a la pared celular; tiene composición similar tanto en bacterias Gram positivas como en Gram negativas y se conoce como capa de peptidoglicano o mureína. (1)

La estructura básica del peptidoglicano (Figura 6) es una lámina en la que las cadenas de derivados de azúcares se conectan entre sí por puentes peptídicos a través de aminoácidos. Los enlaces glicosídicos que unen los azúcares en las cadenas son muy fuertes, pero las cadenas por sí solas no pueden conferir rigidez en todas las direcciones. Cuando las cadenas se entrecruzan mediante puentes peptídicos se logra la rigidez característica de la pared. (1)

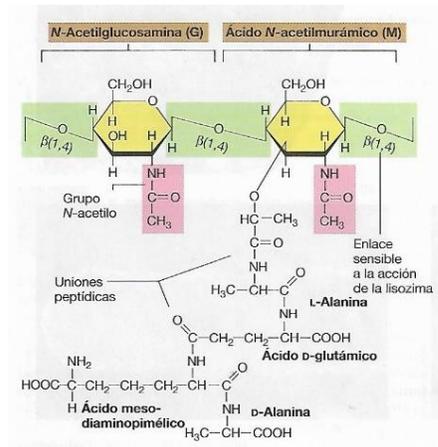


Figura 6. Estructura de una unidad repetitiva de peptidoglicano de la pared celular con el tetrapéptido, correspondiente a *Escherichia coli* y muchas otras bacterias Gram negativas. (1)

En las bacterias Gram positivas, el peptidoglicano representa hasta el 90% de la pared, otros componentes como los ácidos teicoicos, también están presentes en pequeñas cantidades. En las bacterias Gram negativas, el peptidoglicano representa solo alrededor del 10% de la pared celular. (1)

Pared celular de bacterias Gram positivas: ácidos teicoicos y lipoteicoicos.

Los ácidos teicoicos (Figura 7) son polímeros de la pared, la membrana o de la cápsula que contiene unidades de glicerolfosfato o de ribitolfosfato. Estos polialcoholes están unidos por ésteres fosfato y se presentan unidos a otros azúcares y D-alanina. Debido a su carga negativa, los ácidos teicoicos son, en cierta parte, responsables de la carga negativa neta de la superficie celular y pueden intervenir en el paso de iones a través de la pared celular. Algunos de estos ácidos contienen glicerol están unidos a los lípidos de la membrana de las bacterias Gram positivas y debido a esta íntima asociación con lípidos, los ácidos teicoicos se denominan también ácidos lipoteicoicos. (1)

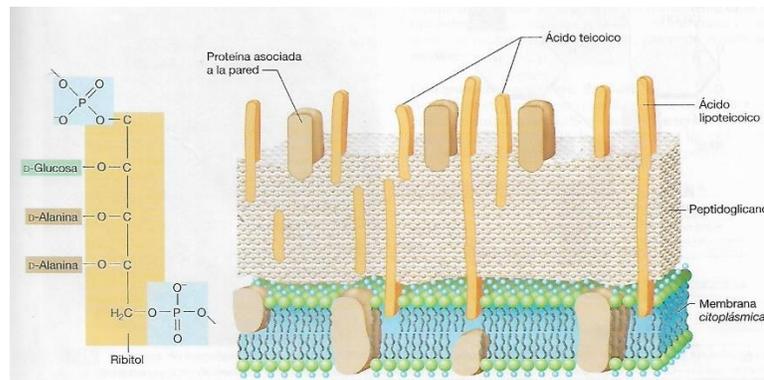


Figura 7. Ácidos teicoicos y lipoteicoicos, estructura global de la pared celular Gram Positiva. (1)

*Membrana externa de bacterias Gram negativas.*

Además del peptidoglicano, las bacterias Gram negativas poseen en su pared una capa adicional que está compuesta de lipopolisacárido. (Figura 9) Esta capa representa una segunda bicapa lipídica, que consta también de polisacáridos y proteínas. (1)

La estructura del lipopolisacárido consta de dos porciones: el núcleo y el polisacárido O. (Figura 8) En el género *Salmonella*, se ha estudiado muy a detalle, el núcleo del polisacárido está compuesto por cetodesoxioctonato (KDO), heptosas, glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina. El polisacárido O está unido al núcleo y consta generalmente de galactosa, glucosa, ramnosa y manosa. (1)

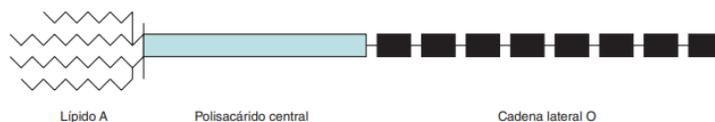


Figura 8. Representación esquemática de una molécula de lipopolisacáridos típica de bacterias Gram negativas. (2)

La parte lipídica del lipopolisacárido, conocida como lípido A, no es un lípido de glicerol si no que los ácidos grasos se unen por una unión amino éster a un

disacárido compuesto n-acetilglucosamina-fosfato. El disacárido se une al núcleo del polisacárido a través del KDO. Los ácidos grasos que normalmente se encuentran en el lípido A son el ácido caproico, laúrico, mirístico, palmítico y esteárico. En la membrana externa, el LPS se asocia con varias proteínas formando la mitad externa de la unidad de la membrana. En la porción interna de la membrana externa se encuentra en muchas especies Gram negativas una lipoproteína compleja, que funciona como un tipo de anclaje entre la membrana externa y el peptidoglicano. En la región exterior de la membrana externa, el LPS sustituye a los fosfolípidos, que se localizan en su mayoría en la porción interna. (1)

El LPS desempeña un papel importante en la capacidad de los microorganismos para inducir enfermedades; existe un amplio espectro de actividad de lipopolisacáridos según el microorganismo del cual se aísla, por lo que no todas las moléculas de lipopolisacáridos son tan tóxicas y no todas producen las mismas reacciones biológicas, esto varía dependiendo de cada género bacteriano. (2)

Los principales efectos biológicos del LPS son:

- Toxicidad letal
- Estimulación de la inflamación
- Activación del complemento
- Activación de leucocitos polimorfonucleares
- Activación de macrófagos
- Actividad mitógena de linfocitos B
- Actividad coadyuvante
- Pirogenicidad
- Estimulación de la resorción ósea

- Estimulación de la síntesis de prostaglandinas
- Inducción del factor de necrosis tumoral
- Hipotermia
- Hipotensión (2)

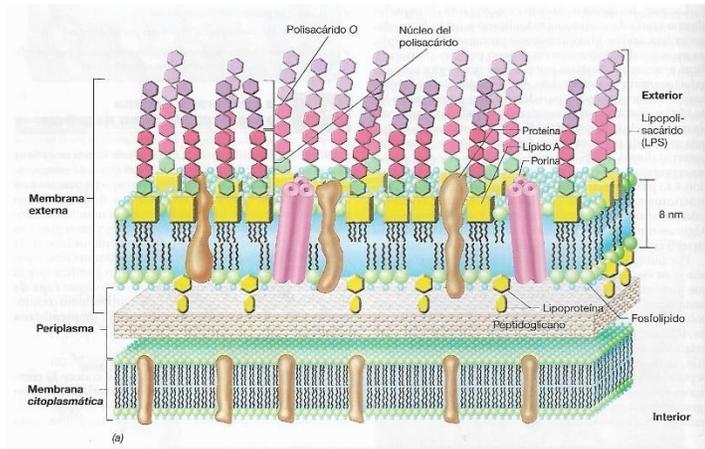


Figura 9. Pared celular Gram negativa. Disposición del lipopolisacárido, lípido A, fosfolípidos, porinas y lipoproteínas. (1)

### 1.2.3 Cápsulas

Son polímeros extracelulares laxamente unidos a la superficie de los microorganismos; son producidas por una amplia gama de bacterias. Generalmente, están formadas por polisacáridos, aunque existen ejemplos de cápsulas de otros materiales. (Figura 10) (2)

Proporcionan varias ventajas a los microorganismos, como la protección contra lesiones físicas, fuente de nutrientes en periodos de inanición, y resistencia a la fagocitosis. Muchas bacterias orales producen polisacáridos estructurales que no suelen considerarse cápsulas, aunque estos polímeros tienen muchas propiedades en común con las cápsulas verdaderas. (2)

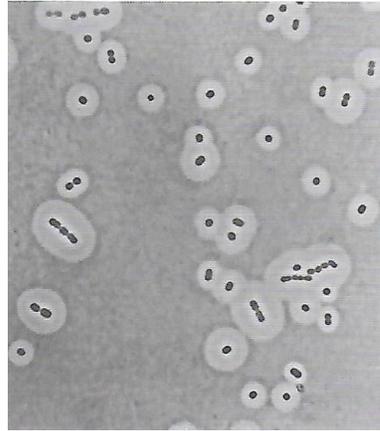


Figura 10. Demostración de la presencia de cápsulas en especies de *Acinetobacter* por tinción negativa con tinta china. La tinta china no penetra la cápsula, de modo que su contorno queda revelado como una estructura más clara sobre un fondo oscuro. (1)

#### 1.2.4 Fimbrias

Diversas bacterias orales producen fimbrias (Figura 11), que participan en la adhesión a proteínas salivales; llamadas proteínas de la matriz extracelular, tales como el colágeno y la fibronectina, proteínas de la cascada de la coagulación; diferentes tipos de células huéspedes, y otras proteínas de adhesión con otras bacterias. Asimismo, intervienen en diversas acciones perjudiciales para el huésped, como estimulación de la resorción ósea y otras que facilitan la invasión bacteriana. (2)

#### 1.2.5 Flagelos

Son organelos de locomoción presentes en muchas especies distintas de bacterias, pero sólo un subgrupo pequeño de especies orales los posee; facilitan el movimiento dirigido de las bacterias hacia un nutrimento, o puede alejarse de un producto final metabólico tóxico para ellas. (Figura 11) La distribución de los flagelos en las bacterias es muy variable, pero una especie dada de bacterias por lo general exhibe un patrón muy específico de flagelos. Algunas especies tienen un solo flagelo o uno en cada extremo de la célula (flagelos polares). Otras tienen muchos flagelos distribuidos a lo largo del cuerpo de la célula (flagelos peritricos). Los flagelos están en contacto directo

con el entorno y giran para impulsar a la bacteria en el medio. En la mayoría de los casos, la presencia de flagelos y motilidad no guardan fuerte correlación con colonización o virulencia de las bacterias orales, a excepción de las espiroquetas; ya que, por su forma de sacacorchos y los flagelos periplásmicos hacen a estos microorganismos capaces de penetrar tejidos. Las espiroquetas son las bacterias más frecuentes en el frente en las lesiones periodontales avanzadas, lo cual se debe tal vez a sus características de motilidad únicas. (2)

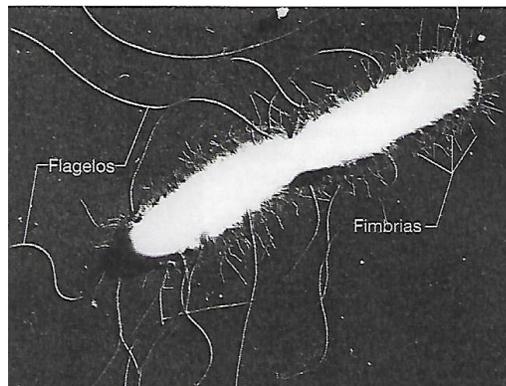


Figura 11. Micrografía electrónica de una célula de *Salmonella* en división, mostrando fimbrias y flagelos. (1)

### 1.2.6 Vesículas

La producción de vesículas es una característica de muchas bacterias Gram negativas. Ocurre por desprendimiento o “ampolladura” de la membrana externa. Las vesículas ricas en lípidos que se desprenden pueden contener muchos de los componentes de la membrana o todos ellos, incluidos LPS, enzimas que atacan tejidos y otros factores de virulencia. Las vesículas son importantes en algunas enfermedades orales porque son muy pequeñas y pueden difundirse por los tejidos del huésped llevando factores de virulencia y estimulando reacciones adversas, como inflamación y reabsorción ósea. (2)

### 1.2.7 Endosporas

Algunas bacterias tienen la capacidad de formar endosporas (Figura 12). Las endosporas, son formas latentes bacterianas con gran resistencia a la destrucción por agentes físicos o químicos, tales como calor, productos limpiadores, alcohol, peróxidos, por mencionar algunos. En condiciones favorables, las esporas “germinan” para producir progenie. La mayoría de las bacterias orales no forman esporas, pero las que sí lo hacen son importantes en la práctica odontológica debido a su virtual ubicuidad (que pueden localizarse y adaptarse a cualquier condición) y alto grado de resistencia a los antimicrobianos, desinfectantes y procesamiento en autoclave. (2)

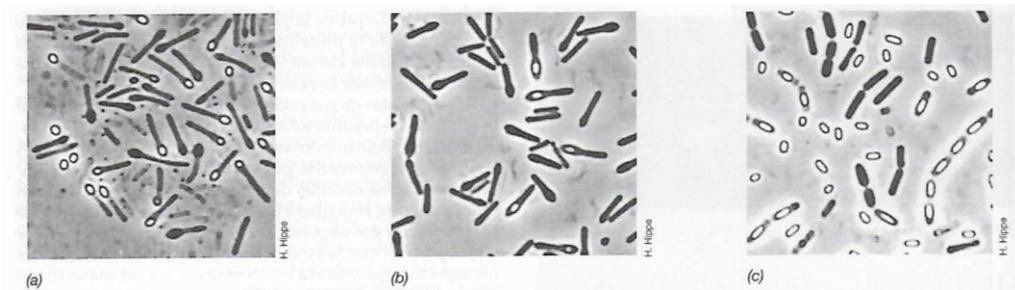


Figura 12. Endosporas bacterianas. Micrografías de contrataste de fases que ilustran diferentes tipos morfológicos de endosporas y su localización intracelular. A) Terminal, B) Subterminal y C) Central (1)

## Capítulo 2. MICROBIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES ENDODÓNCICAS

### 2.1 Vías de infección del conducto radicular

En condiciones normales, el complejo dentino-pulpar se encuentra estéril y aislado de la microbiota oral debido a que está protegido por capas de esmalte y cemento. Cuando dichas capas se pierden y hay exposición del complejo dentino-pulpar a las bacterias orales hay un incremento en el riesgo del desarrollo de un proceso infeccioso. Si ocurre dicha exposición, la dentina representa una ruta para las bacterias; permite el acceso a los túbulos dentinarios y por consiguiente al tejido pulpar. No obstante, se ha demostrado que la invasión bacteriana de los túbulos dentinarios ocurre de forma más rápida en dientes no vitales a comparación de dientes vitales. (3)

#### 2.1.1 Túbulos dentinarios

Los túbulos dentinarios (Figura 13) atraviesan todo el grosor de la dentina, con una conformación cónica con dos distintos diámetros: el diámetro más ancho se sitúa en la cercanía a la pulpa y mide aproximadamente  $2.5 \mu\text{m}$  y el diámetro menor se sitúa en la periferia, cerca del esmalte o cemento y mide  $0.9 \mu\text{m}$ ; es importante resaltar que el diámetro celular de la mayoría de las especies bacterianas de la cavidad oral están entre las  $0.2$  y  $0.7 \mu\text{m}$ , coincidiendo con el diámetro menor del túbulo dentinario. (4)

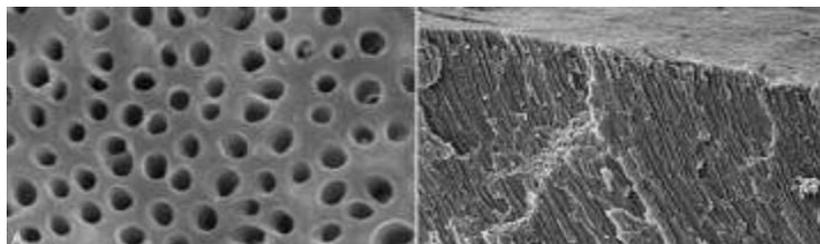


Figura 13. Micrografía electrónica de barrido de la dentina que muestra los túbulos en corte transversal (A, aumento x850) y longitudinal (B, aumento x130). (4)

En los dientes vitales, el movimiento externo del líquido dentinario y del contenido de los túbulos (incluyendo los procesos odontoblásticos, fibrillas de colágeno y la lámina limitante que, a modo de vaina, recubre los túbulos) influyen en la permeabilidad dentinaria y retrasan la invasión intratubular de las bacterias. Existen otros factores que reducen la permeabilidad dentinaria y que ayudan a limitar o detener el paso de las bacterias y su avance hacia la pulpa por medio de los túbulos dentinarios, estos factores pueden ser la presencia de dentina esclerótica debajo de una lesión cariosa, dentina terciaria, barrillo dentinario y la deposición intratubular de fibrinógeno. Además, en el líquido dentinario de dientes vitales, se pueden encontrar componentes del sistema de complemento que son moléculas de defensa del huésped y que influyen como protección en contra de la invasión bacteriana. Por lo tanto, en cuanto un diente sea vital, la dentina expuesta no representa una ruta significativa para la infección pulpar; a excepción de los casos en los que el espesor de la dentina se encuentre considerablemente reducido y la permeabilidad dentinaria se incrementa. Cuando la vitalidad pulpar está comprometida y los mecanismos de defensa resultan insuficientes, incluso unas cuantas bacterias pueden iniciar el proceso infeccioso. (3)

En el caso de dientes traumatizados se han logrado aislar bacterias de dientes con trauma, pulpa necrótica y coronas aparentemente intactas, sin embargo, se presume que pueden presentar macro y micro fisuras que pueden no terminar en la unión amelodentinaria, y por el contrario profundizar más hacia la dentina; en una sola fisura se pueden exponer gran cantidad de túbulos dentinarios; de manera se convierten en portales de entrada para las bacterias ya que pueden estar obstruidos por la placa dental. Cuando la pulpa permanece vital posterior a un evento traumático, entra en acción el líquido dentinario y el contenido tubular ayudando a contrarrestar la penetración bacteriana hacia los túbulos dentinarios, de manera que la pulpa no se ve comprometida. Por otro lado, cuando la pulpa se necrosa como consecuencia

del trauma, pierde su capacidad de defensa contra la invasión bacteriana y, sin importar el espesor de la dentina, los túbulos dentinarios se convierten en vías que permiten a las bacterias colonizar la pulpa necrótica. (3)

