



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

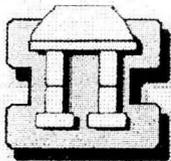
**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE
MICROORGANISMOS DE PACIENTES CON
CONDUCTOS RADICULARES INFECTADOS
O NECRÓTICOS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A

IMELDA JUAREZ AVELAR

DIRECTORA DE TESIS

M. EN C. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS



IZTACALA

MAYO, 2003



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mis padres Héctor Juárez Ramírez y Juana Avelar Gómez por la confianza que depositaron en mí, por sus sacrificios y su apoyo incondicional tanto económico y moral, para que un día se sintieran orgullosos de verme realizada como profesionista. Los Quiero Mucho.

A mis sobrinos Mariana, Daniela, Elizabeth, Diana y Alberto por que gracias a sus ocurrencias, siempre tuve momentos muy felices cuando más lo necesite y nunca perdí la esperanza de superarme.

A mis Hermanos Carmen, Joaquín, y Ángela porque siempre estuvieron conmigo, me apoyaron y me dieron ánimos para salir adelante.

A Héctor porque sus consejos y su ayuda incondicional.

A Gabriela por su apoyo oportuno en los momentos difíciles.

A Noé A. Ramírez Javier por ser la persona que le ha dado un sentido especial a mi vida. Gracias por tu apoyo, tus consejos, tu tiempo y entrega incondicional. Espero que siempre estemos juntos. Te amo.

A mis amigas Magali Santillán Ramírez y Yazmín Sánchez Vargas, por que juntas pasamos momentos muy padres durante la carrera, ya que formamos un equipo sensacional. Por su apoyo incondicional, por saber escucharme cuando lo necesite y aunque existieron momentos difíciles juntas terminamos esta etapa. Gracias por haberme permitido conocerlas y brindarme su amistad. Las quiero Mucho.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme vivir y porque siempre esta conmigo.

A mi familia por que es una parte importante en mi vida.

A mis asesores:

A la M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras por darme la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo y así permitir que me desarrollara en el campo clínico. Gracias por su ayuda, asesoría, paciencia y amistad.

A el M. en C. Eric Monroy Franco, por todos sus consejos, paciencia y apoyo para la realización de este trabajo y enseñarme que siempre un esfuerzo mayor al final, vale la pena.

A el Dr. Sergio Vaca Pacheco, por permitirme conocerlo y haber formado parte de esta Tesis.

A la Bióloga Susana González, por haberme enseñado a trabajar en un laboratorio, por la paciencia, apoyo y ayuda incondicional que siempre me brindo y principalmente por su amistad.

A el C. D. Alberto Furuya Meguro, por haber aceptado ser mi asesor de Tesis y brindarme sus conocimientos en el campo de la Odontología.

A la Sra. Paulina porque su trabajo es fundamental para el laboratorio, por tener ese carácter tan especial que me hizo muy amena la estancia en el laboratorio.

A Laura Mazadiego y Benjamín Méndez porque en tan poco tiempo pudimos entablar una relación de sincera amistad y un equipo de trabajo en el laboratorio, así como por la ayuda oportuna que recibí de ustedes cuando lo necesite.

A todos mis compañeros con los cuales compartí momentos únicos durante la carrera, en especial a Mitzy, Raquel, Esther, Lizet, Enrique y Poncho.

A mis profesores de las distintas asignaturas los cuales me ayudaron a salir adelante y abrirle paso a un futuro que me esta esperando.

Al personal académico y administrativo del cual recibí un buen trato y ayuda cuando así lo requerí.

Sinceramente
Gracias a Todos

INDICE

IZT. RESUMEN.....	I
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	7
CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS.....	11
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS.....	13
OBJETIVOS.....	16
METODOLOGÍA.....	17
RESULTADOS.....	24
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIONES.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44

RESUMEN

En los últimos años en nuestro país ha ocurrido un incremento exponencial de la población mexicana, aunado a esto, la prevalencia de pacientes con caries dental y con infecciones periodontales han aumentado. En la actualidad se ha establecido que la presencia de la placa dentobacteriana es el principal factor etiológico de diversas alteraciones inflamatorias y destructivas de la pulpa dental, siendo así la caries el principal factor etiológico de estas enfermedades (Endodónticas y Periodontales). Se ha demostrado que la caries es causada por un proceso químico biológico caracterizado, por la descalcificación progresiva y localizada de los tejidos duros de los dientes, la cual es iniciada por la desmineralización superficial provocada por los ácidos orgánicos, fundamentalmente el ácido láctico, si el proceso carioso no es detenido, llegará el momento en el cual existirá una franca exposición de la pulpa, permitiendo una gran penetración de bacterias, restos de dentina cariosa y productos de degradación, además de saliva, lo que favorece al crecimiento y proliferación de microorganismos. En este trabajo se analizaron 13 muestras de pacientes que acudieron a la Clínica de Endoperiodontología de la FES-Iztacala, con conductos radiculares infectados o necróticos. El aislamiento se realizó utilizando los medios Agar-Sangre, S110, EMB y Sabouraud. La identificación se realizó por medio del sistema API-STHAP Y API-20E. Finalmente se determinó la susceptibilidad de los microorganismos a 12 antibióticos por el Método de Kirby-Bauer. Se identificaron un total de 42 microorganismos pertenecientes a 9 géneros; *Staphylococcus sp.* (65%), *Enterobacter sp.* (10%), *Klebsiella sp.* (7%), *Escherichia sp.* (5%), *Candida sp.* (5%), *Proteus sp.* (4%), *Chryseomonas sp.* (2%) y *Acinetobacter sp.* (2%). Dentro del Género *Staphylococcus sp.* se identificó a *Staphylococcus aureus* con un 31.29%, *Staphylococcus xylosum* (25%), *Staphylococcus lentus* (18.75%), *Staphylococcus capitis* (12.5%), y por último *Staphylococcus chromogenes* y *Staphylococcus epidermidis* con un 6.25% para cada especie. Para los microorganismos pertenecientes al grupo de bacterias Gramnegativas se identificó en un 33.3% a *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae* y *Escherichia coli* con 16.6% para cada una. Teniendo a *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Chryseomonas luteola*, *Acinetobacter sp.* y *Proteus mirabilis* con un 8.33% para cada caso. Se identificó también a *Candida albicans* con un 5%. En lo que respecta a la resistencia a antibióticos las cepas Grampositivas presentaron un 100% de resistencia a la Dicloxacilina y un 75% a la Ampicilina y Penicilina mostrando una menor resistencia a la Eritromicina. Las especies Gramnegativas, presentaron una resistencia del 100% a la Ampicilina, Carbenicilina y Cefalotina. De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, podemos concluir que *Staphylococcus aureus* se caracterizó como el principal patógeno de los conductos radiculares infectados o necróticos en los pacientes de la Clínica de Endoperiodontología. *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Enterobacter agglomerans*, y *E. Coli* se encontraron asociadas en los procesos infecciosos de los conductos radiculares de los pacientes analizados. La mayoría de las especies Grampositivas y Gramnegativas aisladas de las infecciones radiculares, fueron resistentes a los principales antibióticos de primera elección. Los datos obtenidos en este trabajo evidenciaron la importancia de aislar e identificar el agente causal de las infecciones radiculares, con el propósito de prescribir adecuadamente el antimicrobiano más eficaz. Existe una estrecha relación entre las enfermedades endodónticas y periodontales debido a que si bien no existe un proceso infeccioso visible algunos microorganismos penetran por medio de los canales laterales ocasionando enfermedad en la pulpa.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años en nuestro país ha ocurrido un incremento exponencial de la población mexicana, aunado a esto la prevalencia de pacientes con caries dental y con infecciones periodontales, también han aumentado ¹.

La importancia de los depósitos dentarios o placa bacteriana para la generación de enfermedad endoperiodontal careció de bases científicas hasta mediados del siglo pasado. En la actualidad se ha establecido que la presencia de la placa dentobacteriana es el principal factor etiológico de diversas alteraciones inflamatorias y destructivas de la pulpa dental siendo así la caries el principal factor etiológico de estas enfermedades (Endodónticas y Periodontales) ^{2,3}.

Debido al incremento de pacientes con infecciones periodontales, es importante conocer la estructura dental.

MORFOLOGÍA DENTAL EXTERNA

Se ha descrito que el periodoncio (*peri* = alrededor; *odontos* = diente) comprende la encía, el ligamento periodontal, el cemento radicular, y el hueso alveolar ³. La función principal del periodoncio es la de unir el diente al tejido óseo de los maxilares y en mantener la integridad de la superficie de la mucosa masticatoria de la cavidad bucal. El periodoncio, el cual también es conocido como Aparato de Inserción o Tejido de Sostén de los Dientes, experimenta ciertas modificaciones a través de la edad ³.

La Encía

Se ha reportado que la mucosa bucal es una continuación de la piel de los labios y de la mucosa del paladar blando, así como de la faringe. La mucosa bucal consta de: Mucosa masticatoria, que incluye la encía y el recubrimiento del paladar duro, Mucosa especializada que recubre el dorso de la lengua y Mucosa tapizante o remanente ⁴.

El color de la encía suele describirse como rosa coral, que es producido por el aporte vascular, el grosor y grado de queratinización del epitelio y la presencia de células que contiene pigmentos ⁴. El color varía en las diferentes personas y parece estar relacionado con la pigmentación cutánea. Es más claro en individuos rubios con complejión blanca que en individuos morenos.

Ligamento periodontal

El ligamento periodontal es la estructura del tejido conectivo que rodea a la raíz y la une al hueso. Se continúa con el tejido conectivo de la encía y se comunica con los espacios medulares a través de conductos vasculares en el hueso ⁵.

Los elementos más importantes del ligamento periodontal son las fibras principales, que son de colágena. Los elementos celulares del ligamento periodontal son fibroblastos, células endoteliales, cementoblastos, osteoblastos, osteoclastos, macrófagos titulares y cadenas de células epiteliales denominadas “restos epiteliales de Malassez” o “células epiteliales en reposo”.

El ligamento periodontal también puede contener masas calcificadas denominadas cementículos, que pueden estar adheridas o separadas de las superficies radiculares ⁶.

El riego sanguíneo proviene de las arterias alveolares inferiores y superiores y llega al ligamento periodontal a partir de tres fuentes: vasos apicales, vasos penetrantes del hueso alveolar y vasos anastomosantes de la encía. Las funciones del ligamento periodontal son de cuatro tipos:

- A) Físicas: transmisión de fuerzas oclusales al hueso, unión del diente al hueso, conservación de los tejidos gingivales en su relación correcta respecto de los dientes, resistencia contra el impacto de las fuerzas oclusales (amortiguadores) para proteger a los vasos y nervios contra lesiones de las fuerzas mecánicas.
- B) Formativas: el ligamento periodontal funge como periostio para el cemento y el hueso. Las células del ligamento periodontal participan en la formación y resorción de estos tejidos, que se presentan durante los movimientos fisiológicos normales, la acomodación del periodonto a las fuerzas oclusales y la reparación de lesiones.
- C) Nutritivas y Sensoriales: El ligamento periodontal proporciona nutrimentos a cemento, hueso y encía a través de los vasos sanguíneos, y brinda drenaje linfático. La inervación del ligamento periodontal proporciona sensibilidad propioceptiva y táctil⁴.

Cemento radicular

Se ha descrito que el cemento es el tejido mesenquimatoso calcificado que forma la cubierta exterior de la raíz anatómica. Puede realizar un papel aun más importante en el desarrollo de la enfermedad periodontal que los que se ha demostrado hasta la fecha³.

Existen dos formas principales de cemento radicular: acelular (primario) y celular (secundario). Ambos están formados por una matriz interfibrilar calcificada y fibrillas de colágena. Tanto el cemento celular como el acelular, están dispuestos en láminas separadas por líneas de incremento o crecimiento paralelas al eje mayor de la raíz. Estas líneas representan períodos de descanso en la formación del cemento y están mineralizadas por el cemento adyacente. La mayor parte del cemento acelular esta formado por fibras de Sharpey, que desempeñan un papel principal en el soporte del diente. La mayor parte de las fibras están insertadas en ángulo recto respecto de la superficie radicular y penetran profundamente dentro del cemento, aunque otras penetran desde direcciones diferentes ³.

Hueso alveolar

La apófisis o proceso alveolar es el hueso que forma y da soporte a los alvéolos dentarios. Esta formado por una pared alveolar interna de hueso compacto y delgado denominado hueso alveolar de soporte formado por trabéculas esponjosas, y las placas facial y lingual de hueso compacto, llamadas placas corticales ⁴.

MORFOLOGÍA DENTAL INTERNA

Los dientes maduros que han sufrido la erupción incluyen cuatro tejidos diferentes: pulpa, dentina, cemento y esmalte.

La pulpa constituye el eje central de los dientes, es un tejido conectivo modificado y abastecido por arterias, venas, vasos linfáticos y nervios a través

del foramen apical. Es altamente susceptible a la infección bacteriana, con mucha frecuencia originada de las lesiones cariosas profundas, envolviendo y protegiendo físicamente a la pulpa se encuentra la dentina, un tejido colágeno calcificado parecido al hueso, perforado uniformemente por innumerables túbulos más o menos paralelos de aproximadamente 3 μ m de diámetro que se extiende desde la periferia hasta las paredes de la cámara pulpar y a los conductos radiculares.

La dentina, sirve como un órgano sensorial de los dientes, recibe los nutrientes y elimina los productos catabólicos. Es un tejido vital, en el sentido de que estos odontoblastos intercambian sustancias disueltas en toda su extensión en los túbulos, además forman una barrera de dentina secundaria (reparadora, esclerótica) ausente relativamente en los túbulos, en respuesta a la irritación resultante de las lesiones cariosas, de procedimientos quirúrgicos, de la erosión y del desgaste. La dentina radicular forma la masa estructural de los dientes, raíces y coronas respectivamente; La dentina radicular está cubierta por una capa gruesa de 20 a 200 μ m de tejido calcificado tipo óseo (cemento), el cual está cubierto por células especializadas (cementoblastos) derivadas del ligamento parodontal.

El cemento proporciona el ancla para las fibras de los ligamentos parodontales a los dientes; también puede remodelar, según las necesidades, para acomodar los dientes a las presiones oclusales variantes. En el sentido estrictamente formal, el cemento participa por lo menos tanto como lo hace el parodonto.

En estudios realizados anteriormente se ha demostrado que la caries es causada por un proceso químico biológico caracterizado por la descalcificación progresiva y localizada de los tejidos duros de los dientes, la

cual es iniciada por la desmineralización superficial provocada por los ácidos orgánicos, fundamentalmente el ácido láctico, el cual es producido por los microorganismos de la placa dentobacteriana así como por la ingesta rica en carbohidratos fermentables (sacarosa), y se ha reconocido como principal microorganismo productor de ácido láctico al *Streptococcus mutans*³¹.

Si el proceso carioso no es detenido, llegará el momento en el cual existirá una franca exposición de la pulpa, permitiendo una gran penetración de bacterias, restos de dentina cariosa y productos de degradación, además de saliva, lo que favorece al crecimiento y proliferación de microorganismos.

Cabe señalar que aunque la caries dental es el principal factor de la penetración de los microorganismos hacia la pulpa, existen otros mecanismos por los cuales esto puede suceder, y entre estos tenemos la anacoresis, en este tipo de infección los microorganismos son transportados a través del riego sanguíneo desde otras fuentes para llegar al tejido inflamado, por este motivo cualquier microorganismo de la cavidad bucal, nasofaríngea o del tracto gastrointestinal puede infectar un conducto radicular⁶. Otra forma importante de penetración de microorganismos a la pulpa dental es, a través, de los conductos laterales⁷.

ANTECEDENTES

- Desde principios del siglo XX, se comenzó a relacionar que las agudizaciones endodónticas, se debían a microorganismos⁸.
- En 1901 Onderdonk realizó el primer estudio microbiológico sobre un grupo de pacientes que presentaban los conductos radiculares infectados⁹.
- En 1905 Buckley¹⁰ postuló que las exacerbaciones agudas de pulpas necróticas después de la primera cita eran el resultado de forzar restos necróticos y/o microorganismos a través del foramen apical.
- A medida que avanzaba la microbiología, también se realizaban investigaciones concernientes a las infecciones radiculares, las cuales se debían a la presencia de diversos microorganismos¹¹.
- Hasta finales de la década de los 50, los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *Streptococcus* alfa-hemolíticos, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*¹².
- El estudio de la microbiología en Endodoncia toma un nuevo auge durante los años 60. La mayoría de los estudios efectuados en esos años demostraron que las bacterias aisladas con mayor frecuencia eran bacterias anaerobias facultativas del grupo de los *Streptococcus* alfa-hemolíticos¹³. Otros géneros aislados frecuentemente incluyeron *Enterococcus*, *Difteroides*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Candida*, *Neisseria* y *Veillonella*¹⁴. Estos microorganismos fueron aislados con técnicas de cultivo convencionales.

- Por otro lado el efecto de los microorganismos sobre el tejido pulpar fue estudiado por Sakehasi y cols. en 1965 ¹⁵, demostraron que la contaminación bacteriana del tejido pulpar expuesto tenía una evolución natural hacia la necrosis, pasando por una inflamación crónica y evolucionando eventualmente a una lesión apical crónica.
- Diversos investigadores fracasaron en el intento de relacionar la sintomatología clínica y la presencia de grupos específicos de microorganismos en conductos radiculares infectados; esto podemos observarlo en los estudios realizados en 1968 por Bartels y cols. ¹⁶, quienes al analizar los cultivos realizados en pacientes con agudizaciones, encontraron una gran variedad de microorganismos predominando especies pertenecientes al género de *Streptococcus*.
- En la década de los 70 y 80 se logró un avance importante en el perfeccionamiento de las técnicas para aislamiento y desarrollo de aerobios obligados. Estas técnicas, basadas en el uso de medios de cultivo prereducidos, fueron desarrolladas inicialmente con fines microbiológicos médicos, siendo acogidas rápidamente para su uso en la microbiología endodóntica ¹⁷. De ésta manera, una vez identificados los microorganismos presentes en los conductos radiculares infectados, se logró relacionar estos con las diferentes patologías pulpares y con su sintomatología.
- Actualmente se ha determinado la presencia de *Actinomyces* y *Cándida albicans* en lesiones periapicales de origen pulpar ¹⁸. En este estudio se observó un 66.7% de *Actinomyces* relacionados con abscesos dentoalveolares crónicos (ADAC), 20% con granulomas y 13.3% con

abscesos dentoalveolares agudos secundarios (ADAA 2° o ADAC reagudizado).

- Espina y cols. ¹⁸ en 1997 realizaron un estudio sobre un grupo de pacientes para establecer las especies bacterianas que se encuentran en los sitios periodontales infectados y no infectados. En los sitios infectados aislaron con mayor frecuencia especies como: *Prevotella intermedia/nigrescens* (65%), *Porphyromonas gingivalis* (23%), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (23%), *Fusobacterium nucleatum* (10%) y *Peptostreptococcus* sp. (31%). Los resultados de este estudio evidenciaron que existió una notable diferencia entre los microorganismos identificados de los sitios infectados y sanos. Por ejemplo, se aislaron cocos en el 18.71% de los sitios infectados y 78.90% en los sitios sanos, bacilos móviles en el 46.12% y 16.70%, respectivamente, y espiroquetas en el 26.48% y 2.80%, respectivamente. La presencia de bacilos móviles, treponemas y *P. intermedia/nigrescens* fueron los indicadores más sensibles de sitios con enfermedad periodontal. **IZT.**

- Debido al incremento de las infecciones periodontales Irigoyen y cols. en 1999 ¹⁹ realizaron un estudio utilizando los criterios de la Organización Mundial de la Salud para el levantamiento del índice de caries (CPOD) y del estado parodontal (CPITN). Se examinó a 161 personas, el promedio de edad de la población fue de 69 años. El 23.6% de la población era edéntula. El índice de caries dental CPOD fue de 16.3 % y el índice CPITN mostró que aproximadamente que el 50% de la población tenía bolsas parodontales. Los resultados mostraron un importante deterioro en la salud bucal de la población examinada.



- En el 2000, Taboada. y cols.²⁰, con el propósito de conocer la prevalencia de caries coronal y radicular realizaron un estudio observacional, prolectivo, transversal y descriptivo en una población geriátrica conformada por 61 ancianos de 60 a 90 años de edad. Los resultados arrojaron que la caries sigue siendo un problema de salud pública, debido a que se encontró un CPOD de 18.3%. El menor promedio de caries coronal se presentó en los ancianos de 66 a 70 años con un 15.9%, incrementándose éste conforme avanzaba la edad. La distribución porcentual de caries radicular señala un 34.4% de afectación en el total de la dentición de esta población, aumentando conforme avanza la edad de los individuos, ya que a la edad de 81 y más años la afectación es del 100%. Dando así a conocer, que la caries coronaria, es una enfermedad dentaria primaria, gingival fisiológica senil o por enfermedad periodontal previa. La caries radicular es la más frecuente en el anciano.

CLASIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

Larz y Spangberg²¹, en su libro *Experimental Endodontics* efectuaron la siguiente clasificación de los diferentes microorganismos que han sido encontrados en los conductos radiculares:

Bacterias Grampositivas se encontraron cocos aerobios, anaerobios y facultativos, entre estos destacan los *Streptococcus: milleri, mitior, mutans, sanguis y feacalis*.

Dentro del grupo de los bacilos *Actinomyces: naeslundii y viscosus*.

Bacterias anaerobias Grampositivas

Streptococcus: constellatus, intermedius y morbillorum

Peptostreptococcus: anaerobius, magnus, micro y prevotii

Actinomyces: israeli, meyeri y odontolytus

Arachnia: propionica

Eurobacterium: alactolyticum, brachy, lentum, nodatum y timidum

Lactobacillus: catenaforme y minutus

Propionobacterium: acnes

Bacterias Gramnegativas

Bacterias aerobias, anaerobias y facultativas

Capnocytophaga: ochracea

Eikenella: corrodens

Campylobacter: sputorum

Bacterias Gramnegativas Anaerobias

Cocos

Veillonella perbula

Bacilos

Prevotella sp.

Porphyromonas: buccae, dentícola, endotalis, gingivalis, intermedia loeschei.

Aralis, oris y *B. Ureoliticus*

Fusobacterium nucleatus

Selenomonas sputigena

Wolinella recta y *curva*

Los microorganismos que se encuentran presentes con mayor frecuencia en los conductos radiculares son: *Streptococcus alfa hemolítico* y *gamma* , y los *Staphylococcus aureus* y β -*Streptococcus* en menor cantidad²². En las lesiones periapicales sintomáticas e inflamatorias los microorganismos, anaerobios Gramnegativos, son el principal factor etiológico. Estos microorganismos son responsables de la inhibición quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos, interfieren la sintaxis de anticuerpos y también con la acción de los antibióticos, además de ser productores de enzimas y endotoxinas²³. Lo que da como resultado su persistencia y el dolor periapical.

En estudios recientes se ha demostrado que en este tipo de lesiones, la presencia de microorganismos facultativos, capaces de vivir tanto en ausencia como en presencia de oxígeno, se encuentran microorganismo pertenecientes al genero de las *Enterobacterias*, *Proteus* y *Klebsiella* así como la especie *Escherichia coli*. Otro hallazgo que es de suma importancia es la presencia de *Pseudomonas* y del *Streptococcus faecalis* en las infecciones persistentes²⁴.

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

La resistencia a los antibióticos fue descrita por primera vez en el año de 1912 por Morgenroth y Kaufmann, posteriormente en otras partes del mundo se reportó la existencia de bacterias resistentes a penicilina²⁵ y a estreptomicina²⁶.

Mecanismo de acción de los antimicrobianos y Mecanismos de resistencia bacteriana

El uso indiscriminado de los antibióticos constituye un factor importante en la selección de cepas resistentes, siendo frecuente que las cepas resistentes posean plásmidos que les confiere este fenotipo²⁷.

Los mecanismos de resistencia a antibióticos mediados por plásmidos se agrupan en 4 categorías²⁸:

- a) Inactivación del antibiótico
- b) Alteración del sitio blanco que actúa como receptor al antibiótico.
- c) Disminución del transporte del antimicrobiano al interior de la célula.
- d) Síntesis de vía alterna no sensible al fármaco.

Los mecanismos de resistencia y los mecanismos de acción de los principales grupos de antibióticos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Mecanismos de resistencia y mecanismos de acción de los principales grupos de antibióticos

ANTIBIÓTICOS	MECANISMOS DE ACCIÓN	BLANCO DE ACCIÓN	MECANISMOS DE RESISTENCIA	BASE GENÉTICA
β -lactámicos Penicilina Cefalosporinas	Inhibición de la síntesis de la pared celular	Proteínas de unión de la penicilina (PBPs)	Hidrólisis del anillo β -lactámico (β -lactamasas) Alteración del blanco (PBPs)	Plásmido y cromosoma
Macrólidos y lincosamidas	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	Mutilación del material 23s (metilasa) Hidrólisis de la lactona de eritromicina (eritromicinesterasa)	Plásmido y cromosoma
Cloranfenicol	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	Modificación del antibiótico evitando su unión al ribosoma (cloranfenicol acetil transferasa)	Plásmido
Aminoglucósidos Estreptomina Neomicina Kanamicina Gentamicina	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	Modificación del antibiótico impidiendo su transporte (acetil transferasa, fosfatidil transferasa, adenil transferasa metilasa). Modificación de la subunidad 50s del ribosoma. Disminución de la captación por la célula	Plásmido y cromosoma Plásmido Cromosoma
Quinolonas y ácido nalidixico	Inhibición de la Replicación, Transcripción, Recombinación y Superenrollamiento del ADN	ADN girasa	Mutación sobre ADN girasa (ADN girasa) Disminución de la permeabilidad Eflujo	Cromosoma Cromosoma Cromosoma
Tetraciclina	Inhibición de la síntesis de proteínas Inhibición de la síntesis de proteínas.	Proteína de la subunidad ribosómica 30 s	Interferencia con el transporte de la droga (proteínas inducibles)	Plásmido
Sulfonamidas Trimetoprim	Inhibición de la síntesis De ácido fólico		Síntesis de vía alterna no sensible al fármaco	Plásmido

Amábile, 1988.

Debido a que las infecciones endodónticas son cada vez más frecuentes, el propósito de este trabajo fue aislar e identificar las bacterias aerobias patógenas y no patógenas de pacientes con conductos radiculares infeccionados o necróticos adscritos a la Clínica Odontológica en la especialidad de Endoperiodontología.