### *2.1.2 Comunicación pulpar*

La comunicación directa de la pulpa dental al ambiente de la cavidad oral es la ruta más obvia para la infección endodóncica; existen diversas causas por las cuales se puede ocasionar dicha exposición, la lesión cariosa es la más común (Figura 14), eventos iatrogénicos durante los procedimientos restauradores o trauma. Independiente a la causa; en todos los casos la pulpa expuesta desencadena el proceso inflamatorio, necrosis pulpar y un proceso infeccioso. (3) No está definido cuánto tiempo transcurre entre la exposición pulpar y la infección de todo el conducto radicular, pero generalmente es un proceso lento. (4)

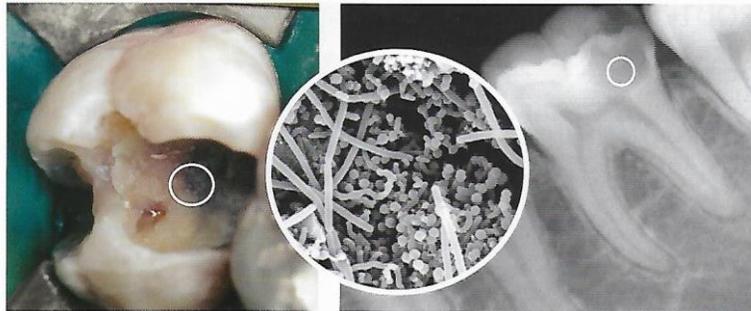


Figura 14. Comunicación pulpar por lesión cariosa. (5)

### *2.1.3 Vía periodontal*

Los microorganismos asociados a las biopelículas subgingivales asociados a enfermedad periodontal pueden alcanzar a la pulpa por las mismas vías intraconducto por las que los microorganismos llegan al periodonto (forámenes apicales, laterales o de la furcación, túbulos dentinarios, y perforaciones iatrogénicas de la raíz). (Figura 15) Sin embargo se ha demostrado que, aunque los cambios inflamatorios y degenerativos en diferentes grados pueden ocurrir en la pulpa de un diente asociado con periodontitis marginal, la

necrosis pulpar como consecuencia de enfermedad periodontal únicamente se desarrolló cuando la bolsa periodontal llega al foramen apical, causando daño irreversible a los vasos sanguíneos que penetran a través del foramen para la irrigación pulpar. (3)

También, los microorganismos pueden tener acceso al conducto radicular durante o después de la intervención del profesional, esto se considera como infección secundaria (secundaria al tratamiento). Dichos microorganismos pueden ser introducidos al conducto por una inadecuada técnica aséptica durante el tratamiento, o por vía coronal por filtración de saliva entre cita y cita o después de la obturación de los conductos radiculares. (3)

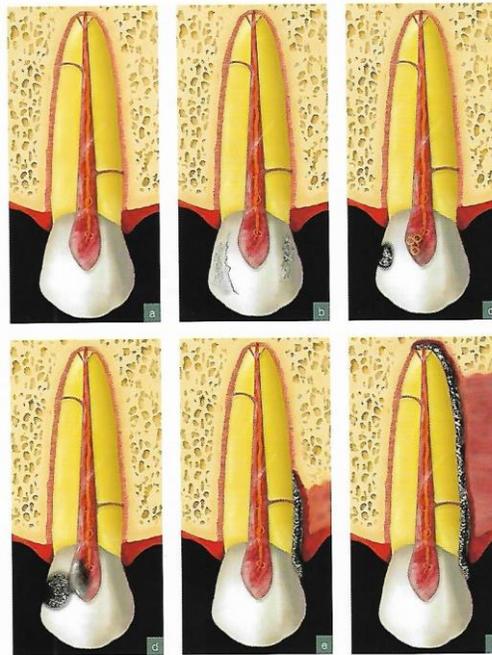


Figura 15. Rutas de la infección pulpar. A) Pulpa normal. B) Fisuras en el esmalte que alcanzan la dentina y exponen sus túbulos. C) Lesión cariosa que expone los túbulos dentinarios. D) Comunicación pulpar directa. E) Enfermedad periodontal que expone la dentina cervical o los conductos laterales. F) Enfermedad periodontal que alcanza el ápice radicular. (5)

## 2.2 Mecanismos de patogenicidad bacteriana y factores de virulencia

### *Mecanismos de patogenicidad bacteriana*

La mayoría de las bacterias que se encuentran involucradas en las infecciones endodóncicas se encuentran en la microbiota oral, estas bacterias aprovechan los cambios que se generan en la pulpa dental y las situaciones que reducen las defensas del huésped, de manera que el conducto radicular se vuelve susceptible a la colonización bacteriana; dichas bacterias se denominan patógenos oportunistas. Las infecciones endodóncicas se catalogan como infecciones de tipo endógenas; ya que se trata de infecciones causadas por miembros de la microbiota humana normal. (5)

Las bacterias involucradas en la patogénesis de la periodontitis apical pueden haber estado presentes en etapas tempranas de la enfermedad, o bien, haber entrado al conducto radicular una vez que ya se había establecido la necrosis pulpar. En el primer caso, de las bacterias iniciales, se trata de bacterias presentes en lesiones cariosas avanzadas o presentes en la saliva del área afectada. (5)

Las bacterias implicadas en la enfermedad pulpar se adhieren en primera instancia a la superficie de dentina expuesta, con ello ocurre la colonización inicial y se forman estructuras altamente especializadas denominadas biopelículas, las cuales serán explicadas a detalle en el siguiente capítulo. (5)

La inflamación del tejido pulpar se produce por la difusión de los productos bacterianos a través de los túbulos dentinarios; lo cual ocurre mucho antes de que el tejido pulpar esté expuesto; una vez que hay exposición pulpar la superficie podrá ser colonizada por bacterias presentes en la biopelícula de la caries dental. La pulpa expuesta y en contacto directo con las bacterias causales y sus productos secretados responderá con inflamación severa. (5)

Las bacterias involucradas en este proceso resisten la respuesta de las células de defensa del huésped; adquieren los nutrientes necesarios para su supervivencia; sin embargo, en el proceso ataque bacteriano-defensa inmunitaria, la pulpa se necrosa, y posteriormente las bacterias colonizan ese tejido necrótico. Estos eventos suceden en compartimentos individuales de tejido, los cuales se unen y se mueven hacia el ápice del conducto radicular, hasta el punto en que prácticamente todo el tejido pulpar del conducto radicular se encontrará necrótico e infectado. En esta etapa las bacterias involucradas se denominan colonizadores tempranos o especies pioneras del conducto radicular; conforme la infección avanza y se acerca a vías de salida, como foraminas apicales o laterales, la inflamación también avanza y llega a los tejidos periapicales, generando daño; tal inflamación puede ser observada incluso antes de que las bacterias lleguen a las foraminas apicales o laterales. (5)

Los colonizadores tempranos son una pieza clave en el comienzo de la periodontitis apical, ya que estas especies pioneras modifican las condiciones ambientales en el conducto radicular y propician que diferentes grupos bacterianos se establezcan y así continúa desarrollándose el proceso de enfermedad. Estas bacterias pueden tener entrada al conducto por una exposición coronal o por exposición de los túbulos dentinarios. Con el paso del tiempo, la microbiota endodóncica se vuelve más y más organizada tanto espacial como estructuralmente. (5)

En el caso de los colonizadores tardíos, los beneficios que proporcionan los factores de virulencia no serán, de utilidad, debido a que, ya no se enfrentarán a un real mecanismo defensivo del sistema inmune del huésped porque la respuesta defensiva inicial habrá disminuido o en la pulpa necrótica ni siquiera estarán activas en el tejido pulpar. (5)

Otros factores del ambiente al que están expuestas las bacterias que son determinantes para que las nuevas especies que entren al conducto se establezcan o no de forma exitosa; pueden ser:

- interacciones bacterianas,
- la tensión de oxígeno,
- tipo y cantidad de los nutrientes disponibles,
- pH,
- temperatura,
- receptores de adhesinas. (5)

La infección del conducto radicular es un proceso cambiante en el que dependiendo de la fase en la que se encuentre se modificará la composición de la microbiota lo cual se debe principalmente a los cambios de las condiciones ambientales dentro del conducto radicular, especialmente relacionado a la tensión de oxígeno y a la disponibilidad de nutrientes. En las fases iniciales del proceso infeccioso en la pulpa predominan bacterias de tipo facultativas. Pasando días o semana, el oxígeno se agota dentro del conducto a consecuencia de la necrosis pulpar y del consumo por las bacterias facultativas. Al verse interrumpido el aporte de oxígeno por la falta de circulación sanguínea se desarrolla un entorno anaerobio que permite la supervivencia y el crecimiento de bacterias anaerobias obligadas. De forma que, al pasar el tiempo, las condiciones anaerobias son las que privan en el conducto; en particular en el tercio apical las bacterias anaerobias predominan en la microbiota, superando en número a las bacterias facultativas. (4)

Se forman gradientes de tensión de oxígeno y nutrientes en los que en la región coronal se encontrará una mayor tensión de oxígeno, nutrientes de la cavidad oral (hidratos de carbono), mayores recuentos bacterianos y microorganismos más accesibles al tratamiento. En la región apical hay menor

tensión de oxígeno, nutrientes provenientes de los tejidos periapicales (proteínas y glucoproteínas), menores recuentos bacterianos y microorganismos menos accesibles a las medidas de tratamiento. (Figura 16) (4)

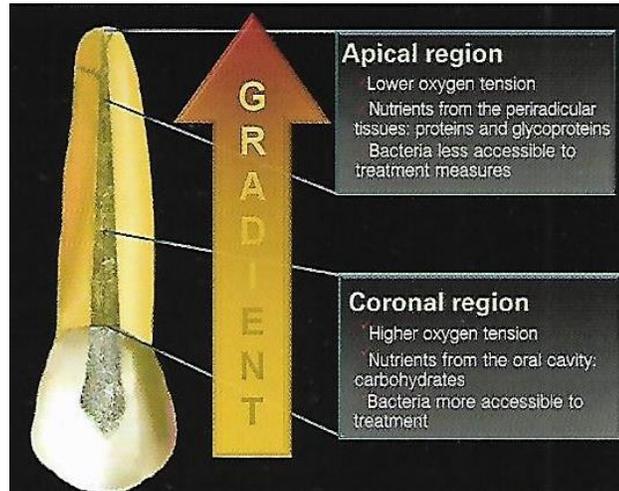


Figura 16. Diferentes condiciones ecológicas en el conducto radicular necrótico. (5)

Las principales fuentes de nutrientes de las bacterias que colonizan el sistema de conductos radiculares son:

- pulpa necrótica,
- proteínas y glucoproteínas de los líquidos tisulares y el exudado que entra al sistema de conductos radiculares a través de los forámenes apical y lateral,
- componentes de la saliva que penetran coronalmente en el conducto radicular,
- productos del metabolismo de otras bacterias. (4)

Las especies bacterianas que mejor compiten y utilizan los nutrientes en el sistema de conductos radiculares son las que tendrán éxito en la colonización. (4)

Los cambios en la composición de la microbiota del conducto también de la dinámica de utilización de nutrientes. Las especies sacarolíticas dominan en las fases más tempranas del proceso infeccioso; después se ven superadas por las asacarolíticas, que predominan en fases posteriores. La inducción de inflamación periapical garantiza una fuente mantenida de nutrientes y en esta fase hay dominio de bacterias proteolíticas. Al mismo tiempo, las proteínas se convierten en la principal fuente de nutrientes a medida que el proceso infeccioso causa inducción de inflamación periapical, particularmente en el ápice, lo que favorece el establecimiento de especies anaerobias que utilizan los péptidos o aminoácidos en su metabolismo. (4)

Las infecciones endodóncicas primarias se caracterizan por tener comunidades bacterianas mixtas; en ellas las bacterias se encuentran en estrecha proximidad y lo que permiten diversas interacciones entre sí. Las bacterias colonizadoras primarias son de suma importancia para decidir que especies vivirán con ellas en la comunidad. (4)

Existen interacciones positivas y negativas. Las interacciones positivas generan mejora en la capacidad de supervivencia de las bacterias, permiten la coexistencia de diferentes especies en hábitats donde no podrían sobrevivir por sí solas. Ejemplo de ello son las interacciones nutricionales interbacterianas (Figura 17), que dan lugar a mayor eficiencia metabólica de toda la comunidad. (4)

Las interacciones nutricionales están representadas por redes alimentarias, que incluyen la utilización de productos finales del metabolismo de una especie por otra y la colaboración bacteriana para degradar sustratos complejos provenientes del huésped. Ejemplo es que una especie puede brindar mejores condiciones de crecimiento para otra especie, reduciendo la tensión de oxígeno y favoreciendo el establecimiento de microorganismos anaerobios o liberando proteinasas que lo pueden proteger de las defensas del huésped. (4)

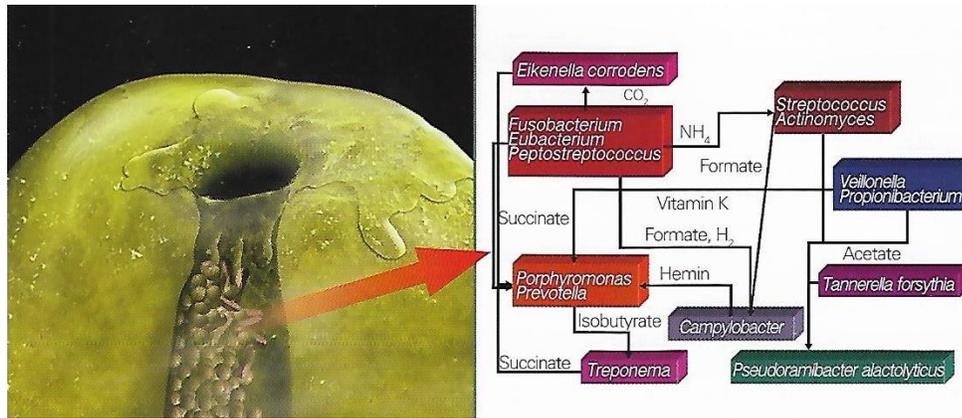


Figura 17. Interacciones nutricionales (cadena alimenticia) entre diferentes bacterias en las comunidades endodóncicas mixtas. (5)

Las interacciones negativas actúan como mecanismos que limitan la densidad de la población. Ejemplo de ello es la competitividad por los nutrientes, el espacio, y el amensalismo donde una especie produce una sustancia que inhibe a otras especies, incluyendo antibióticos como la penicilina. (4)

Muchas especies bacterianas, se adhieren directamente a las superficies del huésped, otras deben adherirse a las bacterias que ya está unidas a la superficie; esto se llama coagregación, la que favorece la colonización de las superficies del huésped y facilita las interacciones metabólicas entre los socios. Dos especies determinadas pueden unirse entre sí mediante interacciones de tipo lectina, la cual es una unión de una proteína específica de la superficie de una especie con un hidrato de carbono específico de la superficie de otra especie. (4)

La unión de colonizadores tardíos y colonizadores tempranos formará una comunidad bacteriana variada y dinámica en el conducto radicular. (5)

Las bacterias ejercen su patogenicidad provocando destrucción tisular por medio de mecanismos directos e indirectos. Los que causan daño de forma directa incluyen a los que dañan las células del huésped y su matriz intercelular; suelen involucrar productos secretados como enzimas, exotoxinas

y productos metabólicos finales; así como los componentes estructurales de las bacterias, como peptidoglicanos, ácido lipoteicoico, fimbrias, flagelos, proteínas y vesículas de la membrana externa, ADN, exopolisacáridos y lipopolisacáridos, por mencionar algunos factores que, al liberarse en los tejidos periapicales, estimulan reacciones inmunitarias del huésped las que además de iniciar una reacción de defensa, también causan destrucción tisular. Un ejemplo es la liberación de mediadores químicos como citosinas o prostaglandinas, que son producidas por la acción de los componentes bacterianos y son importantes inductores de reabsorción ósea; que es una característica en las lesiones por periodontitis apical crónica. (5)

En cuanto a los factores que causan daño indirecto está por ejemplo la formación de exudado purulento en el absceso apical agudo. Los mecanismos de defensa del huésped son un factor importante para la formación de exudado purulento asociada a abscesos. La formación de radicales libres derivados del oxígeno (super óxido y peróxido de hidrógeno), junto con la liberación de enzimas lisosomales dada por los leucocitos polimorfonucleares da lugar a la destrucción de la matriz extracelular de tejido conectivo con lo que la bacteria es capaz de ejercer efectos destructivos indirectos, que pueden ser aún más significativos en el daño asociado a las lesiones por periodontitis apical aguda y crónica. (5)

Las bacterias deben invadir los tejidos periapicales para ejercer su patogenicidad, ya sea que sus productos o componentes estructurales penetren los tejidos y evoquen la respuesta de defensa del huésped. Existen dos formas mediante las cuales las bacterias pueden invadir los tejidos, por motilidad o por crecimiento, la primera permite que las bacterias puedan escapar rápidamente de los fagocitos debido a su capacidad de movimiento, la segunda requiere que la tasa de reproducción de la bacteria esté por encima de los mecanismos de respuesta del huésped. (5)

La invasión bacteriana hacia los tejidos periapicales rara vez ocurre; el daño, ya sea directo o indirecto a los tejidos es causado por productos bacterianos secretados, o por componentes estructurales que se difunden fuera del conducto y son liberados por las bacterias que son rápidamente destruidas por las defensas del huésped. En los casos agudizados o en casos donde una lesión asintomática se infecta, el daño tisular también proviene de células bacterianas viables que invaden directamente los tejidos periapicales. (5)

Pocos patógenos endodóncicos de manera individual son capaces de inducir los eventos implicados en la patogénesis de las diferentes formas de periodontitis apical. El proceso de enfermedad requiere de la interacción integrada y las comunidades endodóncicas mixtas y sus respectivos factores de virulencia. (5)

### *Factores de virulencia*

Los factores de virulencia bacterianos son de diversa naturaleza como componentes estructurales y productos liberados de las células bacterianas. Además, hay estrategias bacterianas que contribuyen a la patogenicidad, como la capacidad de coagregación y formación de biopelículas, por lo tanto, también se les incluyen como factores de virulencia. (5)

Los factores de virulencia que se encuentran en la superficie celular o son secretados al ambiente, su función principal es estructural o fisiológica, más allá de causar daño tisular al huésped. (5)

Un solo factor de virulencia puede tener varias funciones en diferentes etapas de la infección, pero es muy poco probable que un solo factor de virulencia sea responsable del daño tisular asociado a las lesiones por periodontitis apical, es posible que determinado factor sea esencial en ciertos casos, pero no suficiente por sí solo para provocar la patogénesis de la enfermedad. (5) En la tabla que se muestra a continuación se exponen los diversos factores de virulencia involucrados en las diferentes etapas del proceso infeccioso.