OBJETIVO GENERAL

Aislamiento e Identificación de microorganismos comensales y patógenos de conductos radiculares infectados o necróticos en pacientes que acuden a la Clínica de Endoperiodontología de la FES-Iztacala.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificación de las cepas bacterianas utilizando los sistemas API-STHAP y API-20E.
- Determinar la sensibilidad y/o resistencia de las bacterias obtenidas, por el Método de Bauer-Kirby.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó con un grupo de aproximadamente 13 pacientes con patología dental.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Dientes que presenten pulpa necrótica o infectados
- Adultos (18 a 48 años).
- Que tengan elaborada historia clínica y serie radiográfica.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes que hayan padecido enfermedades debilitantes o hayan ingerido antibiótico una semana anterior.
- Que se encuentren bajo tratamiento periodontal con administración de clorhexidina.
- Pacientes tratados de emergencia y que carezcan de historia clínica completa.
- Dentición temporal.
- Pacientes que se nieguen a participar en la investigación

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Conductos irrigados previo a la toma de la muestra.
- Conductos muy estrechos que impidan la toma de la muestra.
- Contaminación de muestras o medios de cultivo.
- Escurrimiento de soluciones durante el proceso.

a) Marcado de la muestra

Nombre del paciente; edad; número de diente o zona de extracción y fecha.

b) Toma de la muestra

Previa anestesia el diente por valorar se aisló con un dique de hule de las demás piezas dentales. Posteriormente se realizó la asepsia de la zona con una solución de clorhexidina al 0.12%. Al término se efectuó el acceso a la cámara pulpar y mediante puntas de papel estériles se tomó la muestra de los conductos, tratando de que las puntas de papel quedaran holgadas y lo más apical posible. Se utilizaron dos puntas por cada diente seleccionado, y en los casos en los cuales existió la presencia de fistulas se obtuvo una muestra a través de la misma. Finalmente las muestras fueron depositadas en el medio transporte, Infusión cerebro corazón (BHI) y transportadas al Laboratorio Clínico de la CUSI-Iztacala para su procesamiento.

c) Aislamiento

Posteriormente las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo las muestras se sembraron en los medios de cultivo de Agar Sangre, Sabouraud, S110 y EMB (eosina azul de metileno) y se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente las cepas bacterianas se clasificaron como Grampositivas o Gramnegativas de acuerdo a la tinción de Gram. Finalmente se realizó la identificación bacteriana por medio del sistema API-STAPH (Género *Staphylococcus*) y API-20E (Familia Enterobacteriaceae).

Sistema API-20E para bacterias Gramnegativas

Es un sistema que utiliza 23 test bioquímicos estandarizados y miniaturizados y una base de datos.

API-20E consta de 20 microtubulos conteniendo sustratos deshidratados. Estos test se inocularon con una suspensión bacteriana la cual hidrata el medio. Durante la incubación, se producen cambios de color espontáneo o revelado por adición de reactivos.

La lectura de las reacciones se hizo de acuerdo con la tabla de lectura y la identificación mediante el API-20E index o con el programa informático para identificación.

Para la preparación de la galería se preparó una cámara de incubación con su tapa correspondiente y se repartieron 5 ml de agua destilada o desmineralizada en los alvéolos para proporcionar una atmósfera húmeda.

Posteriormente se anotó la fecha de la referencia en la lengüeta lateral y se colocó la galería en la cámara de incubación.

Al mismo tiempo se realizó la prueba de la oxidasa para lo cual se tomó una colonia de la cepa a identificar y se colocó sobre un trozo de papel filtro sobre un portaobjetos. Se humedeció el papel con una gota de agua estéril y se añadió una gota de reactivo OX. Si la reacción es positiva apareció en uno o dos minutos una coloración púrpura. El resultado de esta reacción debió ser anotado ya que constituye el test #21 de la identificación.

El siguiente paso en el desarrollo de esta técnica fue la preparación de el inóculo por lo que se tomó de una ampolleta de NaCl 0.85% (Medium 5ml) con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril se recogió una colonia de la placa de agar y se realizó una suspensión bacteriana homogeneizando cuidadosamente la ampolleta. Posteriormente se llenaron los tubos y las cúpulas de los test con la suspensión bacteriana y se incubaron de 18-24 horas a temperatura ambiente (20-25°C).

Terminado el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura de la Galería con la ayuda de la Tabla de Lectura. Se anotaron en la hoja de resultados las reacciones espontáneas y si la glucosa es positiva y/o 3 o más test son positivos se efectuó el revelado de los test que requieran reactivos.

Test TDA: se añadió una gota de reactivo TDA al test. Un color marrón oscuro indicó una reacción positiva.

Test IND: se adicionó una gota de reactivo James; si la reacción es positiva apareció una coloración rosa.

Test Up: se añadió una gota de UP1 y UP2 y se espero como mínimo 10 minutos Un color rosa o rojo indicó una reacción positiva.

Test NO₂: se adicionó una gota de NIT 1 y NIT 2 en el tubo GLU. Se espera de 2 a 3 minutos. Un color rojo indica una reacción positiva.

Por último viene la Identificación las cuales se realizó mediante el sistema computarizado API-20E para lo cual en la hoja de resultados los test estuvieron agrupados de 3 y cada uno tuvo asignado un valor 1,2 ó 4. La galería API-20E consta de 20 tests. Los números en el interior de cada grupo corresponden a reacciones positivas.

El test de la oxidasa es el numero 21. Sumando los valores de los test positivos para cada grupo se obtuvo un código de 7 cifras. El programa informático para identificación se utilizó introduciendo manualmente en el teclado el perfil numérico de las 7 cifras, dando así el resultado correcto.

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Para probar la sensibilidad y/o resistencia de cada cepa se utilizó la técnica de Bauer-Kirby ²⁹, para lo cual se tomaron 5 colonias (de cada cepa) con un asa estéril y se inocularon en 5 mil de caldo Mueller Hinton, se incubaron a 37°C hasta que apareció una turbidez ligera (3 hrs), la turbidez se ajustó con solución salina estéril hasta que se obtuvo una densidad comparable, con un estándar de sulfato de bario. El estándar se preparó mezclando 5 ml de BaCl₂ 0.048 M (1.175% peso/volumen de BaCl₂ 2H₂O) con 99.5 ml de H₂SO₄ al 1% v/v (0.36N), que fue la mitad de la densidad del estándar No. 1 de MacFarland (estándar 0.5 de MacFarland), el estándar

correspondió a 10^8 microorganismos/ml. Posteriormente se procedió a inocular sobre el agar de Mueller-Hinton por medio de hisopos estériles, los cuales se humedecieron con la suspensión (crecimiento bacteriano) y se estriaron sobre la totalidad de la superficie del agar. Por último se tomó un sensidisco con los 12 antimicrobianos a determinar (Sanofi, diagnostic, Pasteur), con una pinza estéril y se colocó sobre el agar de Mueller-Hinton. Así el antimicrobiano se difundió formando un gradiente de concentración, que inhibió o permitió el crecimiento de la bacteria en un tiempo de 24 h a 37°C . De esta manera las cepas se clasificaron como susceptibles (S) o resistentes (R) dependiendo el diámetro del halo de inhibición (el cual se midió con un vernier), conforme a las recomendaciones del fabricante respecto a los puntos de corte. (Tabla 2).

Tabla 2. Microorganismos que se utilizarán para las cepas bacterianas.

ANTIBIÓTICO	ABREVIATURAS	FAMILIA	ACCIÓN ^a	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm) ³
Ampicilina	AMP	Aminopenicilina	1	=28 =29
Cefalotina	CF	Cefalosporina de 1ª. generación	1	=14 15-17 =18
Cefotaxima	CTX	Cefalosporina de 3ª. Generación	1	=14 15-22 =23
Ceftazidima	CAZ	Cefalosporina de 3ª. Generación	1	=14 15-17 =18
Cefuroxima	CXM	Cefalosporina de 2ª. Generación	1	=14 15-17 =18
Dicloxacilina	CLOX	Penicilina semisintética	1	=10 11-12 =13
Eritromicina	ERI	Macrólido	2	=13 14-17 =18
Gentamicina	GEN	Aminoglucósido	2	=12 13-14 =15
Pefloxacina	PEF	Quinolona	3	=14 15-22 =23
Penicilina	PEN	Penicilina	1	=28 =29
Tetraciclina	TET	Tetraciclina	2	=14 15-18 =19
Trimetoprim-sulfametoxazol	SXT	Combinación de diamopirimidina y sulfonamida	3	=10 11-15 =16
Amikacina	AK	Aminoglucósido	2	=14 15-16 =17
Carbenicilina	CB	Carboxipenicilinas	1	=17 18-22 =23
Ceftriaxona	CTX	Cefalosporina de 3ª. Generación		=13 14-20 =21
Cloranfenicol	CL	Cloranfenicol	2	=12 13-17 =18
Netilmicina	NET	Aminoglucósido	2	=12 13-14 =15
Nitrofurantóina	NF	Nitrofuranos	3	=14 15-16 =17
Pefloxacina	PEF	Quinolona	3	=14 15-22 =23

^a 1 Inhibición de la formación de la pared celular 2. Interferencia en la síntesis de proteínas 3. Inhibición del metabolismo de los ácidos nucleicos.

^b R=resistente, I=Intermedia y S= sensible

RESULTADOS

Pacientes analizados

En total fueron procesadas 13 muestras de pacientes con conductos radiculares infectados o necróticos. La mayoría de los pacientes presentó una edad entre los 51 y 60 años (37.5%), seguido por la edad de 41 y 50 (25%) y finalmente el grupo minoritario fue de personas que registraron una edad entre los 21 y 40 años (12.5%). (Figura 1).

En la Figura 2 puede observarse que del total de pacientes estudiados predominó en un 75% el sexo femenino y el masculino solo representó un 25%, lo que indica que las mujeres acudieron con mayor frecuencia a la clínica.

Microorganismos identificados

A partir de las 13 muestras obtenidas de pacientes con conductos radiculares infectados o necróticos, se identificaron un total de 42 microorganismos pertenecientes a 9 géneros; *Staphylococcus sp.* (65%), *Enterobacter sp.* (10%), *Klebsiella sp.* (7%), *Escherichia sp.* (5%), *Candida sp.* (5%), *Proteus sp.* (4%), *Chryseomonas sp.* (2%) y *Acinetobacter sp.* (2%) (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de los Géneros de los microorganismos identificados

MICROORGANISMO	PORCENTAJE
<i>Staphylococcus sp.</i>	65%
<i>Enterobacter sp.</i>	10%
<i>Klebsiella sp.</i>	7%
<i>Escherichia sp.</i>	5%
<i>Cándida sp.</i>	5%
<i>Proteus sp.</i>	4%
<i>Chryseromonas sp.</i>	2%
<i>Acinetobacter sp.</i>	2%

Microorganismos Grampositivos

Dentro del Género *Staphylococcus sp.* (65%, Tabla 3) se identificaron bacterias pertenecientes a 7 especies (Figura 3). Se observa que *Staphylococcus aureus* fue la especie que se aisló con mayor frecuencia con un 31.29%, seguida de *Staphylococcus xylosus* (25%), *Staphylococcus lentus* (18.75%) *Staphylococcus capitis* (12.5%), y por último *Staphylococcus chromogenes* y *Staphylococcus epidermidis* con un 6.25% para cada especie.

Por otra parte es importante mencionar que dentro del género *Candida sp.* (5%, Tabla 3), todas las cepas aisladas correspondieron a la especie *Candida albicans*.

Microorganismos Gramnegativos

Para los microorganismos pertenecientes al grupo de bacterias Gramnegativas se identificó en un 33.3% a *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae* y *Escherichia coli* con 16.6% para cada una. Teniendo a *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Chryseromonas luteola*, *Acinetobacter sp.* y *Proteus mirabilis* con un 8.33% para cada caso. (Tabla 4)

Tabla 4. Microorganismos aislados pertenecientes a bacterias Gramnegativas

MICROORGANISMO	PORCENTAJE
<i>Enterobacter agglomerans</i>	33.3%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	16.6%
<i>Escherichia coli</i>	16.6%
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	8.33%
<i>Chryseromonas luteola</i>	8.33%
<i>Acinetobacter sp.</i>	8.33%
<i>Proteus mirabilis</i>	8.33%

Figura 1. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR EDAD

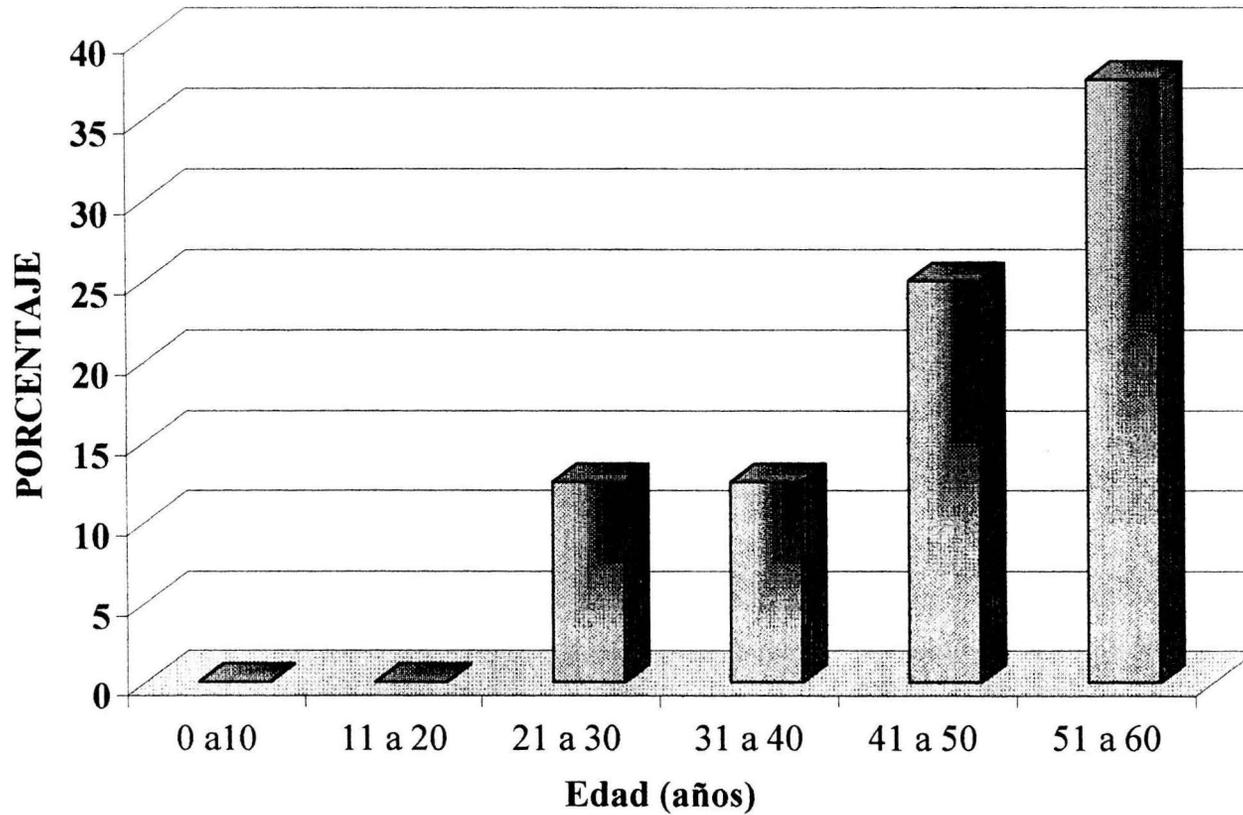


Figura 2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR SEXO

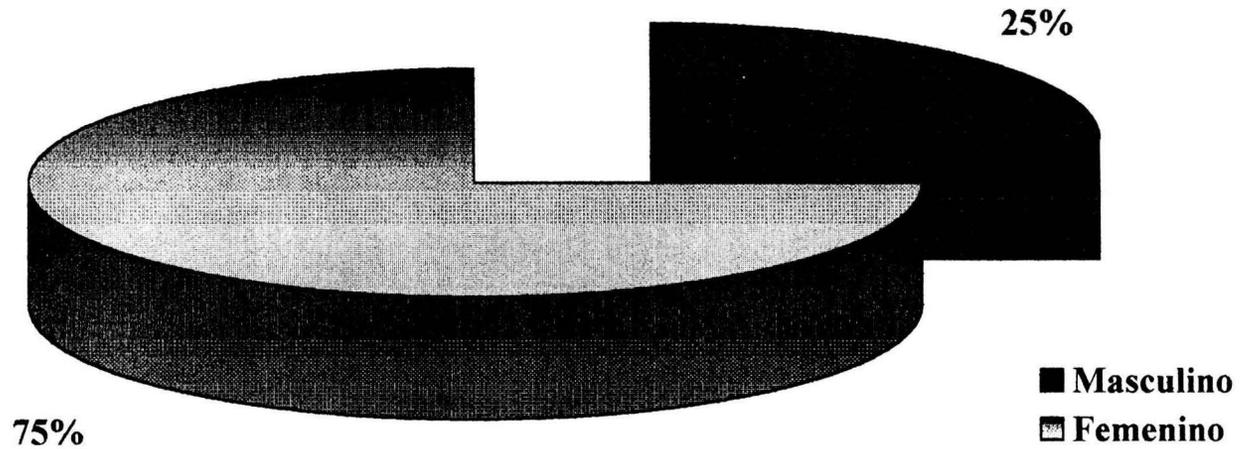
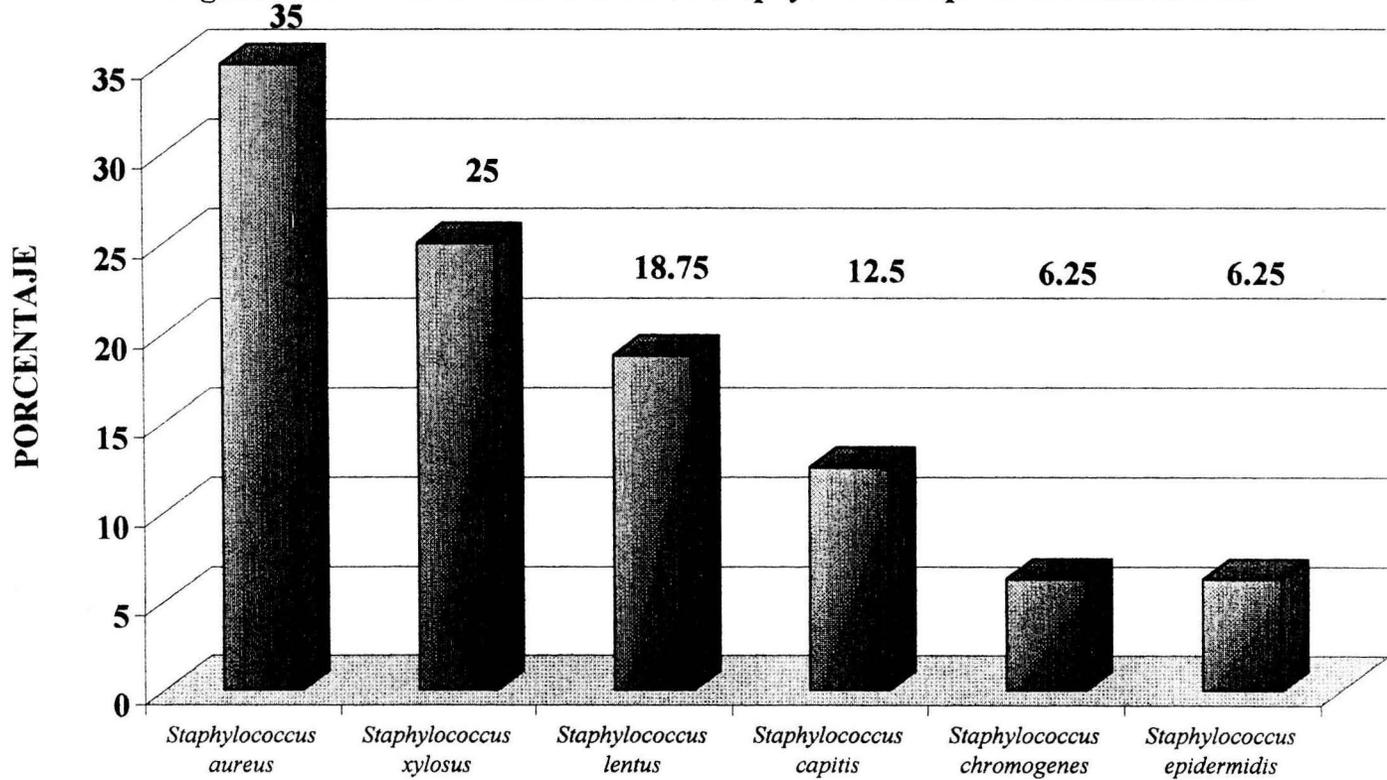


Figura 3. ESPECIES DEL GÉNERO *Staphylococcus* sp. IDENTIFICADAS



Resistencia a antibióticos de cepas Grampositivas

Staphylococcus aureus

En la Figura 4, se puede observar que el 100% de las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron resistentes a la Dicloxacilina seguido por la Penicilina con un 80%, el Trimetoprim sulfametoxazol 70%, la Cefotaxima 50%, Pefloxacina 40%, Cefotaxima y Tetraciclina 20% para cada una, Ampicilina, Cefalotina, Cefuroxima y Gentamicina con un 10% para cada caso. Y solamente la Eritromicina mostró una eficacia completa contra las cepas pertenecientes a esta especie.

Staphylococcus xylosum

Staphylococcus xylosum mostró resistencia en un 100% solamente a la Dicloxacilina, para el Trimetoprim sulfametoxazol, Pefloxacina y Cefotaxima en un 50% para cada caso, Penicilina y Cefuroxima en un 33% para cada una, Eritromicina y Ampicilina 17%, Tetraciclina 16.6%. Existieron 3 antibióticos eficaces contra el crecimiento de las cepas de esta especie y estos fueron la Cefalotina, Cefotaxima y la Gentamicina. (Figura 5)

Staphylococcus lentus

En la Figura 6 puede observarse que las cepas de *Staphylococcus lentus* fueron resistentes a la Dicloxacilina en un 100%, a Ampicilina y Penicilina 75%, Cefotaxima, Cefuroxima, Tetraciclina y Eritromicina con un 50% para

cada una y finalmente la Cefalotina, Cefuroxima, Gentamicina, Pefloxacina y Trimetoprim sulfametoxazol con un 25% para cada caso. Cabe mencionar que para esta especie ningún medicamento fue eficaz.

Staphylococcus chromogenes

El 100% de las cepas de *Staphylococcus chromogenes* mostró resistencia a la Dicloxacilina, Penicilina, Trimetoprim sulfametoxazol, Cefuroxima, Ampicilina, Gentamicina para cada uno, 50% para la Cefotaxima y Eritromicina en cada una.

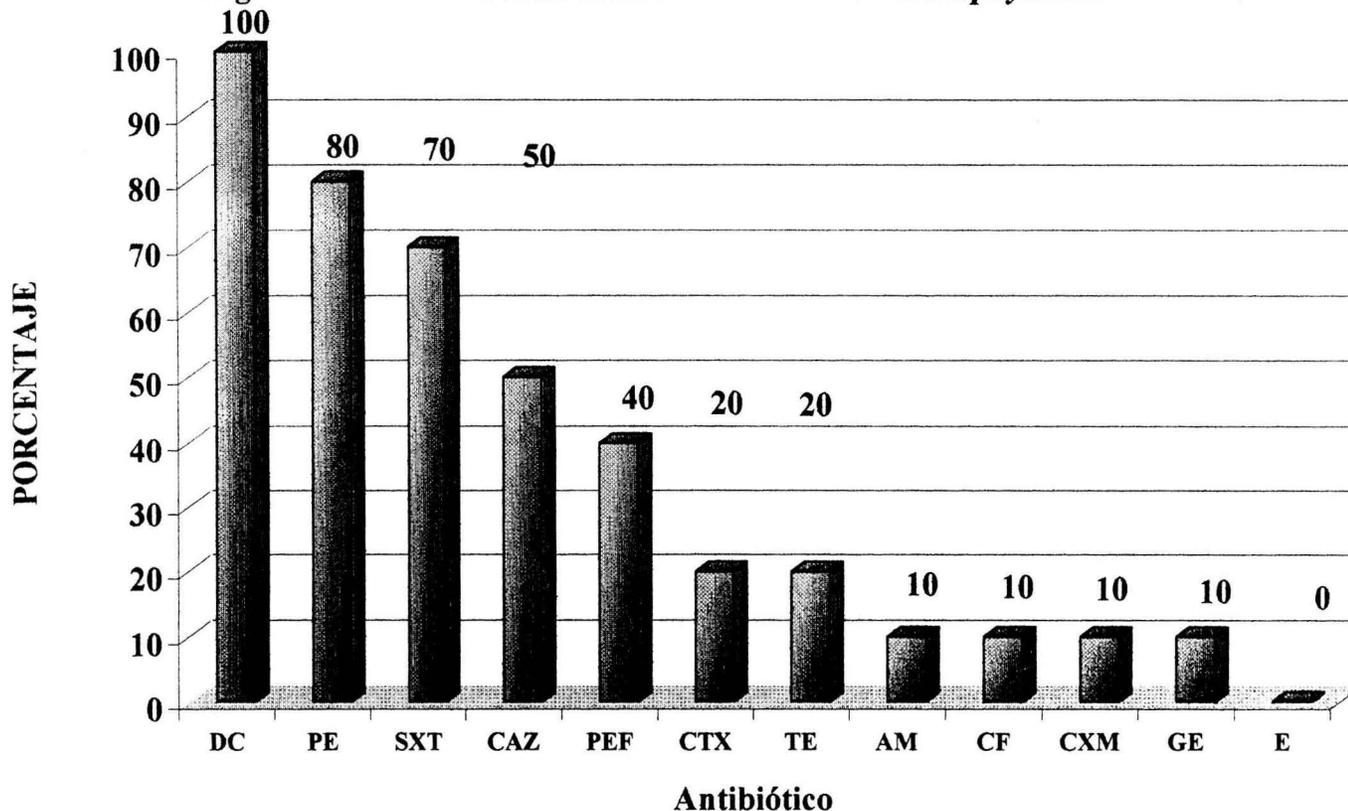
Staphylococcus capitis

El total de las cepas de *Staphylococcus capitis* fue resistente a los antibióticos Dicloxacilina, Penicilina y Eritromicina. (Figura 8)

Staphylococcus epidermidis

En la Figura 9 se aprecia que las cepas de *Staphylococcus epidermidis* mostraron resistencia frente a la Dicloxacilina, Penicilina, Trimetoprim sulfametoxazol, Ceftazidima y Cefotaxima.