Función	Factores de virulencia
Adhesión	Adhesinas Exopolisacáridos Ácido lipoteicoico Proteínas de la membrana externa Vesículas de la membrana externa
Invasión	Flagelos Enzimas (colagenasa, hialuronidasa, condroitín sulfatasa, fibrinolisisina, fosfatasa ácida y ADNasa)
Supervivencia (evasión de las defensas del huésped o adquisición de nutrientes)	Exopolisacáridos (cápsula) IgM, IgG, IgA, C3, y C5 proteinasas Lipopolisacáridos (Porción de antígeno O) Flagelos Exotoxinas Proteínas de choque térmico Productos metabólicos finales
Daño directo	Exotoxinas Enzimas (colagenasa, hialuronidasa, condroitín sulfatasa, gingipaínas (proteasas secretadas por P. gingivalis), aminopeptidasas, fosfolipasas, neuraminidasa, y fosfatasa ácida) Productos metabólicos finales (ácidos grasos de cadena corta, poliaminas, componentes volátiles de azufre, indol, amoniaco)
Daño indirecto	Lipopolisacáridos (principalmente la porción lípido A) Peptidoglicanos Ácido lipoteicoico Fimbrias Exopolisacáridos Proteínas de la membrana externa (porinas) Lipoproteínas ADN Proteínas de choque térmico

Tabla 1. Factores de virulencia involucrados en las diferentes etapas del proceso infeccioso.

(5)

### 2.3 Distribución espacial de la microbiota

Diversos estudios morfológicos han demostrado que en la microbiota del conducto radicular en las infecciones primarias predominan morfotipos bacterianos, que incluyen cocos, bacilos, filamentos y espiroquetas, y en raras ocasiones aparecen hongos. (4)

La mayoría de las bacterias que colonizan los conductos radiculares pueden proliferar en biopelículas que están adheridas a las paredes de dentina, aunque también es posible encontrar bacterias planctónicas, suspendidas en una fase líquida e integradas en el tejido pulpar necrótico. Asimismo, los conductos laterales, ramificaciones apicales e istmos que conectan dichos conductos pueden ser obstruidos por biopelículas bacterianas. (Figura 18). (4)

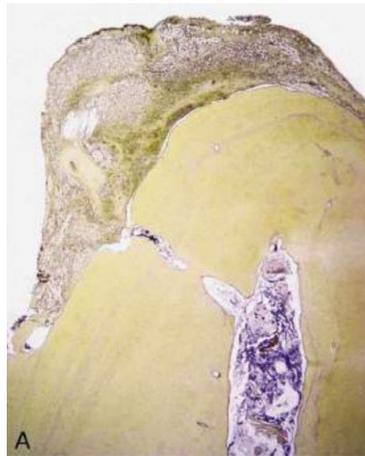


Figura 18. Biopelícula bacteriana en un conducto necrótico y una ramificación apical continua a los tejidos periapicales inflamados (aumento x25). (5)

La infección de los túbulos dentinarios se produce en el 70-80% de dientes que presentan lesión por periodontitis apical. Generalmente la penetración superficial es más frecuente, en algunos dientes se observa que las bacterias alcanzan las 300  $\mu\text{m}$ . (4)

Estudios in situ, como los realizados por Siquiera et. al., en los cuales han estudiado los patrones de colonización en las infecciones primarias del conducto radicular, muestran células bacterianas en división dentro de los

túbulos (Figura 19); lo que sugiere que los nutrientes, para dichas bacterias probablemente proceden de la degradación de los procesos odontoblásticos, colágeno desnaturalizado, bacterias que mueren durante la infección y los líquidos presentes al interior del conducto, que ingresan a los túbulos dentinarios por capilaridad. (4)

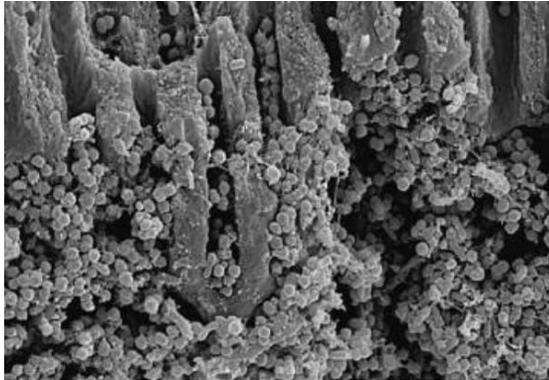


Figura 19. Infección en las paredes de un conducto radicular, en su mayoría por cocos, aunque también se observan bacilos. Los cocos están penetrando los túbulos de dentina (aumento x3.500). (5)

## Capítulo 3. BIOPELÍCULA

### 3.1 Composición y características

Actualmente, se reconoce, que la gran mayoría de los microorganismos en la naturaleza crecen y se comportan como miembros de comunidades metabólicas integradas denominadas biopelículas. El estudio de las biopelículas microbianas es de suma importancia en varios ámbitos como el industrial, ambiental y en la microbiología médica. Se ha demostrado que las biopelículas microbianas son partícipes en la corrosión de las tuberías y en la degradación de componentes estructurales sumergidos en las plataformas petroleras y barcos en altamar: así mismo pueden amenazar la seguridad del agua potable al crecer en tuberías de distribución de agua. (6)

En la microbiología médica, su relevancia es aún mayor debido a que se ha reportado que las infecciones provocadas por biopelículas representan aproximadamente entre el 65-80% de las infecciones humanas. En la cavidad oral se ha establecido que sus principales enfermedades son provocadas por biopelículas bacterianas y como ejemplo están la caries, gingivitis y la enfermedad periodontal. En la actualidad, como resultado de un gran número de estudios, se ha relacionado y establecido a la periodontitis apical como parte de las enfermedades bucales inducidas por biopelículas. (6)

La biopelícula se puede definir como comunidades microbianas sésiles adheridas a una superficie; compuestas de células inmersas en una matriz extracelular polimérica de producción propia y que exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la expresión de genes. (7)

Las comunidades microbianas de biopelículas fueron observadas muchos años antes de que se tuvieran las herramientas necesarias para estudiarlas a detalle. En el año de 1684, Anthony Van Leewenkoek comentó sobre la gran acumulación de microorganismos en la placa dental en un informe a la Royal Society of London. (8)

Fue a mediados del siglo XIX, cuando Robert Koch desarrolló métodos para crear un medio nutritivo sólido para cultivar y aislar cultivos puros de microorganismos. Este desarrollo propició grandes avances en la medicina, la agricultura y la industria. (8)

En 1940 en el *Journal of Bacteriology*, los autores Heukelekian y Heller escribieron acerca de que las superficies permiten que las bacterias se desarrollen en sustratos, que, de otro modo, estarían demasiado diluidos para el crecimiento. Claude Zobell describió muchas de las características fundamentales de las comunidades microbianas adheridas en la década de 1940. En las últimas décadas del siglo XX, se escribieron numerosos artículos sobre películas microbianas. (8)

A medida que las propiedades únicas de las comunidades microbianas frente a los microorganismos planctónicos se hicieron evidentes, resultó útil emplear el término adecuado para describirlas. Fue así como el término “Biopelícula” se usó coloquialmente entre los investigadores durante algunos años antes de que se considerara un término aceptable para su uso en publicaciones. El primer uso del término “Biopelícula” fue en una publicación llamada “Desarrollo de la película microbiana en un filtro percolador” de la revista *Microbial Ecology* en 1975. (8)

Los primeros investigadores de biopelículas estudiaron las implicaciones de estas en la filtración de aguas residuales, la bioincrustación de equipos industriales y la placa dental. La formación de biopelículas también está implicada en la corrosión influenciada por microorganismos, contaminación de productos, y las infecciones relacionadas con equipos médicos y heridas crónicas. La biopelícula también puede utilizarse para efectos positivos, especialmente en sistemas de pretratamiento de agua y suelos contaminados. (8)

El estudio de las biopelículas alcanzó su momento cumbre en julio de 1996 gracias al premio Nobel Joshua Lederburg por una conferencia llamada “La ecología microbiana y la enfermedad infecciosa” realizada por el Instituto Nacional de Investigación Dental en Bethesda. Un par de meses después se realizó otra conferencia alusiva a la biopelícula, esta vez organizada por la Sociedad Americana de Microbiología, y gracias a estas conferencias, la relevancia y la implicación clínica de la biopelícula se volvió un tema de vanguardia. (9) En la biopelícula bacteriana, las células individuales crecen y se agregan para formar microcolonias (poblaciones) que se encuentran incrustadas y distribuidas de forma estratégica en la matriz de exopolisacáridos y separadas por canales de agua. En la mayoría de las biopelículas, las poblaciones de bacterias representan menos del 10% de la masa seca, mientras que la matriz de exopolisacáridos puede representar más del 90%. En la biopelícula dental se pueden encontrar alrededor de 300 o más capas de células de espesor. (7)

La matriz de exopolisacáridos es de gran importancia en el funcionamiento de una biopelícula ya que le aporta características únicas a la comunidad y es determinante para su fisiología, producción y existencia. Los exopolisacáridos son biopolímeros hidratados (normalmente polisacáridos, pero también proteínas, ácidos nucleicos y lípidos) secretados por células bacterianas que componen la biopelícula. (6)

La matriz de exopolisacáridos cumple con funciones muy importantes para la comunidad microbiana y se enlistan a continuación:

- A) Como mediador de la adhesión de la biopelícula a una superficie, actuando como un “pegamento biológico”.
- B) Proporciona estabilidad mecánica a la biopelícula.
- C) Permite el acúmulo de enzimas extracelulares para que ejerzan actividades como la adquisición de nutrientes y la degradación cooperativa de macromoléculas complejas.

- D) Mantiene en cercanía a las células que componen la biopelícula de manera que favorece ciertas interacciones como el quorum sensing, intercambios genéticos y el sinergismo patógeno.
- E) Como fuente de nutrientes; debido a que cuando hay periodos de privación, aunque algunos componentes de la matriz pueden degradarse lenta o parcialmente.
- F) Retiene agua y mantiene un microambiente altamente hidratado que rodea a las poblaciones de la biopelícula.
- G) Contrarresta las defensas del huésped y la acción de los agentes antimicrobianos. (6)

Por lo anterior, la comunidad dentro de las biopelículas representa un sistema biológico complejo que está organizado estructural y dinámicamente. En la biopelícula las poblaciones celulares se colocan estratégicamente para que se pueda llevar a cabo una interacción metabólica adecuada y, la arquitectura resultante favorece la fisiología y el papel ecológico de la comunidad. (6)

Las propiedades que muestra la comunidad de una biopelícula de múltiples especies están dadas sobre todo por las interacciones entre las poblaciones, las cuales crean nuevas funciones fisiológicas que no se muestran en componentes individuales (bacterias aisladas), por lo que si se analiza el comportamiento complejo de las comunidades bacterianas de las biopelículas se pueden comparar y parecer al comportamiento de los organismos multicelulares. (6)

Otros aspectos relevantes de la biopelícula son el encapsulamiento e inmovilización de las poblaciones bacterianas cercanas, que favorecen la cooperación y la comunicación entre los miembros de la comunidad. (6)

-La cooperación es importante para la disponibilidad de nutrientes y también para conferir resistencia a las tensiones ambientales. (6)

-La comunicación es fundamental para la virulencia y la supervivencia de los microorganismos. (6)

Existen varios beneficios para las bacterias que se agrupan en comunidades de una biopelícula como las siguientes:

- Creación de un rango de hábitat de mayor amplitud para permitir el crecimiento de una microbiota más diversa.
- Mayor diversidad y eficiencia metabólica gracias a las redes alimentarias y a la cooperación enzimática para la degradación de nutrientes complejos.
- Protección contra microorganismos competidores, defensas del huésped, agentes antimicrobianos y tensiones ambientales.
- Comunicación célula-célula (Quorum sensing).
- Intercambios genéticos facilitados, incluyendo a los genes que codifican resistencia a los antibióticos y para los factores de virulencia.
- Mayor patogenicidad, gracias al sinergismo entre las diversas especies de la comunidad bacteriana, dando como resultado un efecto patógeno.

(6)

### 3.2 Bacterias planctónicas y sus diferencias con la biopelícula.

Las bacterias planctónicas son especies que viven en estado flotante y se encuentran individualmente a diferencia de la biopelícula que es una estructura altamente organizada con comunidades microbianas de diversas especies. Diversos estudios han demostrado que las propiedades fisiológicas de las bacterias que se integran a una biopelícula son diferentes a las que muestran esas mismas bacterias cuando se encuentran en un cultivo líquido. (10)

Ciertas especies bacterianas muestran nuevos tipos con mayor virulencia cuando crecen en una biopelícula. Por lo cual, las bacterias dentro de las biopelículas presentan una alta resistencia a los antimicrobianos a comparación de las bacterias que se encuentran en estado planctónico. (10)

La adhesión de los microorganismos a una superficie desencadena una alteración en la expresión de un gran número de genes, lo que lleva a un cambio del fenotipo bacteriano. El carácter de tales cambios inducido en la superficie depende tanto de los microorganismos como de la naturaleza de la superficie involucrada. Uno de los microorganismos más estudiados es *Pseudomonas* spp. Las primeras investigaciones, utilizando tecnología de genes informadores, demostraron que la unión a una superficie de vidrio regulaba el aumento en la expresión del gen para la producción de sustancias adherentes en 15 minutos, lo que resultaba en células más firmemente adheridas; la adhesión va acompañada de alteraciones cuantitativas de la síntesis de proteínas, así como, la síntesis de nuevas proteínas expresadas únicamente en células adherentes. (10)

Se han informado cambios similares asociados con la superficie en las expresiones de genes y proteínas para las bacterias orales. Por ejemplo, la exposición de *Streptococcus gordonii* a la saliva da como resultado la inducción de genes que codifican proteínas que se unen a las glicoproteínas salivales. Por lo tanto, es posible que la adherencia de lugar a nuevos fenotipos en las biopelículas dentales. No obstante, las expresiones génicas alteradas y la síntesis de proteínas, nuevos fenotipos, también podrían surgir debido a las condiciones locales dentro de la biopelícula. Por ejemplo, para *Streptococcus mutans*, se encontró que los genes asociados con la síntesis de polímeros estructurales se expresan de manera diferente en la biopelícula madura en comparación con la inicial. Los autores concluyeron que esto es un efecto del pH ambiental y la cantidad de carbohidratos en la biopelícula. (10)

Por medio de pruebas proteómicas o matrices de ADN se ha demostrado que la expresión de genes de las bacterias organizadas en biopelículas difiere en hasta un 20-70% de las mismas células bacterianas creciendo de forma planctónica. (6)

### 3.3 Crecimiento y desarrollo

Se podría pensar que la formación de las biopelículas en Endodoncia es muy similar a la formación de cualquier otra biopelícula encontrada en la naturaleza, lo cual indicaría que su formación estaría dada por la colonización de una superficie sólida por bacterias planctónicas flotando en una fase fluida que baña la superficie, sin embargo, para que la formación de las biopelículas en el conducto radicular asemejara esa dinámica, el tejido pulpar tendría que necrosarse y pasar por el proceso de licuefacción antes de la colonización bacteriana. Hay que tener en cuenta que la invasión bacteriana del conducto es por bacterias presentes en lesiones cariosas que provocan la exposición del tejido pulpar; que puede estar vital; por lo que la dinámica de formación es diferente comparando en una biopelícula endodóncica a cualquier otra biopelícula; esto respaldado por observaciones histobacteriológicas. (6)

La caries dental es una enfermedad causada por biopelículas. A medida que una lesión cariosa avanza hacia la pulpa, la biopelícula también lo hace. Cuando se presenta una exposición pulpar por lesión cariosa avanzada, la pulpa se expone principalmente a bacterias presentes en la biopelícula de caries y a bacterias planctónicas que se encuentran en la saliva; lo que ocasiona que la pulpa debajo de la lesión cariosa se inflame severamente, se cause la necrosis que avanza para involucrar a la pulpa cameral y así ir progresando hacia dentro del tejido pulpar en dirección apical; finalmente la pulpa apical se necrosa y se infecta. Es decir, la formación de la biopelícula ocurre gradualmente en el conducto a medida que el proceso infeccioso migra en sentido apical. (Figura 20) (6)

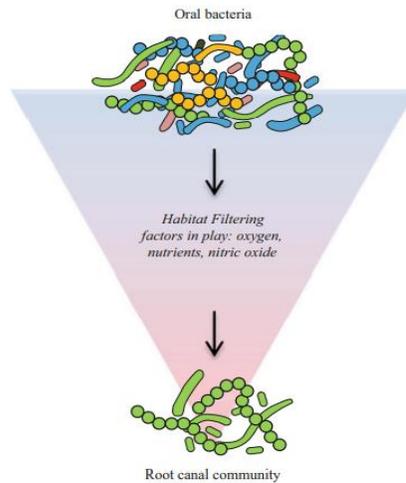


Figura 20. Selección de colonizadores de conductos radiculares de acuerdo con las condiciones del hábitat, que muestra bacterias orales invasoras, los factores de filtración ecológicos y los colonizadores exitosos del conducto radicular. (13)

En la infección avanzada del conducto radicular, la biopelícula entra en contacto con los tejidos del huésped, los que se encuentran inflamados, el área involucrada en el proceso de inflamación contiene grandes cantidades de exudado inflamatorio, rico en proteínas y glicoproteínas que sirven como fuente óptima de nutrientes para el avance de las comunidades bacterianas. (6)

En cortes histobacteriológicos, se observa que la biopelícula no sólo se encuentra adherida a las paredes del conducto radicular si no que también recubre el tejido inflamado en la primera línea de la infección. (Figura 21) En conjunto con observaciones microscópicas, los estudios microbiológicos de la microbiota tanto de caries dental como de infecciones endodóncicas primarias, parecen respaldar la teoría que explica que la formación de la biopelícula en las paredes del conducto radicular progresa hacia apical a medida que la infección progresa en la misma dirección. (6)

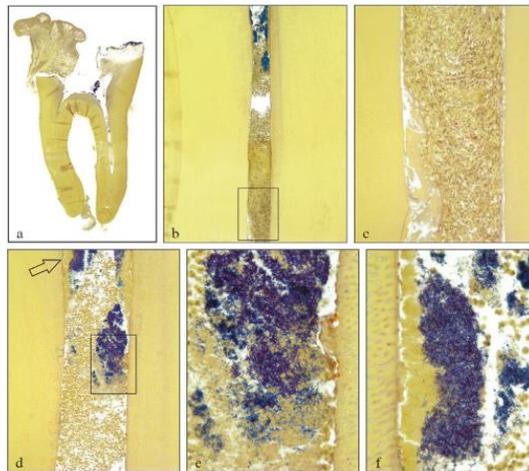


Figura 21. Biopelícula en la primera línea de infección. (6)

Así se explica por qué varias especies bacterianas presentes en lesiones cariosas profundas también se han encontrado en la infección intrarradicular primaria, se establece que las especies bacterianas participantes en el proceso de inflamación y necrosis son colonizadoras pioneras de la necrosis del conducto radicular. Conforme avance el proceso infeccioso hacia el tercio apical es probable que las bacterias que avanzan reciban “refuerzos” de las especies recién llegadas provenientes de la saliva; una vez que la infección alcanza la zona apical, que existe la posibilidad de que los colonizadores tardíos presentes en la fase fluida del conducto necrótico puedan integrarse a las biopelículas siempre y cuando sean competentes y aporten ventajas ecológicas a la comunidad bacteriana. (6)

Con el tiempo, la biopelícula se convierte en una estructura organizada, obtiene un estado de equilibrio y estabilidad, es decir, una comunidad clímax. (3) Este equilibrio permanecerá estable a menos que existan cambios ambientales drásticos que pongan en riesgo la estabilidad de la comunidad. (6)

El proceso de formación de la biopelícula en el conducto radicular no es aún muy conocido. (Figura 22) La teoría más aceptada consta de cuatro fases y fue descrita por Svensater y Bergenholtz. (11)

-Primera fase, se forma una película adhesiva sobre la dentina, promovida por el depósito de proteínas y otros compuestos derivados de las bacterias en suspensión, del proceso de necrosis y/o inflamación. (11)

-Segunda fase, sobre esa película pegajosa, se fijan algunas bacterias específicas con capacidad de adhesión, de todas las que están en suspensión. (11)

-Tercera fase, la primera capa de bacterias y adherida, segrega mediadores que, van fijando más y más bacterias, de la misma especie o de otras, y van formando la matriz extracelular de polisacárido, que sirve de barrera defensiva. (11)

-En la cuarta y última fase, la biopelícula madura y crea sistemas de defensa más complejos; también arroja bacterias al exterior que cronifican la respuesta inflamatoria del huésped. Siqueira y Rocas mencionan que en esta etapa el conjunto de la biopelícula puede consistir en 15% bacterias y 85% de matriz de polisacáridos, además de contar con más de 300 capas de bacterias superpuestas. (11)

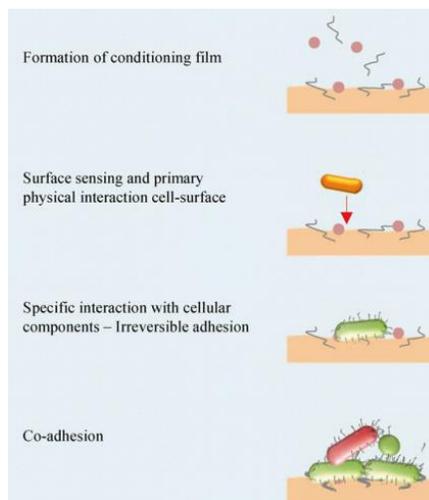


Figura 22. Etapas iniciales de formación de una biopelícula. Descripción esquemática de los enfoques generales de la interacción celular inicial de las células planctónicas con sustratos recubiertos. (14)

### 3.4 Mecanismos de comunicación interbacteriana

El sistema de comunicación bacteriano se denomina quorum sensing; en el que por medio de moléculas de señalización química las bacterias se pueden comunicar entre sí. Este sistema permite a las bacterias monitorear el medio ambiente en busca de otras bacterias y permite la alteración de su comportamiento en una escala poblacional, así, la actividad de un quórum de células puede incrementar la supervivencia exitosa de las bacterias. El quorum sensing está relacionado con la formación de las biopelículas y permite hacer frente a las tensiones ambientales. (Figura 23) (12)

Los procesos fundamentales en la formación de biopelículas engloban la unión a una superficie, la proliferación celular, adherencia a otras bacterias, producción de matriz extracelular, maduración y la dispersión. Estudios moleculares de la microbiota oral y específicamente de la placa dental, muestran que la distribución espacial de las especies dentro de las biopelículas y la distancia entre célula y célula son factores determinantes para el proceso de comunicación intermicrobiana. Las interacciones son muy específicas entre las bacterias y al formar conjuntos ordenados de bacterias

con interacciones moleculares específicas entre las especies, el resultado es que las bacterias logran adaptarse de mejor manera a las condiciones ambientales fluctuantes de la biopelícula. (13)

Las bacterias pueden comunicarse, cooperar y alterar su comportamiento en respuesta a los cambios de su ambiente comunitario por procesos individuales y sociales. Determinadas bacterias se comunican y coordinan su comportamiento a través de una síntesis constitutiva de pequeñas moléculas de señalización usando el quorum sensing. Cuando una población de alta densidad alcanza un cierto umbral (quorum), la concentración de niveles normalmente bajos de ciertas moléculas se vuelve lo suficientemente alto como para actuar como auto inductores que tiene como resultado la respuesta sincronizada en toda la población de la biopelícula. La mayor expresión de receptores específicos ayuda a mejorar la supervivencia que es de suma importancia para lograr el proceso de colonización y virulencia. La unión del autoinductor a receptores afines inicia la transcripción de genes implicados en la regulación de la densidad celular. (13)

El quorum sensing permite una regulación coordinada de la expresión de proteínas clave en las biopelículas, que se involucran potencialmente en la patogenicidad bacteriana. Los antimicrobianos que interrumpen el quorum sensing parecen inhibir la virulencia de los patógenos, pero no necesariamente la letalidad. (13)

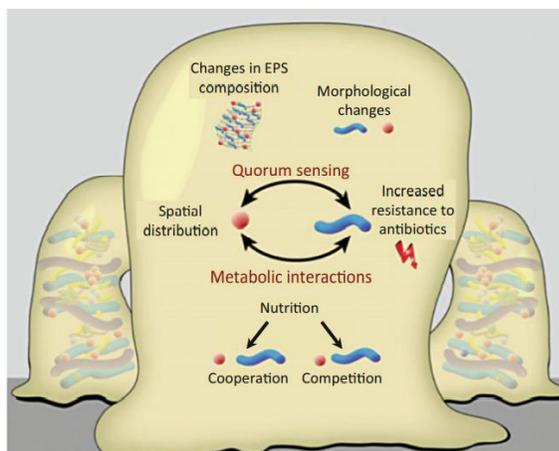


Figura 23. Procesos individuales y sociales que ocurren dentro de la comunidad de las biopelículas. Los microorganismos dentro de una biopelícula mixta interactúan a través del quorum sensing y/o metabólicamente. (13)

### 3.5 Resistencia a los antimicrobianos

El uso de antimicrobianos a largo plazo conduce al desarrollo de resistencia, debido a la transferencia de genes de resistencia, de forma que el agente antimicrobiano se vuelve ineficaz. (12) Las bacterias organizadas en biopelículas son mucho más resistentes a antibióticos que las que se encuentran en estado flotante, se considera que en comparación; se necesitan entre cien y mil veces mayor concentración de antibiótico para lograr erradicar a las bacterias de una biopelícula. (4) Las biopelículas formadas por las bacterias orales son más resistentes a la clorhexidina, fluoruro de amino, amoxicilina, doxicilina y metronidazol, que las bacterias planctónicas. (14)

Existen varios mecanismos que se relacionan con la resistencia de las biopelículas a los agentes antimicrobianos. (Figura 24) (4)

Uno de ellos es la estructura de la biopelícula, ya que la matriz de exopolisacáridos actúa como una barrera, reteniendo enzimas extracelulares, tales como las betalactamasas y por consiguiente hay una inactivación de los antibióticos. (12) El agente antimicrobiano puede inhibir bacterias que se encuentren en la superficie de la biopelícula, sin embargo, no afectan

significativamente a las bacterias situadas en las zonas más profundas de la biopelícula. (4)

Hay una alteración en la tasa de crecimiento bacteriano de las biopelículas; aunque los antibióticos puedan penetrar libremente la matriz de la biopelícula, las células aún se encuentran protegidas. (4) Debido al agotamiento de nutrientes se ven forzadas a entrar en un estado de latencia y esto permite que se protejan de ser eliminadas fácilmente. (12) La aparición de bacterias que se mantienen en ayuno y pasan a fase estacionaria son un factor significativo para la resistencia de las poblaciones a los antimicrobianos debido a que las bacterias que se encuentran en una biopelícula establecida crecen de manera lenta cuando hay una baja en la disponibilidad de nutrientes y, por consiguiente, son menos susceptibles a los antimicrobianos a comparación de las células que se dividen con mayor rapidez. En su mayoría, los antimicrobianos necesitan cierto grado de actividad celular para ejercer su eficacia, siendo así, que las bacterias en fase estacionaria podrían representar un mecanismo general de resistencia a los antibióticos. (4)

Otro mecanismo asociado a la resistencia antimicrobiana es la ubicación selectiva de los nichos de bacterias anaerobias en las zonas más profundas de las biopelículas. Una subpoblación denominada bacterias persistentes que puede pertenecer a cualquier tipo bacteriano, se encuentran en un estado fenotípico altamente resistente lo que les confiere resistencia a ser erradicados por numerosos agentes antimicrobianos. (12)

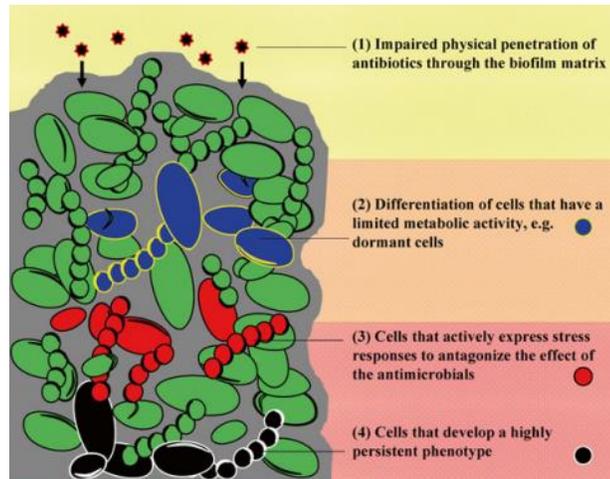


Figura 24. Mecanismos de resistencia de la biopelícula bacteriana. (14)

## Capítulo 4. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA BIOPELÍCULA EN ENDODONCIA

La investigación microbiológica contemporánea ha permitido comprender que las interacciones entre los microorganismos son complejas y juegan un papel importante en la patogénesis ya sea por mecanismos sinérgicos o antagónicos. Esta comprensión ha logrado conocer mejor los mecanismos involucrados y a un cambio de naturaleza monomicrobiana a polimicrobiana, el estudiar las biopelículas del conducto radicular in vitro. (12)

El estudio de la biopelícula ha sido de relevancia clínica debido a su alta resistencia a la exposición de agentes antimicrobianos, y comprender el estado fisiológico de las bacterias con respecto a su nivel potencial de actividad en los procesos de enfermedad. No obstante, la descripción del estado de los microorganismos es muy compleja en casos como las infecciones crónicas como la periodontitis apical. (14)

Las propiedades funcionales de las biopelículas están relacionadas con su estructura tridimensional. Es necesario comprender y estudiar su arquitectura, para su observación a escala celular, y en relación con la matriz extracelular. (12)

El estudio de las biopelículas requiere el uso de técnicas que permitan la observación de reconstrucciones de las comunidades. Se han creado modelos para recrear entornos de biopelículas. De la misma forma, los estudios metagenómicos han aumentado el conocimiento de la complejidad de las relaciones microbianas dentro de la población de las biopelículas. (12)

Actualmente las biopelículas se estudian de dos formas, una de ellas es por los conglomerados de microorganismos como una sola unidad, y la otra estudiando los efectos y relaciones entre una especie y otras. Debido a los avances tecnológicos y de biología computacional ahora es posible estudiar la expresión génica y proteica de dichas comunidades, revelando así el papel

que juega cada especie en una comunidad específica. La identificación de la naturaleza exacta de una biopelícula intraconducto es un gran desafío, ya que pocas técnicas son capaces de recrear tanto la matriz extracelular como los microorganismos en esa biopelícula. Existen numerosas ventajas de usar un modelo de biopelícula in vitro, que incluyen la facilidad de modificación, control de las variables, bajo costo y facilidad de replicación. (12)

Existen una variedad de métodos microscópicos in situ, para identificar subpoblaciones y analizar el estado fisiológico de las células bacterianas en las biopelículas. Algunos de estos métodos incluyen marcadores moleculares que permiten el estudio de la integridad de la membrana celular, la actividad metabólica o la identificación de genes que codifican antes tensiones ambientales. (14)

#### 4.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica (ME) de transmisión o de barrido (Figura 25) permite observar a mayor aumento las muestras fijadas y deshidratadas y, combinando con detectores específicos, permite también el análisis de la composición elemental en regiones específicas de la muestra. (14) (El uso de la microscopía electrónica de barrido el uso de tintes fluorescentes, ya que permite escanear ecosistemas microbianos para obtener información cualitativa, así como un análisis detallado de estructuras morfológicas como la superficie celular de una bacteria o la identificación de daño en la membrana celular; también permite analizar las interacciones célula a célula mediante la detección de cambios estructurales en los ecosistemas: (12) provee resolución y ampliación lo cual permite tener una visión a mayor detalle de la estructura de la biopelícula y de su entorno. (14) La preparación de la muestra para este tipo de microscopía involucra condiciones de alto vacío que resultan en la distorsión de la matriz polimérica extracelular lo cual puede tomarse como una desventaja. Los métodos de bajo vacío, como la SEM ambiental, pueden ser más útiles en este sentido. (12)

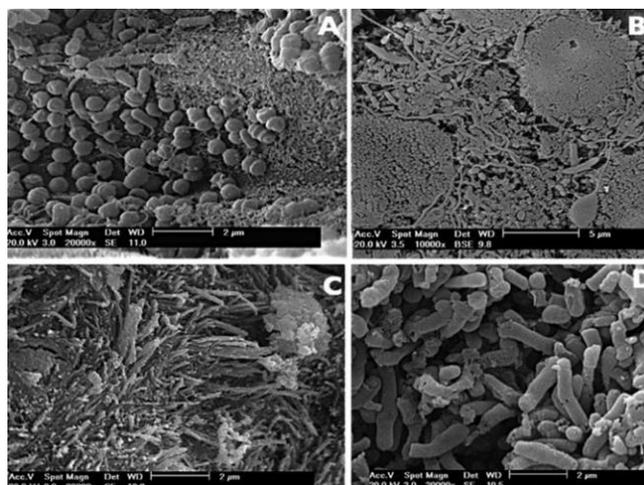


Figura 25. Microorganismos observados en biopelícula en las paredes de conductos radiculares de dientes con infecciones endodóncicas primarias por medio de SEM. (13)

#### 4.2 Microscopía de escaneo láser confocal

La microscopía de escaneo láser (LSM) (Figura 26) la década de 1980 causó un cambio de paradigma en la microscopía de luz (14); ya que permite la investigación no destructiva de los ecosistemas de la biopelícula y la observación de la disposición espacial hidratada a nivel celular. (12) Esta técnica es conocida como microscopía de barrido láser confocal (CLSM) (Figura 27); actualmente es la herramienta de mayor importancia para la obtención de imágenes tridimensionales in situ de comunidades microbianas. (14) El uso de marcadores fluorescentes permite apuntar células en particular o inclusive a ciertos componentes de la matriz extracelular. (12)

Mediante el empleo de tinciones específicas es posible la diferenciación de bacterias vivas y muertas muchas veces demostrada por señales fluorescentes verdes o rojas. Sin embargo, esto puede ser controvertido ya que el procesamiento de una muestra puede provocar la muerte bacteriana, y por lo tanto, determinar de forma errónea sobre la eficacia de un enfoque de tratamiento. A pesar de esto, la técnica permite tener una idea clara de la efectividad de las soluciones y técnicas para la disrupción de la biopelícula

utilizando una reconstrucción tridimensional de la biomasa para estudiar la arquitectura de la biopelícula. Las limitaciones de la técnica son las mismas que las de la microscopía óptica, incluyendo el hecho de que no se puede visualizar la ultraestructura celular, lo que requiere imágenes de mayor resolución. (12)

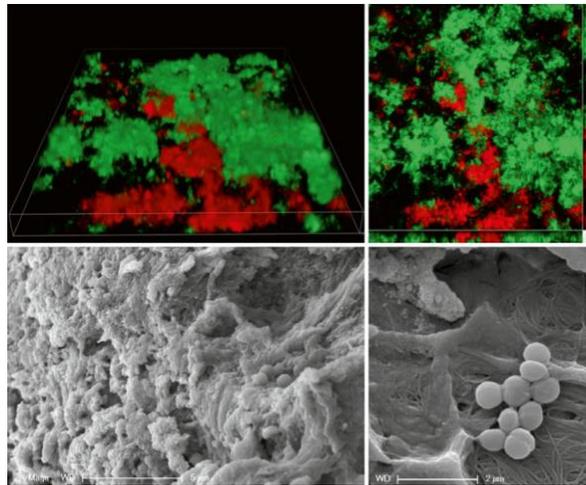


Figura 26. Técnica de LSM y SEM. Las imágenes superiores muestran una reconstrucción 3D de la estructura de biopelícula y el uso de un marcador fluorescente de viabilidad celular. Las imágenes de abajo muestran la estructura de una biopelícula en el ápice de un diente.