Figura 4. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus aureus*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

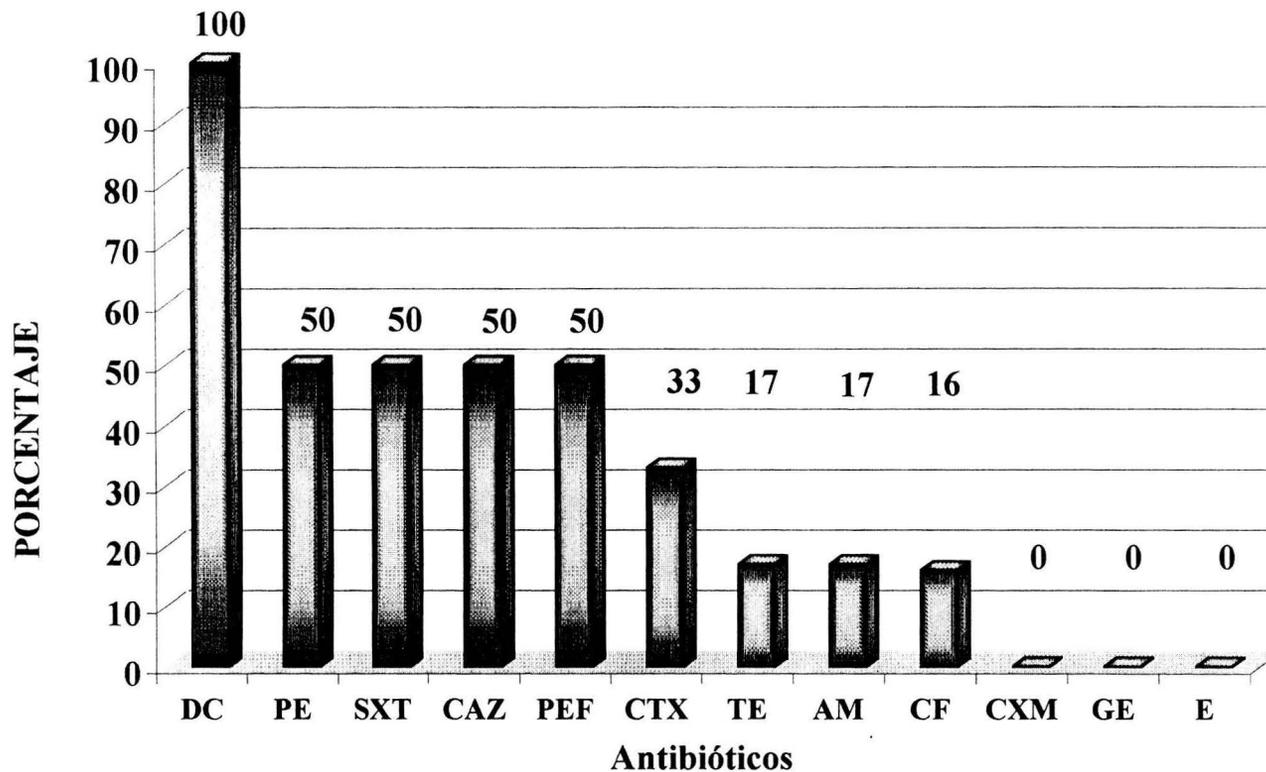
CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Figura 5. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus xylosus*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

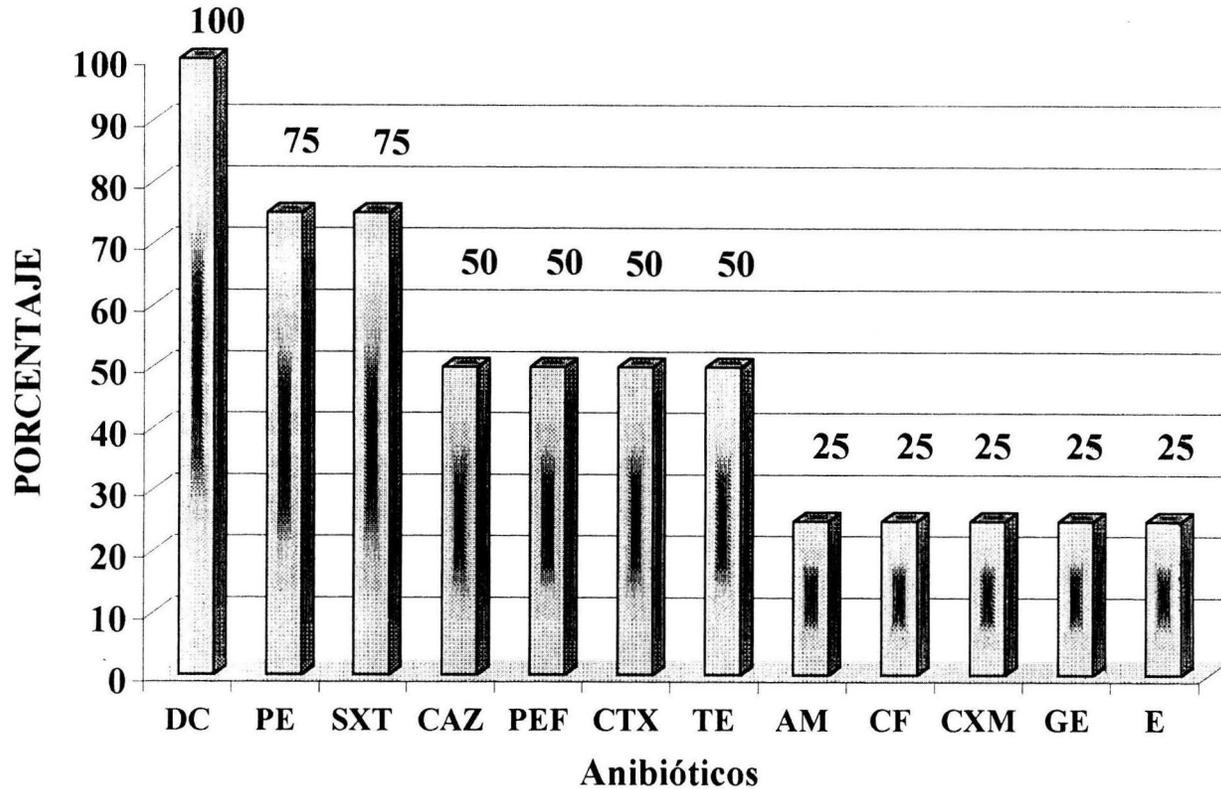
CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Figura 6. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus lentus*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

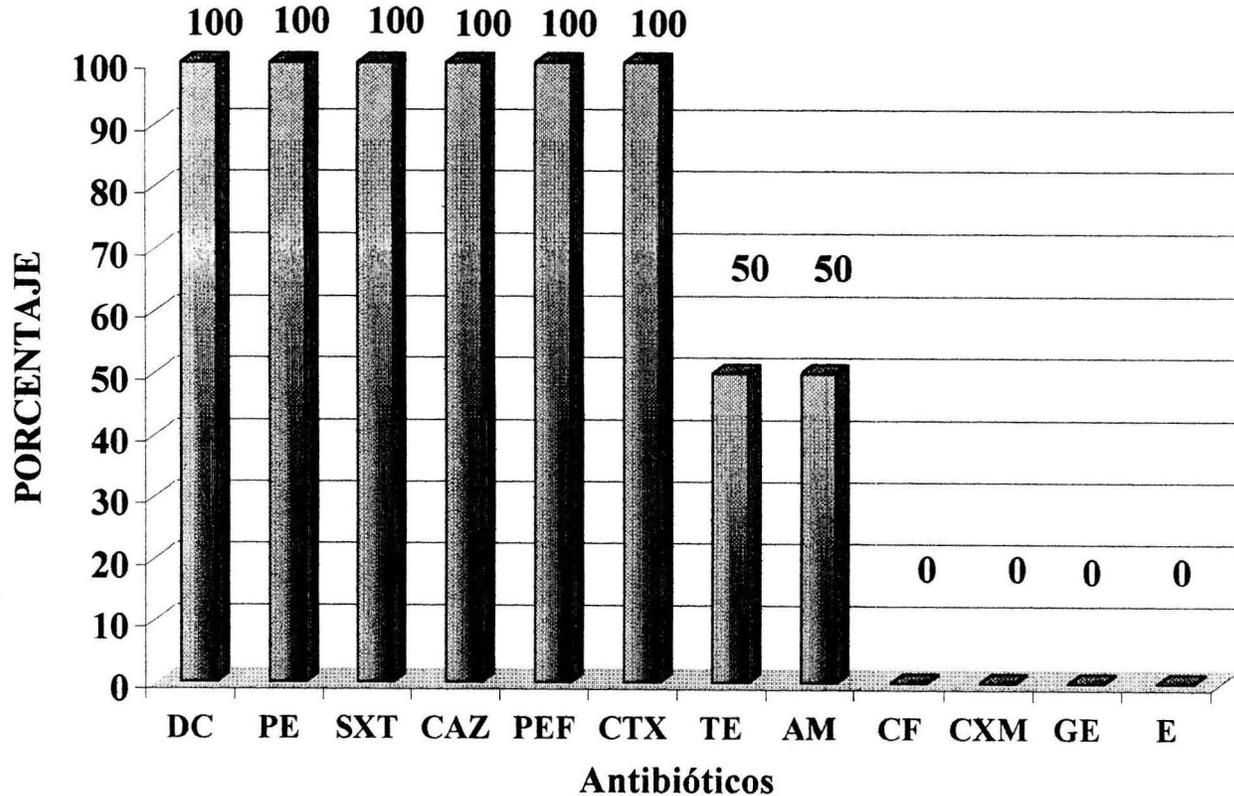
CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Figura 7. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus chromogenes*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

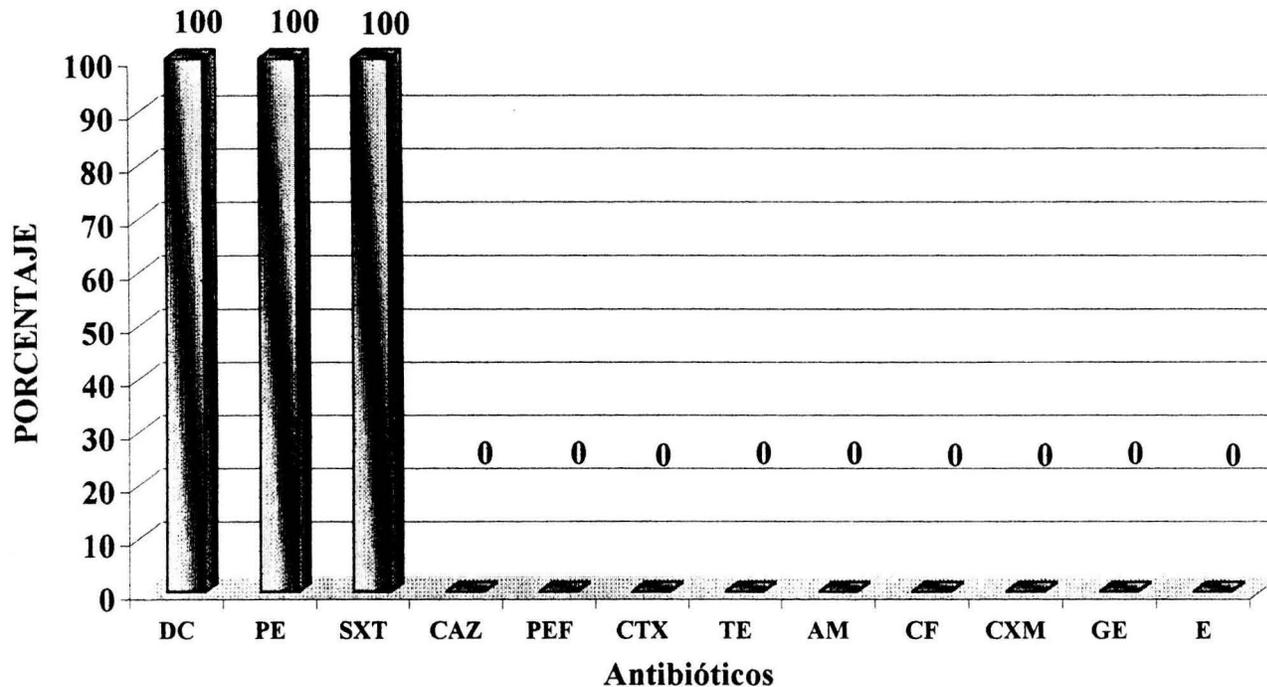
CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Figura 8. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus capitis*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