(14)

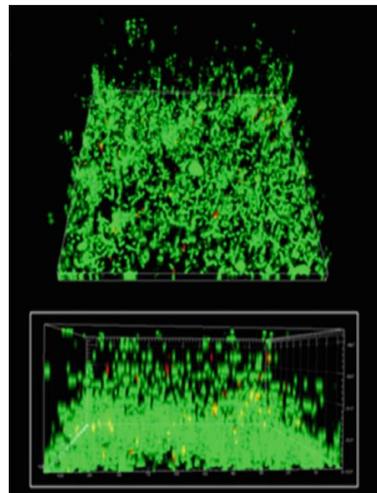


Figura 27. Reconstrucción de microscopía de barrido láser confocal tridimensional de biopelícula de *E. faecalis* (x60). (13)

### 4.3 Hibridación in situ de fluorescencia de rRNA (FISH)

Técnica que se usa en combinación con microscopía de barrido láser confocal; es una de las herramientas más poderosas de la microbiología moderna debido a que permite la visualización de subpoblaciones específicas de células mientras que mantiene sin alteraciones la estructura 3D de la biopelícula; permite la detección y enumeración específica de subpoblaciones de biopelículas in situ en su entorno natural sin necesidad de cultivo. (Figura 28) (14)

En Endodoncia FISH se ha utilizado para visualizar e identificar bacterias de lesiones periapicales de dientes asintomáticos con tratamiento de conductos previo. Además, los modelos de biopelículas que utilizan microscopía confocal láser-FISH pueden ser de gran ventaja para investigar la distribución de especies en biopelículas multiespecies. (14)

Atto 488	●	5' -TAG CCG TCC CTT TCT GGT -3'	<i>Streptococcus (STR405)</i>
Atto 565	●	5' -YCA CCG CTA CAC ATG RAG TTC CAC T-3'	<i>Lactobacillus &amp; Enterococcus (LAC722)</i>
Pacific blue	●	5' -GCT ACC GTC AAC CCA CCC -3'	<i>Actinomyces (JF201)</i>
Atto 425	●	5' -CCC TCT GAT GGG TAG GTT -3'	<i>Enterococcus (EFS129)</i>

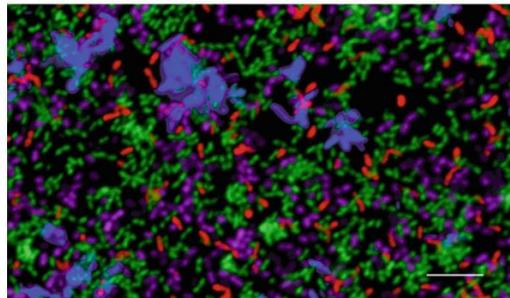


Figura 28. Identificación de bacterias por hibridación in situ de fluorescencia. Sonda fluorescente 16s rRNA usada para la identificación de 4 bacterias del conducto radicular en cultivo de biopelícula multiespecie. (13)

#### 4.4 Marcadores de viabilidad celular

Se define como viabilidad de las bacterias a la capacidad de las células para realizar todas las funciones celulares necesarias para sobrevivir en determinadas condiciones. El método con el que comúnmente se evalúa la viabilidad bacteriana es el crecimiento en placas, donde el número de células viables se aproxima al número de unidades formadoras de colonias. En las infecciones del conducto radicular, las técnicas de cultivo han sido el método estándar para evaluar dicha viabilidad bacteriana. Una vez que las bacterias vivas de los conductos radiculares se aislaron después del crecimiento en un sustrato específico, las propiedades metabólicas de estos aislados bacterianos se utilizan para inferir las funciones potenciales de estos y otros microorganismos relacionados en un contexto clínico. (14)

Sin embargo, en determinadas circunstancias, dicho método puede subestimar el número de bacterias viables debido a varios motivos, como en los casos en los que están presentes microorganismos levemente dañados, cuando los medios de cultivo de laboratorio empleados son deficientes en uno o más de los nutrientes requeridos para el crecimiento de alguna bacteria de la muestra, o cuando hay células viables que han perdido la capacidad formadora de colonias. Igualmente, las bacterias existentes en una biopelícula pueden asumir un estado de baja actividad metabólica similar al crecimiento planctónico en fase estacionaria. Las bacterias en estados activos tan bajos pueden ser indetectables mediante las técnicas de cultivo regulares. El alcance de este problema se refleja en el uso indiscriminado de términos que se utilizan para evaluar estados no viables tales como muerto, moribundo, hambriento, inactivo, viable pero no cultivable, lesionado, dañado subletalmente, inhibido y resucitable. Muchos de estos términos se utilizan conceptualmente y no reflejan un conocimiento real del estado de viabilidad exacto del organismo en cuestión. (14)

Actualmente hay una serie de indicadores de viabilidad celular que se pueden evaluar a nivel de una sola célula sin cultivar; estos indicadores se basan principalmente en moléculas fluorescentes, que pueden detectarse con microscopía de epifluorescencia o microscopía de barrido láser. Un ejemplo es el kit LIVE/DEAD (Figura 29) que prueba la integridad de la membrana celular mediante la aplicación de dos colorantes de ácidos nucleicos; puede detectar células muertas/lesionadas (color rojo) e intactas (color verde). Esta sonda fluorescente se ha utilizado para evaluar la viabilidad de cepas de conductos radiculares ex vivo y también para la determinar la autoagregación y la coagregación de bacterias aisladas de dientes con infecciones endodóncicas agudas. Existen sondas fluorescentes alternativas que se dirigen a funciones celulares muy específicas tales como la respiración bacteriana para probar la viabilidad bacteriana. (14)

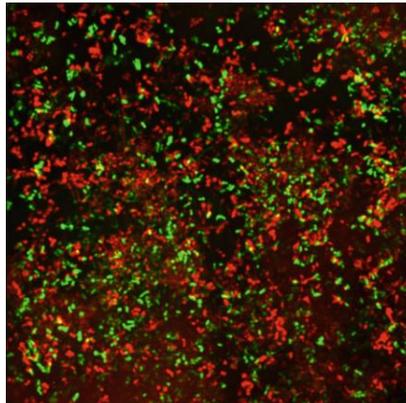


Figura 29. Imagen de microscopía de fluorescencia de colonias bacterianas teñidas con colorante fluorescente LIVE/DEAD. (13)

#### 4.5 Modelos in vivo para pruebas de biopelícula

Para mejor comprensión de la patogenia de las enfermedades polibacterianas humanas, como las infecciones orales; incluyendo la periodontitis apical, se hace necesario el uso de modelos experimentales que imiten de cerca las características in vivo de la enfermedad. Sin embargo, el modelado de infecciones polibacterianas presenta una serie de desafíos específicos como:

el establecimiento de una infección mixta, o controlar los efectos de la microbiota nativa. (14)

Las infecciones orales, incluida la periodontitis y las infecciones de tipo endodóncico, se han modelado en la cavidad oral de ratas tratadas con antibióticos o en infecciones de heridas en la piel de ratones. Aunque el modelo es una representación más cercana de la enfermedad, el modelo de la infección de la herida es más fácil de administrar y monitorear, también es más fácil excluir otras bacterias. No obstante, los modelos han sido de utilidad para revelar algunas interacciones que influyen en las enfermedades bucodentales. (14)

Los avances de los modelos in vivo permitirán en un futuro observar con mayor detalle los eventos de las infecciones humanas y probablemente ayuden a mejorar la comprensión de las infecciones crónicas y cerrar la brecha existente entre el laboratorio y la clínica. (14)

## Capítulo 5. TIPOS DE INFECCIONES ENDODÓNICAS SEGÚN SU LOCALIZACIÓN ANATÓMICA

### 5.1 Infección intrarradicular

La infección intrarradicular se debe a microorganismos que colonizan el sistema de conductos radiculares y se puede subdividir de la siguiente forma:

#### *Infección intrarradicular primaria.*

Se trata de una infección del tejido pulpar en condición de necrosis, se presenta en dientes que no han recibido tratamiento de conductos radiculares y es la causante de la periodontitis apical primaria. (Figura 30) Los microorganismos que participan en esta infección pueden estar implicados en las primeras fases de la invasión a la pulpa, que termina en inflamación y necrosis del tejido, o pueden haber sido los últimos microorganismos en llegar, que utilizan las condiciones ambientales del conducto radicular a su favor después del establecimiento de la necrosis pulpar. (4)



Figura 30. Infección intrarradicular primaria. (4)

Este tipo de infección se caracteriza por la presencia de una comunidad variada en la que predomina la presencia de bacterias de tipo anaerobias. Diversos estudios han demostrado que en promedio hay de 10 a 20 especies

por conducto radicular infectado y que los dientes con tractos sinusales asociados pueden mostrar una diversidad de especies superior. (4)

El tamaño de las lesiones por periodontitis apical es directamente proporcional al número de especies bacterianas que se encuentren en el conducto radicular. Un estudio molecular permitió observar que el número de taxones por conducto radicular está íntimamente relacionado a la proporción del tamaño de la lesión, por lo cual se estableció que en lesiones pequeñas que miden no más de 5 mm pueden contener alrededor de 12 taxones; lesiones que miden entre 5 y menos de 10 mm puede incluir 16 taxones y las lesiones más grandes que miden más de 10 mm pueden albergar más de 40 especies, por lo que se concluye que a mayor tamaño de la lesión, mayor variedad y densidad bacteriana. (4)

En las infecciones intrarradiculares se han detectado tanto bacterias Gram negativas como Gram positivas, las primeras pueden encontrarse de los géneros *Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Pyramidobacter*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veillonella*; mientras Gram positivas como, como *Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*. (4)

A continuación, se mencionan las principales especies bacterianas considerados como patógenos endodóncicos:

*Bacterias negras pigmentadas.*

Son Gram negativas, anaerobias; se reclasificaron en dos nuevos géneros, las especies conocidas como sacarolíticas se convirtieron en el género *Prevotella* y las especies asacarolíticas se nombraron como *Porphyromonas*. Las especies que comúnmente se encuentran en las infecciones endodóncicas primarias son *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. tanneriae*, *Prevotella multissacharivorax*, *Prevotella baroniae*, y *Prevotella denticola*; de las especies

*Porphyromonas spp*, únicamente *P. endodontalis* and *P. gingivalis* han sido encontradas frecuentemente en las infecciones endodóncicas y se deduce que tienen gran importancia en la etiología de las diferentes formas de lesiones por periodontitis apical, incluyendo también a los abscesos apicales agudos. (15)

#### *Tanerella forsythia.*

Es un patógeno periodontal, detectado por primera vez en la infección endodóncica mediante PCR; diversos estudios han confirmado a esta especie como miembro común de la microbiota que se asocia a los diferentes tipos de infecciones endodóncicas, también incluidos los abscesos. (15)

#### *Dialister.*

Grupo bacteriano que se considera como anaerobias obligadas y asacarolíticas; con morfología de cocobacilo, se ha encontrado consistentemente en las infecciones endodóncicas; después de la introducción de técnicas de biología molecular, las especies mayormente encontradas en las infecciones endodóncicas tanto sintomáticas como asintomáticas son *Dialister pneumosintes* y *Dialister invisus*. (15)

#### *Fusobacterium.*

Especies frecuentes de la microbiota endodóncica en las infecciones primarias incluyendo los casos de absceso; la más representativa es *Fusobacterium nucleatum*. Debido a los enfoques de tipificación microbiana se han encontrado diversos tipos clonales de *Fusobacterium nucleatum* que han sido aislados de conductos radiculares infectados. De igual forma se ha encontrado a *Fusobacterium periodonticum* en casos de abscesos agudos de origen endodóncico. (15)

#### *Espiroquetas.*

Son bacterias Gram negativas de forma en espiral, con alta capacidad de movimiento, tienen flagelos periplásmicos que se originan en los polos

opuestos de la célula y por lo general son lo suficientemente largos para superponerse cerca de la mitad del cuerpo celular. Todas las espiroquetas orales entran en el género de *Treponema*, las cuales se asocian con muchas enfermedades de la cavidad oral. Mediante los métodos de biología molecular se ha confirmado que están presentes en las infecciones primarias y las más prevalentes en las infecciones de origen endodóncico son *Treponema denticola* y *Treponema socranskii*, mientras que las de prevalencia moderada son *Treponema parvum*, *Treponema maltophilum* y *Treponema lecithinolyticum*. (15)

Se sabe que hay especies bacterianas que aún no se han cultivado y por lo tanto no han sido identificadas. Se considera que alrededor del 40-66% de la microbiota endodóncica que se encuentra en las infecciones primarias está conformada por especies que aún no se han cultivado. (4)

#### *Infección intrarradicular secundaria y persistente.*

Las infecciones intrarradiculares secundarias son causadas por microorganismos que no estaban presentes antes de la intervención del profesional (tratamiento de conductos) y son causadas por invasores secundarios, que encuentran acceso al conducto radicular durante el tratamiento, entre cita y cita, o bien, después de la obturación del sistema de conductos radiculares. (5)

El descuido en la asepsia empleada durante los procedimientos es la causa principal por la que pueden entrar estos microorganismos durante el tratamiento de conductos. Esta contaminación se puede dar por factores como: residuos de biopelícula dental, cálculo o caries en la corona del diente a tratar, filtraciones en el aislamiento absoluto, contaminación en la parte activa de los instrumentos endodóncicos y/o contaminación de las soluciones irrigantes u otras sustancias de aplicación intraconducto. (5)

Las vías por las que se puede dar entrada a los microorganismos entre cita y cita son: filtración a través del material de curación temporal por rupturas, fracturas o desalajo; fractura de la estructura dental o cuando se deja abierto el diente para drenaje de exudado. (5)

Los microorganismos también pueden ingresar al conducto radicular después de su obturación, las causas para que esto suceda, son: filtración a través de la restauración temporal o definitiva, fractura o pérdida de la misma, fractura de estructura dental, exposición del material de obturación del conducto a caries recurrente y/o restauración definitiva del diente mucho tiempo después de terminado el tratamiento de conductos. (5)

Sea cual sea la vía de entrada de los microorganismos al conducto; estos se adaptan, sobreviven y se desarrollan; es así como ocurre la infección secundaria; ya que la aparición de la infección se da secundaria a la intervención endodóncica. (5)

En la infección secundaria pueden existir microorganismos orales y no orales; dependiendo de su procedencia. Si los microorganismos provienen de la saliva por filtraciones al conducto serán los habitantes de la microbiota oral; si en cambio, los microorganismos provienen de lugares como piel o intestino, las bacterias encontradas serán de tipo no oral. (5)

Existen microorganismos que con su presencia se sugiere que se trata de una infección secundaria debido a que no son encontrados normalmente en las infecciones primarias; algunos de ellos son *Pseudomonas aeruginosa*, diversas especies de *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, especies de *Candida* y *Enterococcus faecalis*. (5)

Las infecciones secundarias se pueden volver persistentes (Figura 31) y ocasionar el fracaso del tratamiento de conductos. Una infección intrarradicular persistente ocurre cuando los microorganismos involucrados en la infección primaria o secundaria de alguna manera consiguen resistir a los

procedimientos intraconducto, el uso de antimicrobianos y soportan períodos de privación de nutrientes en los conductos tratados. (5)



Figura 31. Infección intrarradicular persistente/secundaria. (5)

## 5.2 Infección extrarradicular

Las lesiones por periodontitis apical se forman en respuesta a la infección intrarradicular, y representan una barrera eficiente para evitar que la infección se propague al hueso alveolar y otros sitios del cuerpo. En muchos casos, las lesiones inflamatorias por periodontitis apical logran impedir el paso de los microorganismos a los tejidos periapicales, sin embargo, existen situaciones en las que los microorganismos logran traspasar esta barrera y de esta forma se establece la infección extrarradicular. (15)

La infección extrarradicular se establece por dos condiciones; la primera y más común es por un absceso apical agudo, que se caracteriza por inflamación con exudado purulento en los tejidos periapicales; debido a salida masiva de bacterias virulentas a provenientes del conducto radicular y a través del foramen apical. La segunda, se caracteriza por ausencia de síntomas evidentes y se presenta por establecimiento de microorganismos en los tejidos periapicales; ya sea por adherencia de biopelículas a la superficie externa

apical o por la formación de colonias principalmente de Actinomyces dentro del cuerpo de la lesión inflamatoria. (15)

La presencia de microorganismos extrarradiculares es una de las posibles etiologías de la persistencia de lesiones por periodontitis apical a posterior al tratamiento de conductos. (15)

La infección extrarradicular puede ser dependiente o independiente de la infección intrarradicular; por ejemplo, el absceso apical agudo, depende de la infección intrarradicular; así, cuando dicha infección se controla por medio del tratamiento de conductos o la extracción dental, la infección extrarradicular remanente será controlada por las defensas del huésped y suele desaparecer. También hay casos en los que las bacterias que participaron en el desarrollo del absceso apical agudo persisten en los tejidos periapicales, de modo que, aunque se resuelva la fase aguda; se establece una infección extrarradicular persistente que se asocia a inflamación periapical crónica; lo que constituye una infección extrarradicular que ya es independiente de la infección intrarradicular. (15)

## Capítulo 6. PERIODONTITIS APICAL

### 6.1 Periodontitis Apical Sintomática (Aguda)

Proceso inflamatorio del ligamento periodontal que se caracteriza por ser doloroso, multifactorial, común en dientes previamente tratados endodóncicamente o en vías de concluir el tratamiento. La sintomatología es provocada por bacterias y necrosis pulpar, o bien, asociarse a traumatismos. (16) (18)

#### *Etiología*

Es causada por microorganismos que se encuentran en el conducto radicular o lo invaden desde la porción apical hasta los tejidos periapicales. Un estudio realizado por Möller et. al. donde produjeron necrosis aséptica en 78 dientes de monos; en el que 26 cámaras pulpares se mantuvieron libres de bacterias y 52 se infectaron. Los conductos radiculares que en un inicio se mantuvieron libres de bacterias permanecieron estériles hasta la realización de las muestras finales, con ello se concluye que el tejido necrótico no infectado no induce reacciones inflamatorias en los tejidos periapicales. Mientras que, en los dientes con cámaras pulpar infectada hubo reacción inflamatoria en los tejidos periapicales clínicamente (12/52 dientes) y radiográficamente (47/52 dientes). (16)

La inflamación del periodonto puede darse por trauma accidental, lesión durante la instrumentación o irritación por las sustancias y materiales utilizados en el tratamiento endodóncico, causando respuesta intensa y de corta duración. El tratamiento de conductos especialmente realizado en dos citas; puede reducir la microbiota bacteriana por la acción de las sustancias irrigadoras y la mediación intraconducto. (16)

## *Síntomas*

Incluye dolor espontáneo de moderado a severo, a la masticación y a la percusión. Si la patología está asociada a pulpitis hay respuesta positiva a pruebas de vitalidad pulpar, si es por necrosis estas pruebas son negativas. Al aplicar presión o percutir causa dolor intenso. Radiográficamente no hay lesión, también puede haber ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal. (17)

La respuesta a las pruebas de sensibilidad pulpar depende del factor que esté provocando la inflamación periodontal. La respuesta a pruebas de sensibilidad periodontal es positiva por liberación de mediadores químicos de la inflamación y su interacción con las fibras sensitivas en la zona periapical. (16)

Al examen radiográfico se puede observar aumento del espacio del ligamento periodontal, en el área periapical. (16)