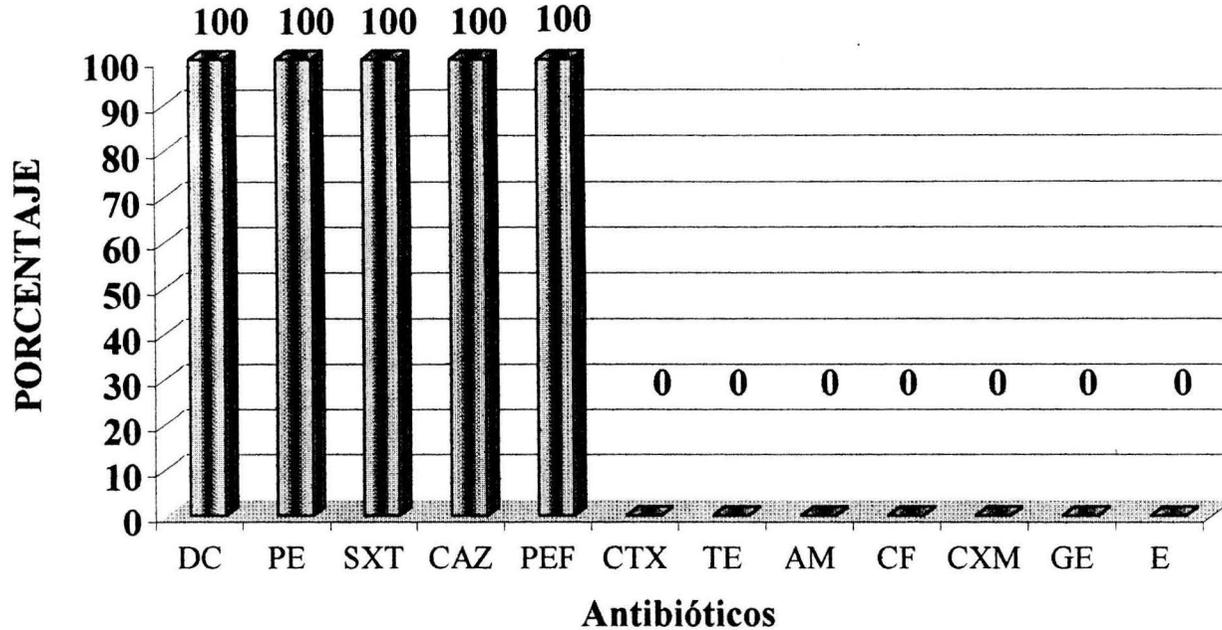
CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Figura 9. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus epidermidis*



DC = DICLOXACILINA

PE = PENICILINA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

CAZ = CEFTAZIDIMA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFTRIAXONA

TE = TETRACICLINA

AM = AMPICILINA

CF = CEFALOTINA

CXM = CEFUROXIMA

GE = GENTAMICINA

E = ERITROMICINA

Resistencia a antibióticos de cepas Gramnegativas

Enterobacter agglomerans

En la Figura 8 puede observarse que el 100% de las cepas de esta especie fueron resistentes en un 100% a la Ampicilina, Carbenicilina y Cefalotina en cada caso. Para la Cefotaxima, Ceftriaxona, Netilmicina y Nitrofurantoína en un 25% para cada una.

Klebsiella ozaenae

Klebsiella ozaenae fue resistente un 100% a la Ampicilina, Carbenicilina, Cefalotina, y Cefotaxima. Para el Cloranfenicol y Ceftriaxona en un 50% y Netilmicina 25%. (Figura 9).

Escherichia coli

En la Figura 10 se observa que para la Ampicilina, Carbenicilina y Cefalotina las cepas mostraron resistencia en un 100%. Para el Cloranfenicol y la Ceftriaxona un 50% de resistencia y a la Netilmicina con 25%.

Acinetobacter sp.

Las cepas de *Acinetobacter sp.* fueron resistentes en un 100% a la Cefalotina, Ampicilina, Carbenicilina, Amikacina, Nitrofurantoína y Netilmicina. (Figura 11).

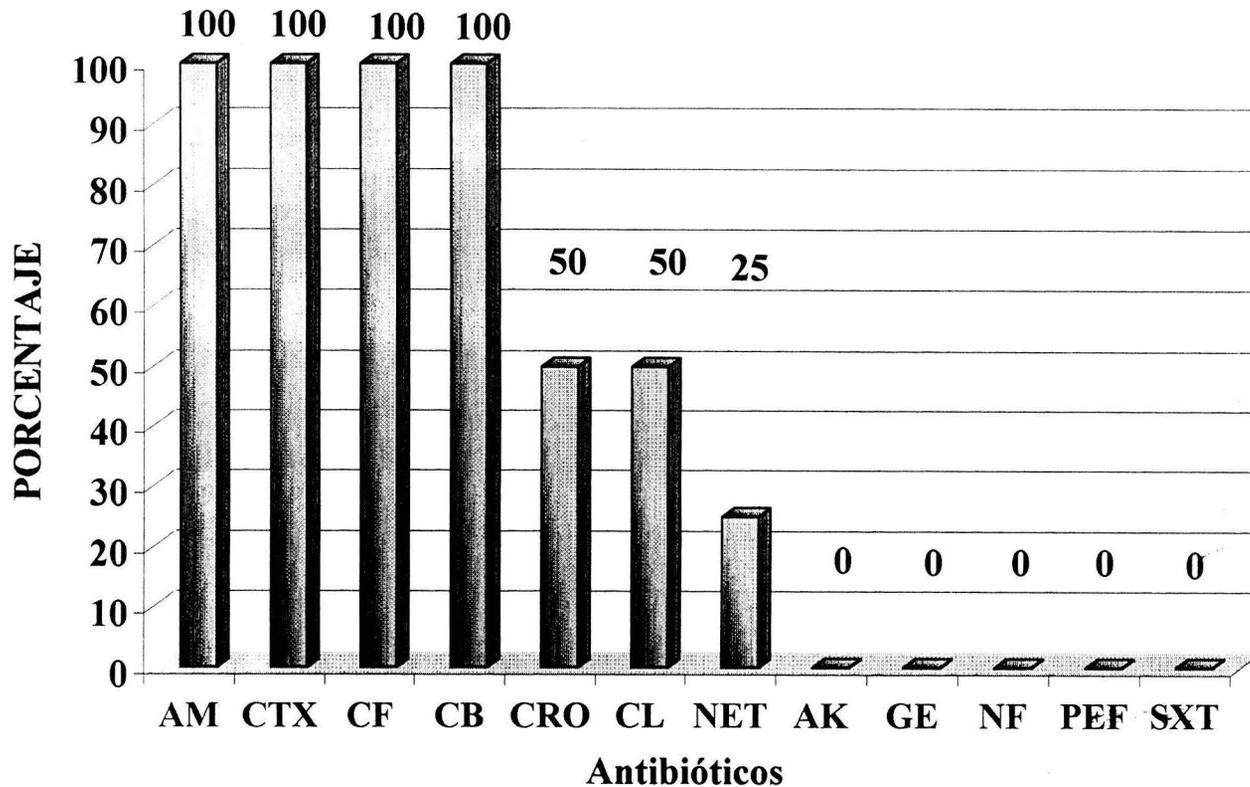
Proteus mirabilis

El 100% de las cepas de *Proteus mirabilis* mostró resistencia para la Cefalotina, Ampicilina, Carbenicilina, Cefotaxima, Cloranfenicol y Ceftriaxona. (Figura 12).

Chryseromonas luteola

El total de las cepas de *Chryseromonas luteola* fue resistente a los antibióticos Cefalotina, Ampicilina, Carbenicilina, Amikacina, Nitrofurantoína y Netilmicina.

Figura 10. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Enterobacter agglomerans*



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

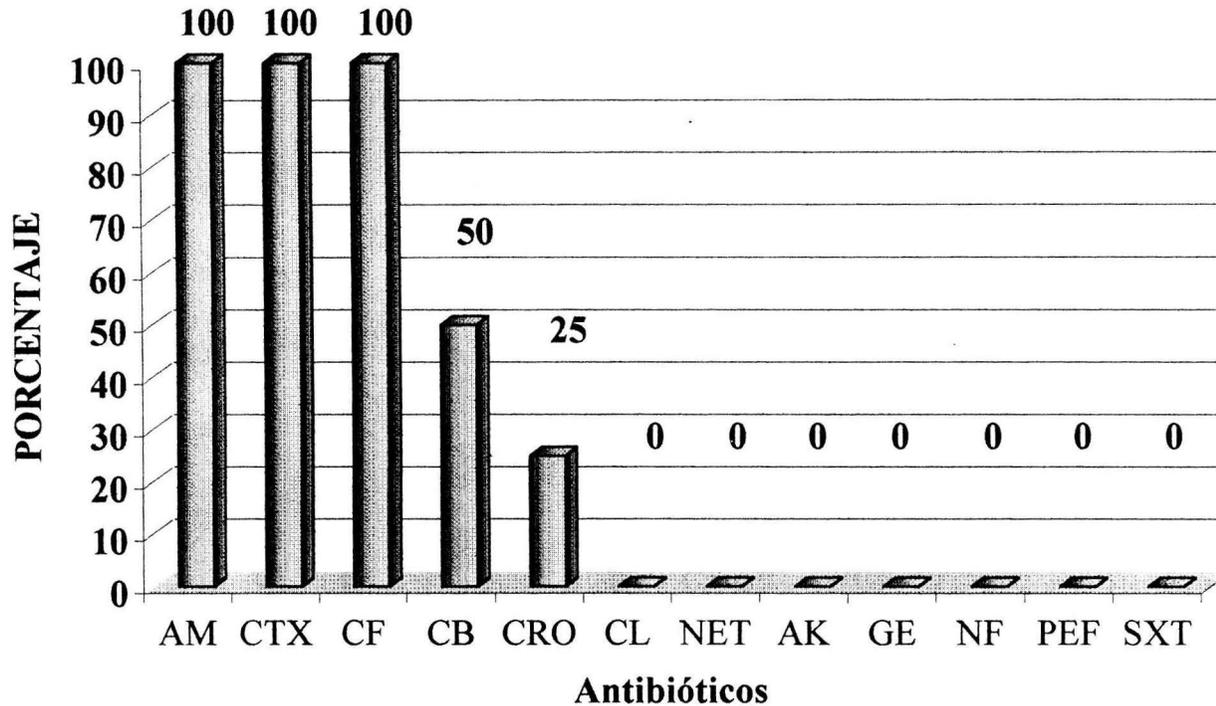
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 11. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Klebsiella ozaenae*



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

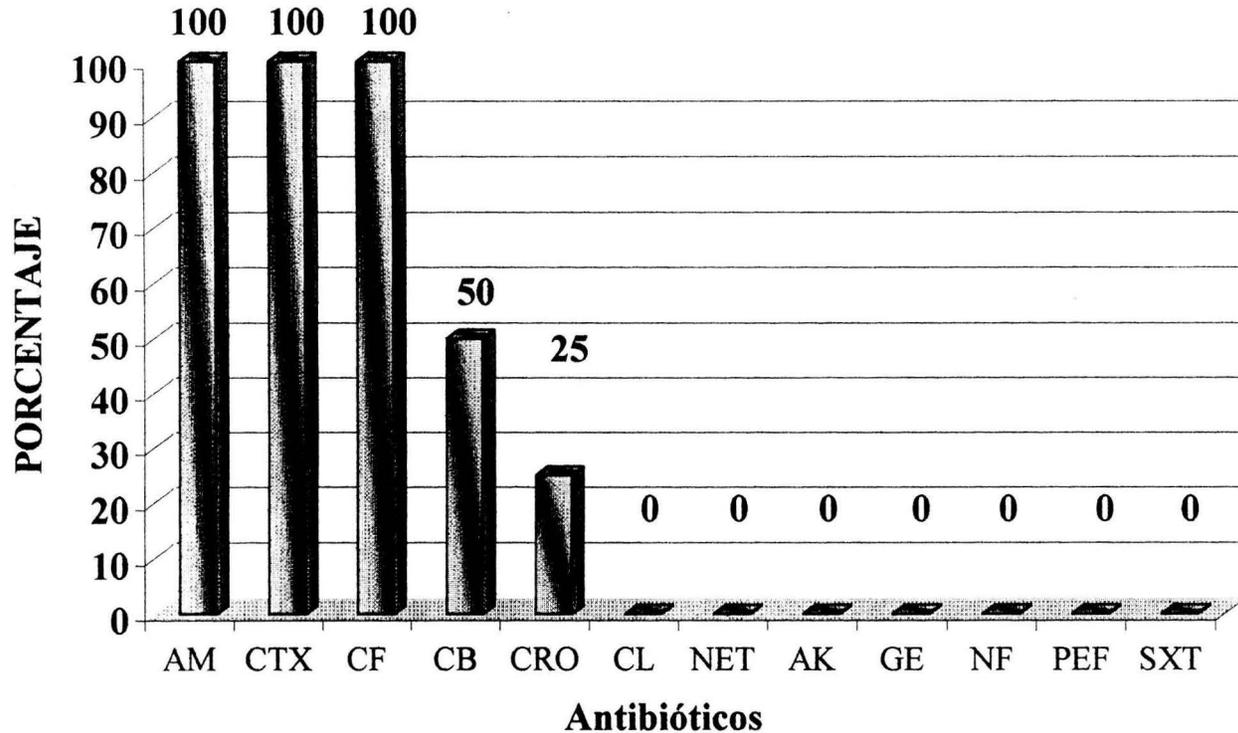
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 12. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Klebsiella rhinoscleromatis*