## *Tratamiento*

Realizar ajuste oclusal cuando hay evidencia de hiperoclusión, eliminar los irritantes o la patología pulpar. (17)

### 6.2 Periodontitis Apical Asintomática (Crónica)

Es la inflamación y destrucción del tejido periapical ocasionada por patología pulpar previa, sin resolución. (18)

## *Etiología*

La principal causa es la necrosis pulpar provocada por bacterias; antes del tratamiento endodóncico o después del mismo por evolución desfavorable con persistencia bacteriana. Se caracteriza por un tiempo de evolución largo, reabsorción ósea periapical observada radiográficamente; en ocasiones reabsorción radicular. (Figura 32) (16)



Figura 32. Lesión por periodontitis apical asintomática. [Periodontitis apical \(unam.mx\)](http://unam.mx)

### *Síntomas*

Suele ser asintomática; aunque puede presentar sensibilidad a la percusión horizontal y sensación de palpitaciones en el área debido a necrosis pulpar. (16)

Se asocia a respuesta negativa a pruebas de sensibilidad pulpar. A las pruebas de sensibilidad periodontal puede dar respuesta positiva. Radiográficamente se observa una lesión radiolúcida que puede ser difusa o bien delimitada en el área periapical. (16)

### *Tratamiento*

Si existe necrosis pulpar se realiza necropulpectomía con abundante irrigación con NaOCl y mediación intraconducto con hidróxido de calcio. Si se presenta en dientes tratados previamente se realiza retratamiento de conductos no quirúrgico; y llevar control clínico y radiográfico de la lesión periapical; si la lesión no repara el tratamiento a seguir será cirugía periapical. (16)

6.3 Periodontitis apical como enfermedad asociada a las biopelículas. Se han propuesto 6 criterios para determinar si una enfermedad infecciosa puede ser clasificada como enfermedad causada por comunidades de biopelícula; son los siguientes:

1. Las bacterias que estén causando la infección estén adheridas o asociadas a una superficie.
2. Al examen directo del tejido infectado debe haber bacterias que formen grupos o micro colonias embebidas en una matriz extracelular.
3. Por lo general la infección se limita a un sitio en específico y puede haber diseminación, pero esto se considera un evento secundario.
4. La infección que causa la enfermedad debe ser difícil o imposible de erradicar con el uso de antibióticos, a pesar de que los microorganismos asociados puedan ser susceptibles a morir en estado planctónico.
5. Eliminación ineficaz por las células del huésped. Esto se observa cuando hay colonias microbianas en áreas rodeadas de células de defensa. Tales células pueden ser acúmulos de neutrófilos polimorfonucleares y macrófagos, la ubicación de estas células cerca de los agregados/coagregados bacterianos reafirma que se trata de una enfermedad inducida por biopelícula.
6. La eliminación o una interrupción drástica de la biopelícula, su estructura y ecología, conduce a la remisión del proceso de enfermedad. (3)

En un estudio realizado por Siquiera y Ricucci donde analizaron la prevalencia de las biopelículas en la zona apical de dientes con periodontitis apical y postratamiento, 4 de los 6 criterios anteriores fueron cumplidos:

- Con respecto al criterio 1, las bacterias fueron observadas adheridas o al menos asociadas a la superficie de dentina del conducto radicular.
- El criterio 2 se corrobora ya que las colonias bacterianas se observaron en su mayoría como especímenes encapsulados en una matriz extracelular amorfa.
- El criterio 3 fue confirmado debido a que la biopelícula endodóncica se encontró frecuentemente confinada en el sistema de conductos radiculares, sólo en algunos casos se encontró en extensión hacia la

superficie radicular externa, pero nunca se diseminaban a través de la lesión.

- El criterio 5 se cumple porque en la mayoría de los casos la biopelícula se enfrentó directamente a las células inflamatorias, principalmente a neutrófilos polimorfonucleares, acumulados en la parte más apical del sistema de conductos radiculares, incluyendo el conducto principal, ramificaciones apicales e istmos. (3)

El criterio 4 no fue evaluado en el estudio, pero se sabe, respaldado en toda la literatura, que las infecciones de tipo endodóncico no pueden ser tratadas efectivamente con antibioticoterapia, incluso aunque la mayoría de las bacterias endodóncicas sean susceptibles a los antibióticos en su estado planctónico. La falta de eficacia de los antibióticos se debe principalmente a que los patógenos bacterianos no son alcanzados por el fármaco porque se encuentran en un espacio necrótico avascular. (3)

Con respecto al criterio 6, no se ha demostrado los efectos directos específicos del tratamiento sobre la biopelícula, pero en estudios de cultivo se ha demostrado que se logra un mejor resultado del tratamiento cuando la carga bacteriana en el conducto radicular se reduce a niveles que son indetectables por el método de cultivo. Dado que la biopelícula es la forma principal de organización microbiana de las infecciones endodóncicas, se infiere que la biopelícula se elimina o altera significativamente cuando los cultivos arrojan resultados negativos. De igual forma, la presencia de biopelícula en dientes tratados previamente con tratamientos de conductos refuerza el criterio 6. (3)

El estudio mencionado anteriormente fue publicado en 2010 y también evaluaron la prevalencia y la asociación de la biopelícula y la periodontitis apical basado en hallazgos histopatológicos. En este estudio evaluaron la presencia de biopelícula en conductos radiculares con y sin tratamiento de conductos de dientes con periodontitis apical. Asimismo, investigaron la

asociación de la biopelícula con las condiciones clínicas, el tamaño radiográfico y el tipo histopatológico de la periodontitis apical. (19)

Los resultados generales del estudio fueron que se encontraron bacterias en todas las muestras, excepto en una. En general se encontraron biopelículas intrarradiculares en el segmento apical del 77% de los conductos. (Figura 33) Se observaron también biopelículas cubriendo las paredes de ramificaciones e istmos. (Figura 34) Se visualizaron biopelículas bacterianas en 62% y 82% de los conductos radiculares de los dientes con lesiones radiográficas pequeñas y grandes respectivamente. Todos los conductos con lesiones muy grandes albergaban biopelículas intrarradiculares. (19)

Se asoció la biopelícula con lesiones epitelizadas (quistes, granulomas o abscesos epitelizados). La prevalencia global de biopelículas en quistes fue del 95%, abscesos 83% y granulomas 69.5%. No se encontró relación con biopelículas y síntomas clínicos o presencia de tracto sinuoso. Además, sólo en 6% de los casos se observaron biopelículas extrarradiculares. (19)

De acuerdo con los hallazgos de este estudio, se concluyó que los hallazgos generales para la inclusión de la periodontitis apical en el grupo de enfermedades inducidas por biopelículas son consistentes. La estructura morfológica de la biopelícula fue variable de un caso a otro y no se identificó un patrón único para las infecciones endodóncicas. Por ello es más probable que las biopelículas se presenten en asociación con procesos patológicos prolongados, incluyendo lesiones grandes y quistes. (19)

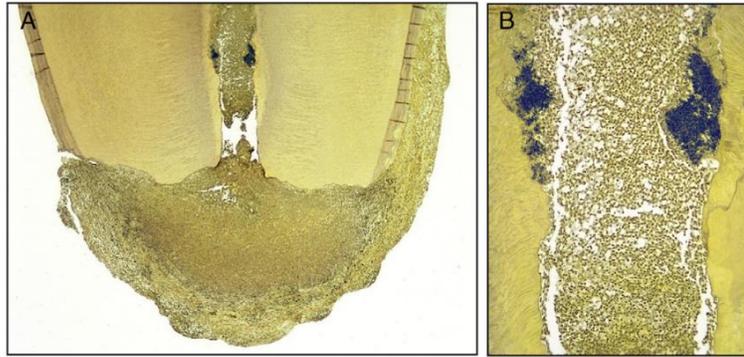


Figura 33. A) Segundo premolar mandibular extraído después de severos episodios de dolor, la lesión por periodontitis apical permaneció adherida a la punta de la raíz a la extracción. Se observa reabsorción del ápice y se observan dos masas bacterianas. B) A mayor magnificación se observa que esas masas bacterianas son estructuras de biopelícula. (19)

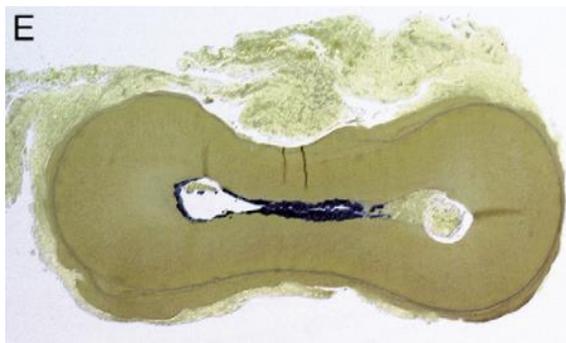


Figura 34. Conductos mesiales de un molar mandibular, los cuales se encuentran unidos por un amplio istmo obstruido por bacterias. (19)

## CAPÍTULO 7. REMOCIÓN DE LA BIOPELÍCULA ENDODÓNCICA DURANTE EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS

### *Elementos fundamentales para el éxito en el tratamiento endodóncico*

Las bacterias presentes en conductos necróticos crecen principalmente en forma de biopelículas sésiles y su remoción está directamente relacionada con el éxito del tratamiento de conductos. Existen diversos elementos necesarios para el control de las infecciones endodóncicas, entre ellos están las defensas del huésped, la instrumentación e irrigación del conducto radicular, el uso de medicamentos intraconducto entre cita y cita, la obturación del conducto y la restauración definitiva. (20)

La preparación químico-mecánica del conducto radicular, se considera una pieza clave en el tratamiento de conductos debido a que ayuda al desprendimiento de la biopelícula adherida a la superficie del conducto, así como a la remoción de las capas de dentina que se encuentren infectadas. Sin embargo, existen dificultades al realizar dicha instrumentación, una de ellas son las complejidades anatómicas que representan restricciones físicas al momento de realizar el trabajo mecánico; lo que representa un desafío para lograr la adecuada desinfección. (20)

El sistema de conducto radiculares es muy complejo en su anatomía; existen conductos accesorios, laterales, ramificaciones apicales, etcétera, que contribuyen a dicha complejidad. (Figura 35) Asimismo, el lumen del conducto radicular principal en muchas ocasiones se encuentra comunicado con el lumen de otro conducto radicular; por medio de istmos. (21) A pesar de la existencia de sistemas rotatorios de Níquel Titanio, con propiedades como super elasticidad y control de memoria; los instrumentos únicamente actúan en el centro del conducto; de manera que dichas complejidades que representan de un 30-50% de la pared del conducto radicular permanecen sin

instrumentar una vez realizado el tratamiento de conductos; de igual forma estas áreas pueden albergar debris y microorganismos que impiden la adaptación del material de obturación; lo que resulta en inflamación periapical persistente. (20)



Figura 35. Complejidades anatómicas de incisivos mandibulares. [The Root Canal Anatomy Project](http://rootcanalanatomy.blogspot.com)  
[Project: Search results for lateral canal](http://rootcanalanatomy.blogspot.com)

La preparación debe ir acompañada del empleo de soluciones irrigantes con fuerte efecto antibacteriano. (Figura 36 y 37) No obstante, los irrigantes también se enfrentan a la eliminación de biopelículas; que representan una dificultad más para la desinfección ideal. Diversos estudios en los que se revisan las interacciones entre agentes endodóncicos de desinfección con la dentina y otros componentes presentes en conductos radiculares necróticos, muestran que; la efectividad antimicrobiana de muchos de los agentes desinfectantes puede verse disminuida o eliminada en ciertas circunstancias; es probable que la inactivación de los medicamentos en el ambiente químico del conducto radicular necrótico sea una de las razones de la falta completa de erradicación de microorganismos; lo que pone de relevancia que los microorganismos resistentes pueden sobrevivir en las paredes del conducto radicular aún después del tratamiento químico-mecánico. (20)



Figura 36. Sistema de conductos radiculares complejos cuya geometría en general permanece inalterada por la instrumentación mecánica y que impide el desbridamiento de la mayor parte de la superficie de la pared del conducto sin la ayuda de medios de irrigación química. (13)

Los conductos accesorios se ramifican del conducto radicular principal con diámetros desde un máximo de 100  $\mu\text{m}$  hasta el mínimo común de 10  $\mu\text{m}$ . Dichos orificios crean una barrera de tensión superficial, que dificulta la mezcla adecuada de los irrigantes con el líquido que se encuentra dentro del conducto; la misma situación se presenta en el conducto radicular a nivel apical. La poca penetración del irrigante, una baja concentración, corto tiempo de exposición, pequeño volumen global y el poco intercambio de irrigantes en la zona apical; son factores que dificultan la desinfección del sistema de conductos radiculares. (20)

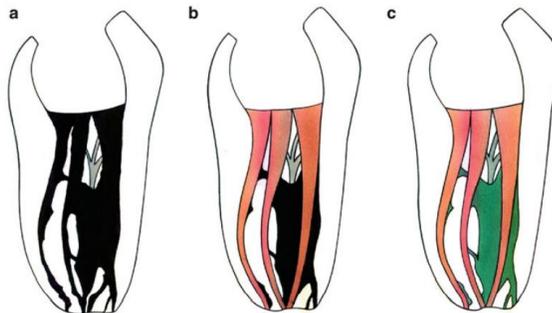


Figura 37. A) Sistema de conductos radiculares complejo no preparado. B) Sistema de conducto radicular instrumentado que revela superficies no instrumentadas. C) El área verde representa zonas no instrumentadas que requieren desbridamiento con irrigante químico.

(13)

### *Efectos de la instrumentación en la biopelícula endodóncica*

Se ha evaluado el efecto de la instrumentación mecánica en el tratamiento de conductos para observar los cambios en la microbiota del conducto radicular; si se utiliza únicamente agua o solución salina como irrigante durante la instrumentación; los estudios muestran que se lograron cultivos negativos en promedio en el 25% de los casos; mientras que, cuando la instrumentación se complementó con el uso de hipoclorito de sodio como irrigante, los cultivos negativos inmediatamente después al desbridamiento aumentaron a un promedio de 75%. (13)

La mayoría de los estudios informan reversiones de cultivos durante el periodo entre cita y cita cuando no se utiliza un medicamento intraconducto que se mantenga activo en ese lapso. Las reversiones se deben al nuevo crecimiento bacteriano ya sea residual o por recontaminación debido a filtraciones en la curación colocada en la cavidad de acceso. (13)

Los estudios clásicos de Bystrom y Sundqvist en 1981, 1983 y 1985, mostraron que el efecto de varios procedimientos de tratamiento del conducto radicular sobre la microbiota tanto de forma cualitativa como cuantitativa. Probaron el efecto de la preparación mecánica, la irrigación con solución salina o hipoclorito de sodio (0.5, 5.0 5.0% con EDTA), la adición de activación ultrasónica a la irrigación y la medicación intraconducto con hidróxido de calcio; observando que con cada adición a la preparación química del conducto radicular se mejoró el efecto antibacteriano, reduciendo aún más las bacterias residuales. Determinaron que la acción antibacteriana reduce la cantidad de bacterias de un rango inicial de  $10^2 - 10^8$  células a  $10^2 - 10^3$  menos células después del desbridamiento inicial, reduciendo aún más las células no recuperables (de la parte preparada del sistema de conductos radiculares) después de colocar un medicamento intraconducto entre citas. Se destacó que la infección fue más difícil de controlar cuanto mayor era la diversidad de la infección inicial, ya que se encontraban más especies y en número mayor. Sin

embargo, la eficacia del hidróxido de calcio se ha vuelto controvertida por el surgimiento de nuevos estudios donde muestran una eficacia limitada. (13)

No se ha demostrado que la acción antibacteriana colectiva durante el tratamiento de conductos provoque la persistencia de ninguna especie en particular. Datos acerca del tratamiento de conductos secundario mostraron que ciertas especies fueron más prevalentes después de los procedimientos biomecánicos que otras, lo que sugiere que pueden ser más resistentes a los protocolos de tratamiento. Las especies persistentes incluyen a *Enterococcus faecalis*, especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Actinomyces*, levaduras y otras bacterias Gram positivas. (13)

La mayoría de los estudios longitudinales de la microbiota del conducto radicular no muestran la resistencia de especies particulares; pero otros estudios sugieren que las bacterias Gram positivas se encuentran con frecuencia alta en los cultivos posteriores al tratamiento. En otros experimentos realizados por Möller en 2004 con modelos de monos, se descubrió que las bacterias facultativas eran más resistentes al tratamiento químico-mecánico que las especies anaerobias de una infección de 4 cepas (*Streptococcus milleri*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella oralis*, *Fusobacterium nucleatum*). Mientras que la tasa de supervivencia de una infección de 5 cepas que incluía *Enterococcus faecalis* fue aún mayor. (13)

### *Efecto de diversas soluciones irrigantes en la biopelícula endodóncica*

#### 7.1 Irrigantes proteolíticos

##### *Hipoclorito de sodio*

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es considerado el desinfectante de mayor potencia en la práctica endodóncica debido a la capacidad de disolver tejidos tanto vitales como necróticos, así como su actividad antimicrobiana. (12) Se emplea en concentraciones entre 0.5% y 6% y es el único irrigante de uso en

Endodoncia que puede disolver tejido orgánico, incluyendo la parte orgánica del barrillo dentinario, y debe utilizarse durante toda la instrumentación. (20)

Se ha demostrado que cualquier concentración de NaOCl es efectiva; ya que, todas garantizan actividad antibacteriana. Diversos estudios han demostrado que la actividad antimicrobiana no depende de la concentración, pero la disolución de tejidos y la alteración biopelículas sí lo son. El uso del NaOCl se recomienda seguido del uso de un agente descalcificador, según Ozdemir et al. el uso combinado de EDTA al 17% y NaOCl al 2.5% han demostrado una reducción significativa de la cantidad de biopelícula intraconducto. (12)

Se mencionan varias formas en las que la efectividad del hipoclorito de sodio se puede incrementar; como calentar la solución, el uso de métodos de activación sónica o ultrasónica, aumentar el volumen del irrigante y bajar el pH de este. No es muy claro el punto de usar el hipoclorito de sodio tibio, debido a que la temperatura extrema se amortigua de forma rápida dentro del conducto radicular, pero puede ser de ayuda la administración continua de NaOCl mediante el uso de dispositivos de presión negativa. De igual forma, el uso de activación ultrasónica eleva la temperatura del hipoclorito de sodio. De acuerdo con la literatura se ha demostrado que el NaOCl es capaz de romper en su totalidad a las biopelículas que se encuentran dentro del conducto radicular. No obstante, Rosen et. al. informaron de un hallazgo de interés en el cual mencionan que el NaOCl induce a las bacterias de las biopelículas a un estado viable pero no cultivable lo cual implicaría la posibilidad de persistencia bacteriana. (12)