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

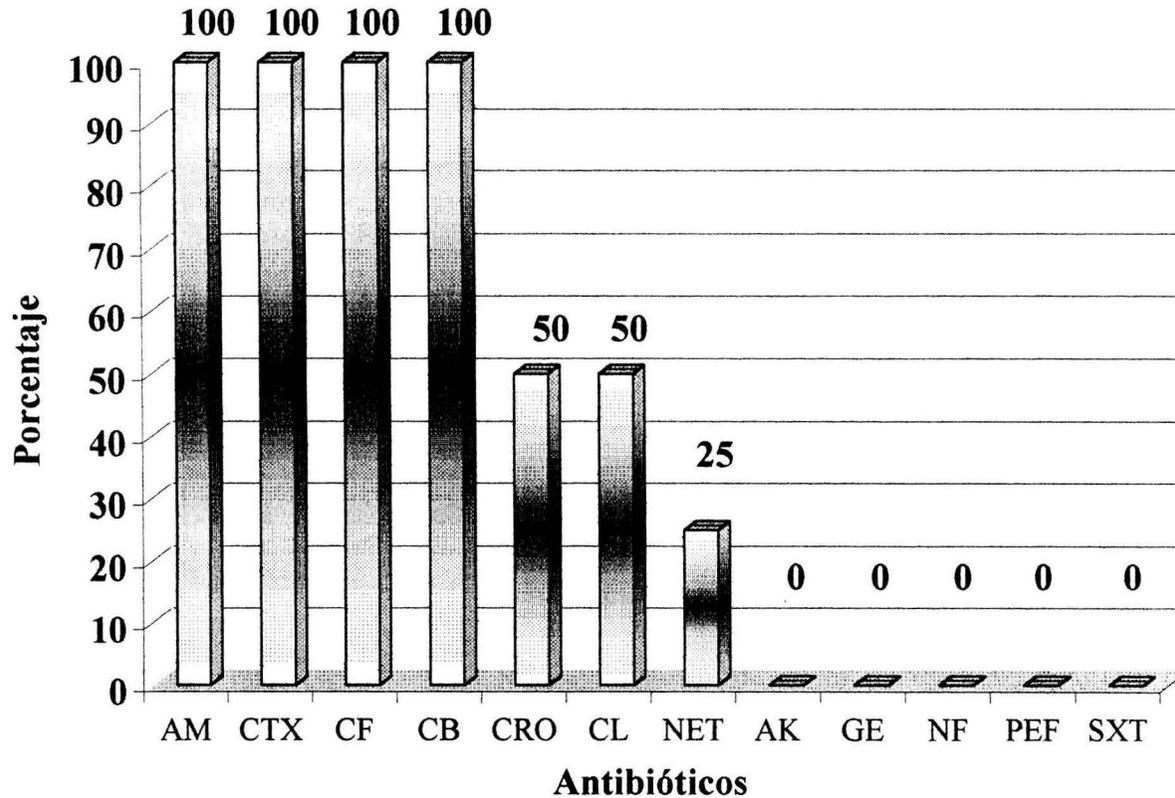
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 13. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Escherichia coli*



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

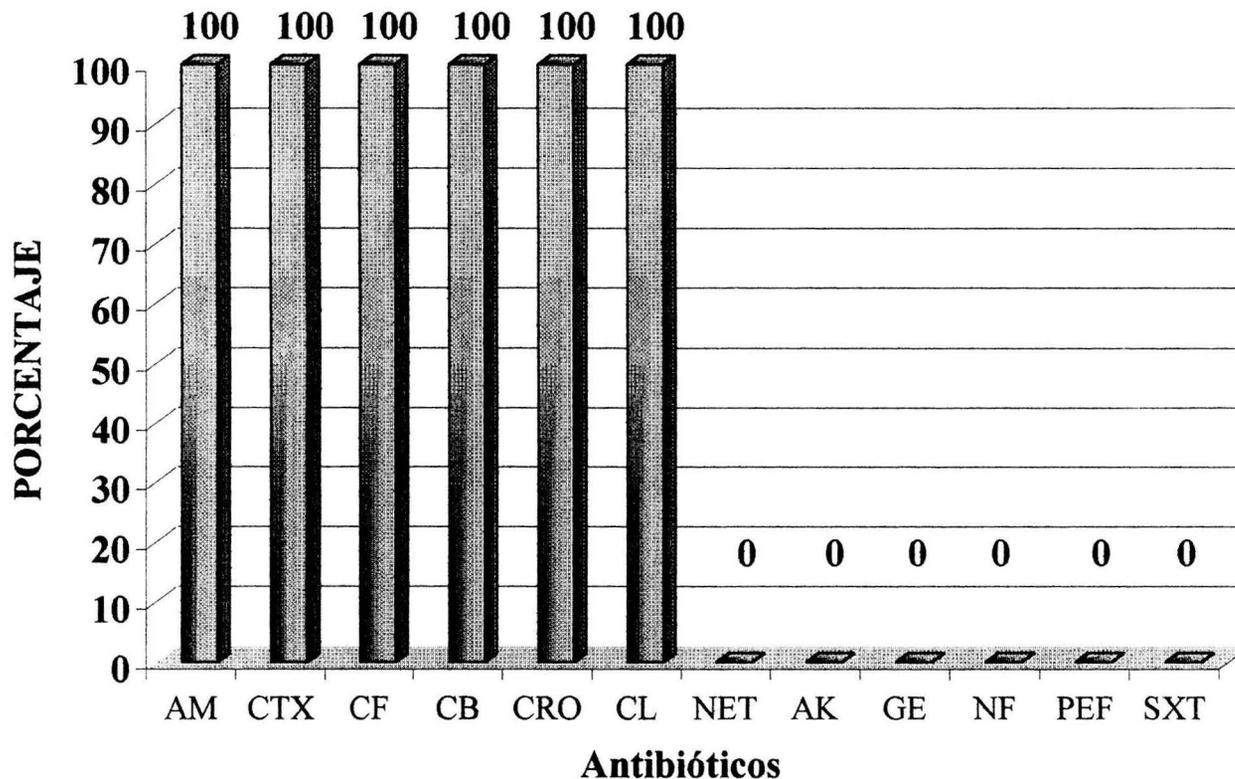
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 14. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Acinetobacter* sp.



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

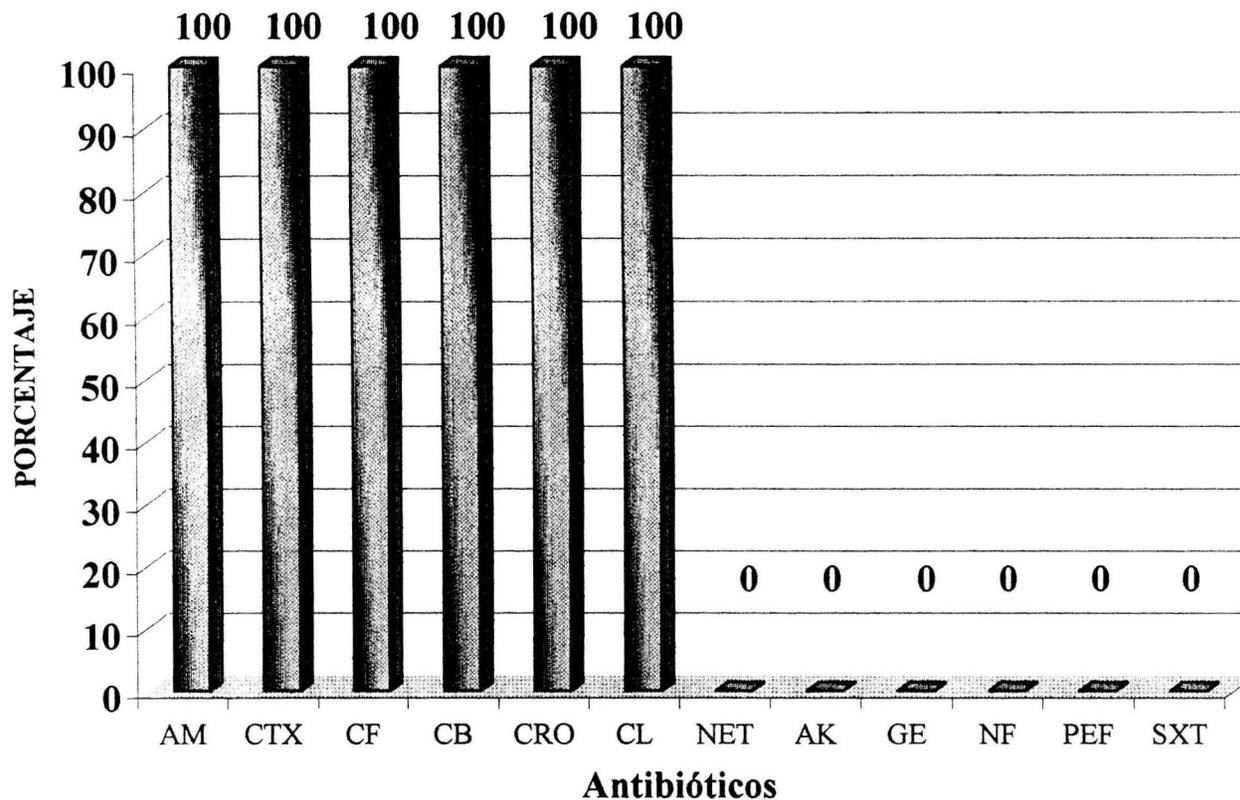
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 15. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Proteus mirabilis*



CB = CARBENICILINA

CRO = CEFTRIAXONA

SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

NET = NETILMICINA

PEF = PEFLOXACINA

CTX = CEFOTAXIMA

AK = AMIKACINA

AM = AMPICILINA

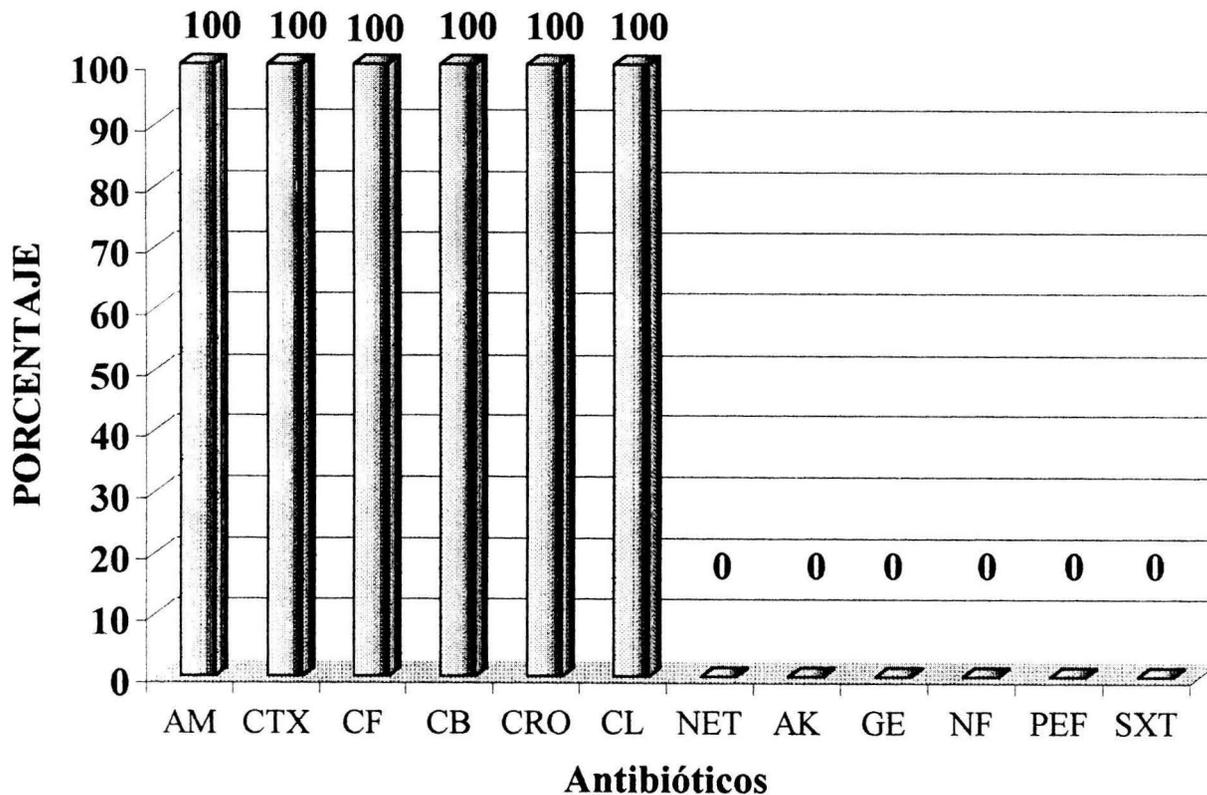
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL

GE = GENTAMICINA

CF = CEFALOTINA

Figura 16. RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Cryseromonas luteola*



CB = CARBENICILINA
CRO = CEFTRIAXONA

NET = NETILMICINA
PEF = PEFLOXACINA
SXT = TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

AK = AMIKACINA
AM = AMPICILINA
NF = NITROFURANTOINA

CL = CLORANFENICOL
GE = GENTAMICINA
CF = CEFALOTINA

Estadísticamente se realizó un Análisis de Varianza de un Factor en donde se pueden observar las diferencias significativas que existen entre los antibióticos utilizados para las cepas Grampositivas y Gramnegativas.