Existen ciertos factores que se han estudiado acerca de los irrigantes más comunes y que tienen relación con las propiedades fisicoquímicas de la dentina, y a su vez, tiene relación con la adherencia bacteriana posterior al tratamiento de conductos. Un ejemplo de ello es la desmineralización que han reportado ciertos estudios que ocurre posterior a la aplicación de EDTA al 17% durante 5 minutos, esta desmineralización de la dentina expone al colágeno y

se forma un sustrato ideal para la unión de muchas especies bacterianas, incluyendo a *E. faecalis*, esta podría ser la posible razón por la cual existe una adherencia de *E. faecalis* a la dentina radicular de dientes tratados con EDTA. Cuando el NaOCl es utilizado como irrigante final, se elimina el colágeno expuesto y en consecuencia se reduce el número de bacterias adheridas; mientras que la irrigación con NaOCl y el uso posterior de clorhexidina ha demostrado reducir significativamente la adherencia de *E. faecalis*, el subproducto de esta interacción se vuelve un factor a considerar. (21)

## 7.2 Antisépticos

El digluconato de clorhexidina se usa en la desinfección en varias áreas de la Odontología (20), especialmente en Periodoncia por su amplio espectro antimicrobiano como un colutorio, coadyuvante en el control de la placa dentobacteriana y como irrigante en la terapia periodontal (12); en Endodoncia se ha utilizado como solución irrigante y como medicamento intraconducto. (20) Su toxicidad es baja si se compara con hipoclorito de sodio (12), no obstante, la clorhexidina no disuelve tejidos orgánicos por lo que no puede sustituir al hipoclorito de sodio como irrigante. (20)

La clorhexidina actúa penetrando la pared celular microbiana o la membrana externa y ataca el citoplasma bacteriano o la membrana interna. Cuando se utiliza en altas concentraciones es capaz de provocar la coagulación de los componentes intracelulares (20), la concentración que se recomienda cuando se utiliza como irrigante de conductos radiculares es al 2% (Figura 38). (12) La característica más importante de la clorhexidina es su sustantividad, que es el efecto antimicrobiano continuo, esto gracias a que se une a tejido duro. A pesar de ello, la actividad de la clorhexidina depende del pH y se reduce mucho con la presencia de materia orgánica. Diversos estudios han observado que la clorhexidina mata bacterias de la biopelícula, pero no es capaz de alterar su estructura, y su empleo favorece la permanencia de desechos orgánicos que

pueden tener un efecto negativo en la calidad del sellado permanente de la obturación radicular. (20)



Figura 38. Clorhexidina al 2%. [CONSEPSIS - Vamasa](#)

### 7.3 Agentes desmineralizantes

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Figura 39) es un quelante que se usa como coadyuvante en el tratamiento de conductos, es eficaz en la remoción de tejido inorgánico del barrillo dentinario. No tiene efecto antimicrobiano; pero su uso en combinación con NaOCl durante la terapia endodóncica es una combinación ventajosa para la remoción de tejido orgánico e inorgánico, y con ello logra la disrupción de las biopelículas bacterianas. Estudios muestran que dicha combinación ha logrado eliminar *E. faecalis* observado en la biopelícula intraconducto. (12)



Figura 39. Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). [MD-Cleanser > DENTAL | META BIOMED \(meta-biomed.com\)](#)

Otro agente desmineralizante es el ácido maleico, que también ha demostrado su efectividad contra *E. faecalis* a una concentración de 0.88% durante 30 segundos. Su efecto es alteración de la permeabilidad de la membrana celular debido a disminución del pH interno de la célula microbiana. Pero dicha acción no ha sido comprobada en contra de biopelículas intraorales multiespecies. (12)

El ácido peracético al 2.25% se ha recomendado como irrigante final posterior al NaOCl utilizado durante toda la instrumentación. Este ácido ha mostrado mayor efectividad que la clorhexidina en contra de biopelículas mono especies de *E. faecalis*; además se considera como un irrigante con propiedades de desmineralización y fuerte efecto antimicrobiano. (12)

#### 7.4 Combinación de soluciones irrigantes

##### *MTAD*

BioPure MTAD es una mezcla de doxiciclina al 3% ácido cítrico al 4.25% y Tween 80 al 0.5%. (Figura 40) (12) Su efectividad ha sido demostrada en la remoción de barrillo dentinario (20) en inhibición del crecimiento bacteriano en biopelículas de 3 semanas de antigüedad. Sin embargo, algunos estudios han concluido que el MTAD no tiene un buen efecto antibacteriano en contra de *E. faecalis*. (12) Duvanant et. al. reportaron que NaOCl al 1% mató seis veces más *E. faecalis* en biopelículas (99.78%) que MTAD (16.08%). (20)



Figura 40. BioPure MTAD. [BioPure MTAD Antibacterial Root Canal Cleanser \(dentsplysirona.com\)](http://dentsplysirona.com)

## QMIX

Es una mezcla de EDTA, clorhexidina y un detergente, tiene pH ligeramente superior al neutro; el agente tensioactivo disminuye la tensión superficial de las soluciones aumentando su humectabilidad, lo que favorece mayor penetración del irrigante en el conducto radicular. (Figura 41) (20) Es tan eficaz como NaOCl y superior a clorhexidina en contra de *E. faecalis* y bacterias de placa mixta tanto en estados planctónicos como en biopelículas. (12)



Figura 41. QMiX. [QMix 2in1 Irrigating Solution \(dentsplysirona.com\)](http://QMix 2in1 Irrigating Solution (dentsplysirona.com))

### 7.5 Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas microscópicas con una o más dimensiones en un rango de 1-100 nm. Se ha descubierto que estas nanopartículas poseen un amplio espectro de actividad antimicrobiana y que existe un menor riesgo de producir resistencia antimicrobiana con su uso en comparación con los antibióticos. Se ha demostrado el efecto bactericida de las suspensiones de óxido de magnesio (MgO) y óxido de calcio (CaO) sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, mientras que el óxido de zinc (ZnO) ha demostrado un efecto bacteriostático y su actividad antibacteriana es mayor en contra de bacterias Gram positivas que en las Gram negativas. (21)

Los polvos antibacterianos de MgO, CaO y ZnO generan especies activas de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno y un super óxido anión radical, los cuales son responsables de su efecto antibacteriano. Las nanopartículas, con un área de superficie alta, densidad de carga y mayor grado de interacción con las células, mostraron niveles mayores de actividad antibacteriana. La interacción electrostática entre nanopartículas cargadas positivamente y células bacterianas cargadas negativamente, y la acumulación de una gran cantidad de nanopartículas en la membrana celular bacteriana, se han asociado con el aumento de la permeabilidad de la membrana y la pérdida rápida de la función de esta. (21)

Los iones de metales pesados inducen diferentes efectos sobre las funciones de las células bacterianas. Los iones de cobre inducen estrés oxidativo y afectan el ciclo redox lo que ocasiona daños en la membrana celular y el ADN, los iones de zinc, por encima del nivel umbral esencial, inhiben las enzimas bacterianas y la actividad metabólica, los iones de plata inactivan proteínas e inhiben la capacidad de replicación del ADN. Las nanopartículas sintetizadas a partir de polvo de plata, óxido de cobre y óxido de zinc se utilizan actualmente por su actividad antimicrobiana. (21)

El efecto de tamaño cuántico de las nanopartículas catiónicas les permite exhibir una interacción superior con las bacterias y el sustrato de la dentina. Cuando se permite que las nanopartículas catiónicas en una suspensión acuosa se asienten sobre la superficie de la dentina (con carga negativa), las nanopartículas se adhieren a la superficie a través de una interacción electrostática. A pesar de se trata de una interacción débil y se interrumpe de forma fácil, puede impedir la recolonización bacteriana y la formación de biopelículas. (21)

Todos los estudios que se han realizado han mostrado que la mayoría de las nanopartículas poseen altas propiedades antibacterianas en comparación con sus equivalentes en polvo. La alta reactividad resultante de la dimensión

nanométrica y su capacidad para resistir el envejecimiento durante más tiempo son algunas de sus ventajas. La mayoría de las partículas antibacterianas catiónicas han mostrado una buena interacción con biomateriales, bacterias y biopelículas. En la terapia endodóncica, la aplicación se puede dar en suspensión o en combinación con selladores. Aún se siguen estudiando los procedimientos de administración de estas partículas en el sistema de conductos radiculares. La aplicación exitosa de nanopartículas en Endodoncia dependerá tanto de la efectividad de las nanopartículas tanto como del método de administración para dispersar dichas partículas en las complejidades anatómicas del sistema de conductos radiculares. (21)

#### 7.6 Medicación intraconducto

Se recomienda el uso de medicación intraconducto para erradicar los microorganismos que sobreviven a la instrumentación y la irrigación. Para ello se han utilizado varias sustancias, la más utilizada es el hidróxido de calcio, también se han utilizado compuestos fenólicos y pastas que combinan antibióticos con o sin corticoesteroides. (20)

Como medicación intraconducto entre citas es preferible utilizar una sustancia que no se reemplace fácilmente con líquido tisular, que pueda permanecer físicamente intacta durante semanas o meses. El hidróxido de calcio (Figura 42) utilizado en una suspensión acuosa tiene varias características que se requieren para utilizar como medicamento intraconducto: Posee un pH de 12.5 y se disocia en iones de calcio e hidróxido en solución acuosa, los cuales aportan efectos antimicrobianos y capacidad de disolución de tejidos, tiene baja solubilidad y puede ser utilizado durante largo tiempo; su función esencial es limitar el crecimiento de nuevas bacterias. (20)

La acción antimicrobiana del hidróxido de calcio depende de su contacto directo con las bacterias, se ha demostrado eficacia en biopelícula de *E. faecalis* de 2 días de maduración en modelo de filtro de membrana. Sin embargo, por su baja solubilidad se vuelve ineficaz en contra de los

microorganismos que se encuentran alojados en restos pulpares, grietas del conducto y túbulos dentinarios. Distel et. al. utilizaron microscopía electrónica de barrido y microscopía láser confocal de barrido y reportaron que a pesar de la medicación intraconducto con hidróxido de calcio, *E. faecalis* formó biopelículas en los conductos radiculares. Se sabe que tanto los Enterococos como las levaduras mantienen un ambiente con pH alcalino por lo que son capaces de sobrevivir en conductos radiculares con hidróxido de calcio. (20)



Figura 42. Ultracal. Pasta de hidróxido de calcio en solución acuosa. [UltraCal™ XS-30%-35% Calcium Hydroxide Paste \(ultradent.com\)](http://ultradent.com)

La diferencia en los hallazgos puede diferir por diversas variables; por ello los resultados han variado desde encontrar conductos radiculares libres de bacterias cultivables después de la aplicación de hidróxido de calcio durante una semana o en contraste, otros estudios donde se pueden recuperar microorganismos de un número considerable de conductos medicados. (20)

Las infecciones endodóncicas son polimicrobianas, ningún medicamento es eficaz contra todas las bacterias. Cuando se realiza la combinación de dos medicamentos pueden producirse efectos aditivos o sinérgico. Un ejemplo es el uso de hidróxido de calcio con CMCP su combinación brinda mayor espectro antibacteriano, mayor radio de acción antibacteriana, y elimina las bacterias de forma más rápida que las mezclas de hidróxido de calcio con vehículos inertes.(20)

### 7.7 Mecanismos de activación del irrigante

La irrigación es fundamental durante el tratamiento endodóncico, complementa la instrumentación auxiliando en la remoción de materiales

orgánicos e inorgánicos a través de su acción mecánica y química. Su efectividad depende de la técnica empleada, de la habilidad de poner en contacto la solución irrigante con las diferentes estructuras presentes dentro de los conductos. (22)

### *Irrigación sónica*

Es una forma de mejorar la limpieza general del conducto. Los dispositivos sónicos generalmente oscilan de 20 000 Hz. (14)

Los principales sistemas disponibles para producir agitación sónica son el sistema Endoactivator (Figura 43) con puntas de polímero adheridas de la marca Dentsply. Las puntas agitan la solución irrigadora colocada en el conducto radicular y acceden a la abertura a través de la irrigación con aguja. (14)



Figura 43. Endoactivator. [Endoactivator EndoActivator | Dentsply Sirona](#)

### *Irrigación ultrasónica*

#### **Irrigación Ultrasónica Pasiva**

La vibración ultrasónica en conjunto con la irrigación genera un movimiento continuo en el líquido; está directamente asociada con la efectividad de la limpieza de las zonas inaccesibles a los instrumentos. (22)

La irrigación ultrasónica pasiva (Figura 44) es la transmisión de energía acústica a través de la oscilación de la lima hacia la solución irrigante; descrita inicialmente por Weller y cols. en 1980. (22)

Se da por dos mecanismos:

1. Cavitación: Es la formación de burbujas submicroscópicas debido a la ruptura del medio líquido causada por la presión alternada de las ondas sonoras. Estas burbujas implosionan, lo que da como resultado ondas de choque capaces de penetrar en pequeñas superficies e irregularidades a lo largo de toda la extensión del conducto. (22)

2. Flujo acústico: Movimiento rápido de un líquido alrededor de un objeto en vibración. El patrón de nódulos y antinódulos a lo largo de la lima en vibración produce una corriente líquida direccionada hacia la porción cervical del conducto. El flujo rápido y su gran intensidad de vibración permiten el aumento de la capacidad de limpieza. (Figura 45) (22)

La agitación ultrasónica causa desaglomeración de la biopelícula bacteriana, resuspende así a las bacterias en forma planctónica, para que sean más susceptibles a los irrigantes antimicrobianos; además, la cavitación provoca debilitamiento temporal de la membrana celular, lo que aumenta la permeabilidad de las células bacterianas a los irrigantes microbianos. (12)

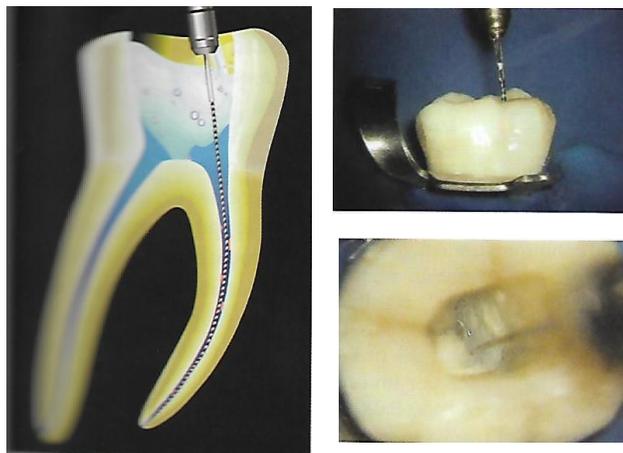


Figura 44. Irrigación ultrasónica pasiva. (22)

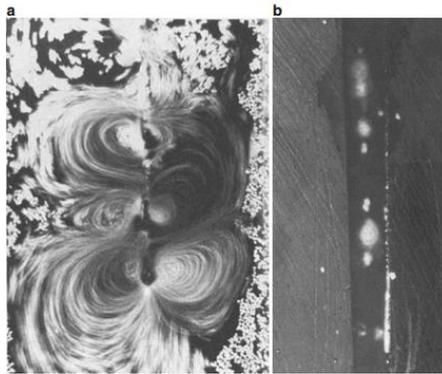


Figura 45. A) Transmisión acústica generada alrededor de una lima en movimiento libre. B) Dentro de un espacio de un conducto radicular simulado. (14)

### 7.8 Desinfección activada por láser

La activación de los irrigantes mediante el uso de láseres (Figura 46) es relativamente nueva en Endodoncia. Los trabajos previos se han enfocado en la limpieza y modelado del conducto la desinfección y la eliminación de la capa de barrillo dentinario. Pero han surgido problemas por daño a la dentina de la pared del conducto radicular, sobrecalentamiento de la raíz y el periodonto, acceso alrededor de las curvaturas del conducto y el tamaño de la punta láser. (14)

Los láseres que tienen una longitud de onda que interactúa con moléculas de agua se han utilizado para producir cavitación en líquidos. Cuando la irradiación láser pulsa, el efecto de cavitación produce una onda de choque que puede mover la solución irrigadora dentro del conducto. (12)

Una marca de láser Erbium: YAG (Er:YAG) propone su uso en combinación con una punta especial para lograr el llamado flujo fotoacústico inducido por fotones (PIPS) sobre el irrigante en el conducto. Se ha investigado este dispositivo para la eliminación de residuos y de barrillo dentinario del sistema de conductos radiculares y los resultados parecen positivos. (12)

Hay pocos estudios que han evaluado la activación con el empleo de láser sobre irrigantes utilizando un modelo de biopelícula; uno de ellos examinó la limpieza de la dentina infectada con biopelícula en un conducto radicular bovino comparándola con la activación sónica o ultrasónica y la irrigación con aguja. Los autores mostraron resultados favorables para PIPS en comparación con otros métodos de activación del irrigante. (12)

Neelakantan et al. demostraron que los láseres de diodo y Er:YAG fueron más efectivos que la activación ultrasónica o el método de irrigación con jeringa para eliminar *E. faecalis*. No obstante, este estudio no mostró diferencias significativas entre Er:YAG y el láser de diodo cuando se utilizó NaOCl mezclado con ácido etidróico.(12)



Figura 46. Irrigación activada por láser. (14)

## Capítulo 8. LA BIOPELÍCULA Y SU RELACIÓN CON LA PERSISTENCIA DE LA ENFERMEDAD ENDODÓNCICA.

### 8.1 Factores que afectan el resultado del tratamiento de conductos

El resultado exitoso del tratamiento de conductos se basa en la ausencia de signos de infección e inflamación, como dolor, sensibilidad del diente a la percusión, sensibilidad a la palpación de tejidos blandos, ausencia de inflamación o tracto sinuoso y la evidencia radiográfica de cicatrización de la lesión periapical con regeneración del espacio del ligamento periodontal completamente normal. (13)

La ausencia de signos y síntomas de enfermedad periapical, pero la persistencia de radiolucidez periapical observada radiográficamente, puede indicar cicatrización por reparación fibrosa o inflamación crónica persistente. Únicamente el tiempo y la presencia de una exacerbación aguda podrán comprobar si se trata de inflamación persistente, o, por el contrario, de reparación fibrosa. (13)

En una revisión sistemática y un metanálisis (Ng et. al 2007, 2008) de los factores que afectan el resultado del tratamiento de conductos radiculares, reveló que la tasa media de éxito fue del 83% cuando se realizó pulpectomía vital ya que no había infección establecida; el éxito se redujo a 72% cuando el tratamiento de conductos tenía como objetivo erradicar una infección establecida asociada con una lesión periapical. (13)

Los factores individuales que tuvieron mayor impacto en el resultado del tratamiento de conductos fueron:

- Presencia y tamaño de la lesión periapical preoperatoria.
- Extensión apical del tratamiento del conducto radicular (instrumentación y obturación radicular) en relación con el ápice radiográfico.
- Resultado de la prueba de cultivo antes de la obturación.

- Calidad del tratamiento de conductos juzgado por la apariencia radiográfica de la obturación radicular.
- Calidad de la restauración coronal final. (13)

Los factores que tuvieron un mínimo efecto en el resultado del tratamiento fueron:

- Edad del paciente.
- Género del paciente.
- Salud general del paciente.
- Tipo de técnica de tratamiento (material y técnica de preparación, irrigación y obturación) así como en el control en la determinación de longitud de trabajo. (13)

Las mejoras en las técnicas de preparación mecánica y química del sistema de conductos radiculares no han resultado en aumento en las tasas de éxito durante el último siglo. Es importante mencionar que todos los factores que tienen una fuerte influencia en el resultado del tratamiento pueden estar asociados de alguna manera con la infección del conducto radicular, Por lo tanto, se pueden obtener mejoras adicionales en los resultados del tratamiento del conducto radicular al comprender la naturaleza de la infección (especialmente en la compleja anatomía apical) y la forma en que el tratamiento altera la microbiota. (13)

De acuerdo con la literatura existen seis factores biológicos que contribuyen a la persistencia de la radiolucidez periapical después del tratamiento de conductos: (23)

1. Infección intrarradicular persistente en la zona apical del sistema de conductos radiculares.

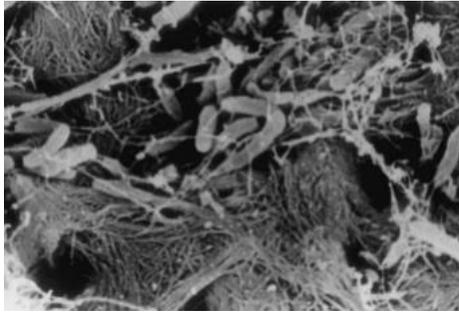


Figura 47. Micrografía electrónica de barrido de células bacterianas que colonizan la pared del conducto radicular. (24)

2. Infección extrarradicular.
3. Extrusión del material de obturación o de otros materiales exógenos que causen reacción a cuerpo extraño.

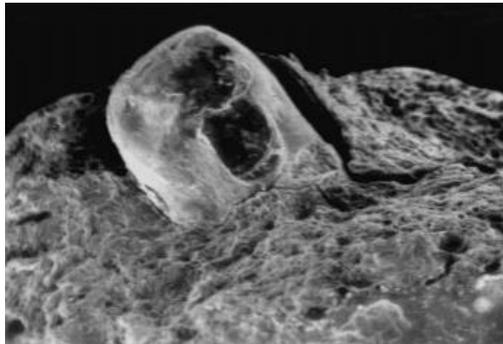


Figura 48. Micrografía electrónica de barrido de un cono de gutapercha extruido en un diente sobreobturado. Se observan los vacíos entre el cono y las paredes del conducto radicular. (24)

4. Acumulación de cristales de colesterol endógenos que irritan los tejidos periapicales.

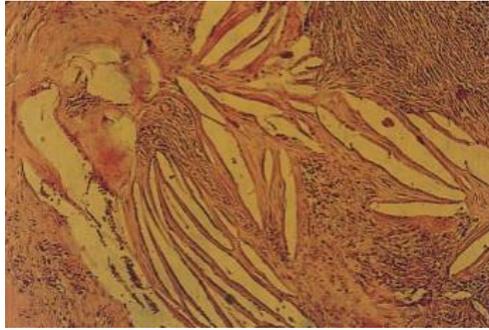


Figura 49. Cristales de colesterol en un quiste periapical. Los cristales pueden acumularse en una lesión periapical y posiblemente mantener el proceso inflamatorio. (24)

### 5. Lesión por quiste verdadero.

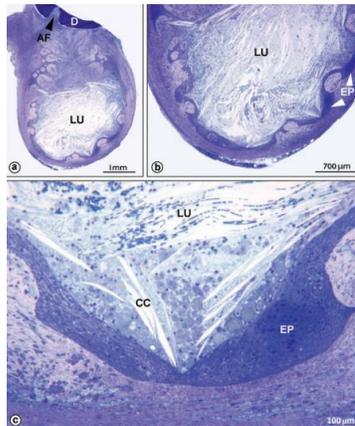


Figura 50. Estructura de un quiste verdadero apical. A) Fotomicrografía de una sección axial que pasa por el foramen apical (AF). La mitad inferior de la lesión y el epitelio (EP) se magnifican en B) y C). Se observa la luz quística (LU) con hendiduras de colesterol (CC) completamente encerradas en epitelio (EP), sin comunicación con el conducto radicular. (23)

### 6. Cicatrización del tejido periapical. (23)

## 8.2 Infecciones persistentes o secundarias y fracaso del tratamiento de conductos

A pesar de que se ha atribuido a las infecciones extrarradiculares o a los factores no microbianos el fracaso del tratamiento endodóncico; realmente la causa principal son las infecciones intrarradiculares persistentes o secundarias. Esto está sustentado en la literatura debido a que se ha demostrado que hay un aumento de riesgo de evolución adversa del tratamiento de conductos cuando hay bacterias en el momento de la obturación. Asimismo, la mayoría de los dientes tratados cuyo conducto muestra indicios de lesiones persistentes de periodontitis apical alberga una infección intrarradicular. (4)

Con base en esto, los trabajos de investigación analizan las bacterias que quedan en los conductos radiculares en la fase de obturación con el fin de conocer que especies podrían influir en el resultado del tratamiento. (4)

Por otro lado, mediante el estudio de la microbiota de los conductos radiculares de dientes ya tratados que muestran periodontitis apical, se busca demostrar la asociación de las especies con el fracaso del tratamiento, debido a que el género o especie de los microorganismos detectados podrían estar involucrados en la etiología de la enfermedad después del tratamiento. (4)

### *Microbiota de los dientes endodóncicamente tratados*

La microbiota del conducto radicular en dientes previamente tratados con periodontitis apical presenta menor diversidad en comparación con las infecciones primarias. Los conductos aparentemente bien tratados albergan entre una y cinco especies, en cambio, cuando un tratamiento no está bien realizado puede incrementar entre 10 a 20 especies presentes en los conductos. El número de células bacterianas en dientes tratados con enfermedad postratamiento puede variar entre  $10^3$  a  $10^7$  por conducto. (4)

Se ha demostrado que *Enterococcus faecalis* es la especie más frecuente en el conducto radicular en los dientes tratados con enfermedad postratamiento.

El conducto radicular de un diente con previo tratamiento de conductos tiene nueve veces más probabilidades de contener *Enterococcus faecalis* que dientes con infección primaria, esto indica que esta especie se podría inhibir por otros miembros de un consorcio bacteriano mixto que se encuentra comúnmente en las infecciones primarias que su supervivencia no sería impedida por las condiciones ambientales dentro de un conducto radicular obturado. De forma que, *Enterococcus faecalis* puede causar infecciones secundarias que después se tornan persistentes. (4)

Para que un microorganismo sobreviva en los dientes con previo tratamiento de conductos, debe ser resistente a los procedimientos de desinfección dentro del conducto y adaptarse a las condiciones ambientales. La capacidad de *Enterococcus faecalis* de penetrar en los túbulos dentinarios, hasta zonas muy profundas, le permitiría escapar de la acción de la instrumentación e irrigación durante la realización del tratamiento de conductos. Asimismo, su capacidad para la formación de biopelículas en los conductos radiculares puede ser un factor clave para su resistencia y persistencia posterior a los tratamientos antimicrobianos intraconducto. (4)

*Enterococcus faecalis* es resistente también al hidróxido de calcio. Esta capacidad de resistencia a los valores altos de pH parece estar relacionada con una bomba de protones. A diferencia de la mayoría de los posibles patógenos endodóncicos que encontramos comúnmente en las infecciones primarias *Enterococcus faecalis* puede colonizar conductos radiculares en las infecciones y su independencia relativa le permite vivir sin tener que obtener nutrientes de otras bacterias; lo que es importante para que se establezca en los conductos tratados. (4)

Se ha demostrado que *Enterococcus faecalis* tiene la capacidad de sobrevivir en entornos de escasez de nutrientes y después vuelve a proliferar cuando se restablece la fuente de nutrientes. También posee la capacidad de recuperarse de un estado prolongado de ayuno en los conductos radiculares obturados, lo

que indica que las células viables de esta especie que quedan sepultadas en el momento de la obturación del conducto pueden crear un nido de supervivencia a largo plazo que dará lugar a la infección en el futuro. (4)

Otras bacterias que se pueden encontrar en los dientes con previo tratamiento de conductos con periodontitis apical son Streptococos y algunas especies bacterianas anaerobias estrictas como *P. alactolyticus*, *Propionibacterium spp.*, *Filifactor alocis*, *Dialister pneumosintes*, *Dialister invisus*, *Tannerella forsythia*, *P. micra*, *Prevotella intermedia* y *Treponema denticola* (Figura 51) (4)

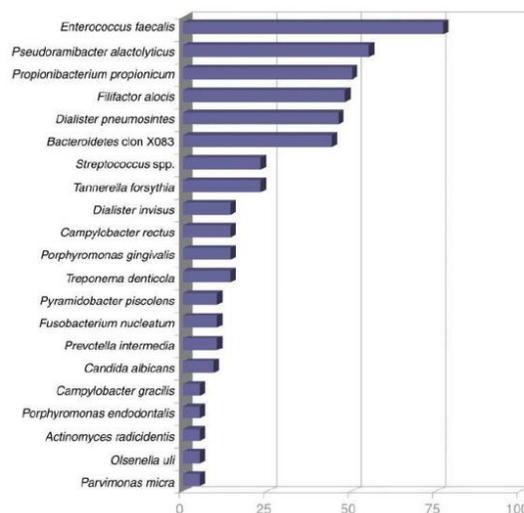


Figura 51. Prevalencia de microorganismos detectados en el conducto radicular en dientes tratados con enfermedad postratamiento. Estudios realizados con métodos de reacción en cadena de polimerasa específica de los taxones. (4)

Los perfiles de la comunidad bacteriana detectada en los casos con tratamiento de conductos previo varían en cada caso, lo que reafirma que las distintas combinaciones de bacterias pueden participar en el fracaso del tratamiento. Todos los resultados apoyan la idea de que la microbiota del conducto radicular en los dientes tratados con periodontitis apical es una entidad más compleja de lo que se pensaba antes del avance de los estudios microbiológicos. (4)

Los hongos aparecen ocasionalmente en las infecciones primarias, pero se han detectado especies de *Candida* en el conducto radicular. Los hongos logran acceder a los conductos radiculares por contaminación durante la realización del tratamiento de conductos (infección secundaria), o pueden crecer en exceso después de procedimientos antimicrobianos intraconducto deficientes que provocan un desequilibrio en la microbiota endodóncica primaria. *Candida albicans* es la especie detectada con mayor frecuencia en el conducto radicular en los dientes tratados. (4)

### 8.3 Tratamiento del fracaso endodóncico

Sólo uno de los factores biológicos de la persistencia de la enfermedad endodóncica puede controlarse mediante un nuevo tratamiento de conductos y es la infección intrarradicular. Aunque el conocimiento de la causa del fracaso de la terapia endodóncica facilitaría la elección de una terapia adecuada, en la actualidad tales diagnósticos generalmente sólo se pueden hacer después de la cirugía. Suponiendo que la infección es la causa más común de fracaso, vale la pena realizar un retratamiento de conductos en los dientes fallidos antes de optar por una cirugía. (24)

Las medidas adecuadas para el control y la prevención de la infección son esenciales para incrementar el éxito del tratamiento, incluyendo la asepsia estricta, la preparación químico-mecánica completa con irrigantes antimicrobianos, la medicación intraconducto, la obturación adecuada del sistema de conductos radiculares y un sellado coronal adecuado. La restauración coronal permanente debe colocarse lo más rápido posible, idealmente en la primera semana después del tratamiento. (24)

Se debe retratar un conducto radicular cuando el tratamiento previo no cumple con los estándares técnicos aceptados. (24)

La cirugía periapical está indicada en los siguientes casos:

El tratamiento o el retratamiento es imposible (Instrumentos fracturados, salientes, bloqueos, material de obturación imposible de retirar, etc).

Fracaso del tratamiento, cuando el pronóstico del tratamiento no quirúrgico es desfavorable.

Casos donde necesita la toma de biopsia. (24)

## CONCLUSIONES

-La biopelícula es la forma más común de organización bacteriana en las infecciones endodóncicas y debido a su estructura altamente organizada no es posible eliminarla completamente del sistema de conductos radiculares.

-La irrigación durante el tratamiento de conductos es fundamental para mejorar la desinfección; por medio de la acción y activación de los irrigantes se logra una mejor limpieza del sistema de conductos radiculares.

-No es posible eliminar por completo las bacterias presentes en las infecciones endodóncicas, específicamente hablando de biopelículas; ya que sus mecanismos de resistencia dificultan su remoción del conducto radicular. Sin embargo, si se logra alterar la estructura de la biopelícula, mediante irrigación copiosa activada por algún sistema durante el tratamiento, y si se realiza una restauración definitiva adecuada donde no existan filtraciones, el tratamiento de conductos tendrá un mejor pronóstico de éxito a largo plazo.

-Es importante mantener una técnica aséptica en la realización de la terapia endodóncica para evitar exacerbar las infecciones del conducto radicular.

-Conocer la microbiología de las infecciones endodóncicas permite comprender los diversos aspectos clínicos a los que se enfrenta la práctica endodóncica. Hoy en día se cuentan con valiosos métodos para el estudio microbiológico y existe una basta literatura científica con respecto al tema de las infecciones endodóncicas. A pesar de ello se continúan realizando investigaciones y aún hay muchas interrogantes por responder.

-La investigación y los avances tecnológicos que han ocurrido con el paso del tiempo en el área de Endodoncia han permitido mejorar la calidad de los tratamientos y día a día continua en avance. Se esperan avances importantes especialmente en el tema de irrigación gracias al estudio de las nanopartículas.

## GLOSARIO

**Factores de virulencia:** Productos microbianos, componentes estructurales o estrategias que contribuyen a la patogenicidad.

**Infección:** Invasión y proliferación de microorganismo en un lugar donde no se espera que estén presentes; la infección no necesariamente resulta en una enfermedad.

**Infección endógena:** Infección causada por miembros de la microbiota humana normal.

**Infección exógena:** Infección causada por microorganismos no pertenecientes a la microbiota normal, pero son introducidos en el huésped.

**Patogénesis:** Serie de eventos que conducen al desarrollo de una enfermedad.

**Patogenicidad:** Habilidad de un microorganismo de causar enfermedad.

**Patógeno:** Un microorganismo que causa una enfermedad.

**Patógeno oportunista:** Microorganismo que causa enfermedad únicamente cuando las defensas del huésped están deterioradas.

**Patógeno primario:** Microorganismo que a menudo causa enfermedad dentro de un huésped dado.

**Virulencia:** Medida cuantitativa de la patogenicidad de un microorganismo. (5)

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock Biología de los Microorganismos. 10ª ed. España: PEARSON EDUCACIÓN; 2004. 1096 p.
2. Lamont RJ, Hajishengallis GN, Jenkinson HF. Microbiología e inmunología oral. 1ª edición en español ed. México: Manual Moderno; 2015.
3. Ricucci D, Siqueira Jr JF. Endodontology: An integrated biological and clinical view. London: Quintessence Publishing; 2013.
4. Hargreaves KM, Berman LH. Cohen Vías de la Pulpa. 11ª ed. Madrid: Elsevier; 2016.
5. Siqueira JF. Treatment of endodontic infections. Germany: Quintessence Publishing; 2011. 403 p.
6. Siqueira JR JF, Rocas IN, Ricucci D. Biofilms in endodontic infection. Endodontic Topics. 2012;22(1):33-49.
7. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. Int Endod J. 2021.
8. Brief history of biofilm Montana State University: Center for Biofilm Engineering; 2020 [
9. Nageswar Rao R. Endodoncia Avanzada. 1ª ed: AMOLCA; 2011. 366 p.
10. Svensater G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. Endodontic Topics. 2004;9(1):27-36.
11. Zambrano de la Peña S, Salcedo-Moncada D, Petkova-Gueorguieva M, Ventocilla Huasupoma M. Biofilm en Endodoncia: una revisión. Odontología Sanmarquina. 2016;19:45-9.
12. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics-Current Status and Future Directions. Int J Mol Sci. 2017;18(8).
13. Chávez de Paz LE, Sedgley C, Kishen A. The Root Canal Biofilm. Berlín: Springer; 2015. 366 p.

14. Basrani B. Endodontic Irrigation Chemical Disinfection of the Root Canal System. Switzerland: Springer; 2015. 316 p.
15. Ingle JI, Bakland LK, Baumgartner JC. Ingle's Endodontics 6. 6<sup>th</sup> ed. Hamilton, Ontario: BC Decker; 2008. 1555 p.
16. García Aranda RL, Briseño Marroquín B. Endodoncia I Fundamentos y clínica. México: LIBRUNAM; 2015. 317 p.
17. Torabinejad M, Walton RE, Fouad AF. Endodontics Principles and Practice. 5<sup>th</sup> ed. China: Elsevier Saunders; 2015.
18. Marroquín Peñaloza T, García Guerrero C. Guía de diagnóstico clínico para patología pulpares y periapicales. Versión adaptada y actualizada del Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquía. 2015;26(2):398-424.
19. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. J Endod. 2010;36(8):1277-88.
20. Haapasalo M, Shen Y. Current therapeutic options for endodontic biofilms. Endodontic Topics. 2012;22(1):79-98.
21. Kishen A. Advanced therapeutic options for endodontic biofilms. Endodontic Topics. 2012;22(1):99-123.
22. Zuolo ML, Kherlakian D, De Mello JE, Coelho MC. Reintervención en Endodoncia. Sao Paulo: Santos; 2012. 274 p.
23. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. Int Endod J. 2006;39(4):249-81.
24. Siqueira JF. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. Int Endod J. 2001;34(1):1-10.