Análisis de varianza de un factor para cepas Grampositivas

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
NF	12	126	10.5	43.1818182
CF	12	0	0	0
CRO	12	133	11.08333333	77.9015152
AM	12	0	0	0
SXT	12	215	17.91666667	7.71969697
CTX	12	75	6.25	45.2954545
NET	12	140	11.66666667	51.1515152
PEF	12	223	18.58333333	5.53787879
CB	12	0	0	0
GE	12	187	15.58333333	6.08333333
AK	12	151	12.58333333	38.4469697
CL	12	177	14.75	56.75

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6179.07639	11	561.734217	20.2994776	1.8938E-23	1.861867105
Dentro de los grupos	3652.75	132	27.6723485			
Total	9831.82639	143				

Análisis de varianza de un factor para cepas Gramnegativas

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
NF	12	126	10.5	43.1818182
CF	12	0	0	0
CRO	12	133	11.0833333	77.9015152
AM	12	0	0	0
SXT	12	215	17.9166667	7.71969697
CTX	12	75	6.25	45.2954545
NET	12	140	11.6666667	51.1515152
PEF	12	223	18.5833333	5.53787879
CB	12	0	0	0
GE	12	187	15.5833333	6.08333333
AK	12	151	12.5833333	38.4469697
CL	12	177	14.75	56.75

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	9165.876667	11	833.2615152	4.798143	8.6865E-07	1.821984341
Dentro de los grupos	50015.04	288	173.6633333			
Total	59180.91667	299				

DISCUSIÓN

Pacientes estudiados

Para el desarrollo de este trabajo se seleccionaron trece pacientes con infecciones de los conductos radiculares de la clínica de Endoperiodontología de la FES-Iztacala. Se ha reportado que la caries dental no tratada a tiempo, puede generar infecciones mas profundas que en determinado momento puede ocasionar la pérdida de la pieza dental⁸. Dicho padecimiento es causado por un proceso químico biológico caracterizado por la descalcificación progresiva y localizada de los tejidos duros de los dientes, la cual es iniciada por la desmineralización superficial provocada por los ácidos orgánicos, fundamentalmente el ácido láctico, el cual es producido por los microorganismos de la placa dentobacteriana, así como por la ingesta rica en carbohidratos fermentables (sacarosa), y se ha reconocido como principal microorganismo productor de ácido láctico al *Streptococcus mutans*. Si el proceso carioso no es detenido, llegará el momento en el cual existirá una franca exposición de la pulpa, permitiendo una gran penetración de bacterias, restos de dentina cariosa y productos de degradación, además de saliva, lo que favorece al crecimiento y proliferación de microorganismos³¹.

IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

Bacterias Grampositivas

En este estudio reportamos que a través del sistema de identificación API-STHAP aislamos la especie de *Staphylococcus aureus* en el 20% de los pacientes con infecciones de los conductos radiculares (Figura 3). Este porcentaje es parecido al reportado en un estudio realizado en Nigeria en donde se analizaron las muestras de 50 pacientes con infecciones de los conductos radiculares³⁰. En este trabajo se aisló a *Staphylococcus aureus* en el 13% de los pacientes y a *Micrococcus sp.* en el 2%. Se ha descrito que *Staphylococcus aureus* también se ha aislado de abscesos dentales. Por ejemplo, en un estudio realizado en 37 pacientes con abscesos dentales en Alemania, se aisló a esta especie en el 2.7% de los pacientes infectados³¹.

El hecho de que en nuestro trabajo la especie de *S. aureus* se aisló en el 20% de los pacientes (Figura 3), puede deberse probablemente a que esta bacteria es un patógeno de la nasofaringe. Un ejemplo, es el estudio realizado en 80 pacientes de la CUSI-Iztacala, en donde se realizaron cultivos nasales, se aisló a *S. aureus* en el 80% de los casos³². En otro estudio realizado en pacientes de la CUSI-I durante un período de 7 años, se aislaron 403 cepas de *S. aureus* de la nasofaringe, de un total de 1454 cepas bacterianas identificadas³³. Por otra parte, se realizaron exudados óticos a 34 niños que presentaban fuertes irritaciones y que habían estado anteriormente en tratamiento endoperiodontal debido a la presencia de caries, se aisló a *Staphylococcus aureus* en un 11%³⁴.

En este trabajo se reporto que *Staphylococcus xylosus* se aisló en el 16.25% de los pacientes infectados (Figura 3). En la Unidad de Endoperiodontología del Hospital General de México, se realizó un estudio, en el cual se analizaron las muestras de 4 pacientes con severas inflamaciones en la superficie periapical, se detectó que el agente causal fue *Staphylococcus xylosus*³⁵. Por otro lado en la Universidad de Oslo, Noruega, en pacientes con periodontitis, se logró identificar a *Staphylococcus xylosus* en un 5%³⁶.

En Australia en el 2002, se describieron los síntomas persistentes a efectos secundarios en infecciones de los canales radiculares, se encontró que *Staphylococcus xylosus* y *Staphylococcus epidermidis* fueron los agentes causantes de enfermedades gingivo-periodontales, después de un tratamiento clínico utilizando antimicrobianos³⁷.

En este estudio se reporta que *Staphylococcus epidermidis* se aisló en el 4.06% de los pacientes (Figura 3). La presencia de esta especie en los conductos radiculares, corrobora el estudio realizado en 1990, en donde se analizaron 45 canales radiculares de personas que habían padecido alguna enfermedad gingivo-periodontal, dichos canales habían sido obstruidos con Gutta-percha en un tratamiento para después realizar las curaciones pertinentes. Al cabo de 19 días post-tratamiento el 50 % de los canales se encontraba infectado por *Staphylococcus epidermidis* y después de 42 días se aisló *Proteus vulgaris*³⁸.

En este trabajo describimos que las especies *Staphylococcus lentus* 18.75% (Figura 3), *Staphylococcus capitis* 12.5% (Figura 3) y *Staphylococcus chromogenes* 6.25% (Figura 3) fueron aisladas de los conductos radiculares infectados o necróticos. Nuestros datos contrastan con los encontrados en un estudio realizado en Alemania, en 37 pacientes con

abscesos dentales ³¹, En donde se aislaron las especies de *Staphylococcus haemolyticus* (2.38%) y *Staphylococcus aureus* (1.19%). En otro estudio realizado en el Instituto de Salud Pública, de la Universidad de Oslo, Noruega, en pacientes con periodontitis, solamente se aislaron las especies de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus xylosus* y *Staphylococcus epidermidis*³⁶.

Bacterias Gramnegativas

En este estudio, reportamos que por medio del sistema de identificación API20-E, se identificó a *Enterobacter agglomerans* (33.3%), *Klebsiella ozaenae* y *Escherichia coli* (16.6%, en cada caso), *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Chryseromonas luteola*, *Acinetobacter sp.* y *Proteus mirabilis* (8.33%, en cada caso, Tabla 4). Tres de nuestras especies identificadas (*Klebsiella ozaenae*, *Escherichia coli* y *Klebsiella rhinoscleromatis*) coinciden con las encontradas en un estudio realizado en Nigeria, en donde se analizaron 50 pacientes con infecciones en los canales radiculares. En este trabajo el 17% de los pacientes infectados presentó *Klebsiella sp.* y 5% *Escherichia coli* ³⁰. En la Universidad de Oslo, Noruega se analizaron pacientes con periodontitis, y se aisló la especie de *Escherichia coli* y al género de *Acinetobacter sp.*³⁶. En Alemania se estudio a 37 pacientes con abscesos dentales, se aisló a la especie de *Klebsiella pneumoniae* ³¹. En otro estudio analizaron 45 canales radiculares de personas que habían padecido alguna enfermedad gingivo-periodontal, al cabo de 42 días post-tratamiento, los canales se encontraban infectados por *Proteus vulgaris*³⁸.

Candida albicans

En este trabajo se logró aislar e identificar a *Candida albicans* en un 6%. Este porcentaje es parecido al encontrado en el 2001 en donde se analizó el contenido de las muestras extraídas de 25 pacientes que presentaban infecciones en los canales radiculares, en el cual se identificó a *Candida albicans* en un 21% de los casos³⁹. En comparación con el estudio realizado en el área de geriatría del hospital de Irapuato, con 150 pacientes de entre 60 a 104 años de edad, se aisló a *Candida albicans* de la orofarínge con mayor frecuencia en pacientes entre 60 a 69 años⁴⁰.

Resistencia a antibióticos en cepas Grampositivas

En el presente estudio, se reporta que el total de las cepas de *S. aureus*, *S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. lentus*, *S. capitis* y *S. epidermidis* fue resistente a la Dicloxacilina (100%), Penicilina (85%) y al Trimetoprim sulfametoxazol (70%). (Figuras 4 a la 9). Este porcentaje de resistencia a penicilina es similar al reportado en distintas partes del mundo, en donde se ha reportado que la frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina es de alrededor del 80%⁴¹. Nuestros porcentajes de resistencia a estos antibióticos nos preocupan, debido a que se ha reportado que los antibióticos de primera elección para tratar las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* son Dicloxacilina y Penicilina⁴². En cuanto a Penicilina el resultado es parecido al encontrado en 1994, en donde se analizaron 69 cepas aisladas de pacientes con algún padecimiento bucal (46 fueron muestras clínicas y 23 de origen diferente a

éste), en el cual se encontró que la mayoría de las cepas fue resistente a la penicilina.

En 1992 se realizó un estudio, con cepas de *Staphylococcus sp* aisladas de muestras de 250 pacientes con infecciones orofaciales, encontrando que la mayoría de las cepas fue resistente a la Penicilina, la cual era considerada como uno de los antibióticos de primera elección por su gran actividad antimicrobiana, al igual que los inhibidores de β -lactamasas⁴³.

Los datos obtenidos (Figura 4), también son semejantes a los de un estudio realizado en 5 hospitales diferentes, las muestras fueron tomadas de la orofaringe de estudiantes universitarios. *Staphylococcus aureus* mostró una resistencia a la Penicilina de 86.2%. También fue resistente a la Eritromicina, Gentamicina y Kanamicina en un 42% (en cada uno de los casos). El 100% de las cepas aisladas fue sensible a la Vancomicina, Cefalotina y Clindamicina. Sin embargo nuestros datos difieren en cuanto a Eritromicina y Gentamicina ya que en este estudio se reportó que *Staphylococcus aureus* solo mostró resistencia del 10% para Gentamicina y Cefalotina, respectivamente, siendo sensible en un 100% para Eritromicina. En el 2001⁴⁴ en el estudio realizado, con 93 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la orofaringe, se encontró que la resistencia para la Gentamicina fue de 18.3% y para Cefalotina de 4.3%. Los resultados de nuestro trabajo son contrastantes en cuanto a la Ampicilina y al Trimetoprim sulfametoxazol (10% y 70%, para nuestras cepas, respectivamente), ya que en el mismo estudio la resistencia mostrada fue de 92.3% y 2.15%, respectivamente.

Por otro lado en un total de 493 muestras clínicas obtenidas de sangre, orina, y fosas nasales en un periodo de Mayo de 1997 a Agosto de 1998 en el Hospital Jimma de Etiopía, se aisló a *S. aureus* en un 84% del total de las

muestras. Es importante mencionar que el 95% de las cepas (58 cepas) fue resistente a Penicilina, 93% (57 cepas) a ampicilina, 72% (43 cepas) a la Tetraciclina y 49%.(30 cepas) a la estreptomomicina ⁴⁵. Nuestros datos solamente coinciden en cuanto a Penicilina (Figura 4).

En 1999 se determinó la susceptibilidad antibiótica de cepas de *Staphylococcus sp.* obtenidas de pacientes con conjuntivitis purulenta y queratitis supurativa. Las especies identificadas fueron sometidas a pruebas de susceptibilidad con antibióticos utilizados comúnmente, entre los que se encontraba Penicilina, Gentamicina, Tetraciclina, Eritromicina y Ciploxacilina. Las especies identificadas fueron: 42 cepas de *S. epidermidis*, 4 cepas de *S. warneri*, 3 cepas de *S. capitis*, 2 cepas de *S. hominis*, y *S. xylosum*, *S. simulans*, *S. equorum*, y *S. lugdunensis*, con una cepa para cada caso. Los resultados muestran que el 37% de las cepas identificadas fue resistente a la Penicilina, 12% a la Gentamicina, 28% a la Tetraciclina, 18% a la Eritromicina y 4% a la Ciploxacilina. En total el 16% de las cepas fue resistente a 3 antibióticos ⁴⁶. IZT.

En el estudio realizado en el 2001 en donde se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana a Tetraciclina, Cefalotina, eritromicina, penicilina y Ampicilina, de 120 cepas de *Staphylococcus sp.* coagulasa-negativa (*Staphylococcus epidermidis* 21.6%, *S. haemolyticus* 40%, *S. saprophyticus* 33.4%, y *S. simulans* 5%). En este trabajo se encontró que la mayoría de las especies fue resistente a penicilina y ampicilina. La resistencia a penicilina reportada por estos autores es parecida a la reportada en nuestro estudio, sin embargo es diferente para ampicilina (Figura. 9) ⁴⁷.

Resistencia a antibióticos de cepas Gramnegativas

En el presente estudio nosotros reportamos que las cepas de *Enterobacter agglomerans*, *E.coli*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinocleromatis*, *Acinetobacter sp.*, *Chryseromonas luteola* y *Proteus mirabilis* fueron resistentes en un 100% a la Ampicilina, Cefalotina y Carbenicilina. Nuestros datos son semejantes a los reportados en un estudio con pacientes del Hospital de Jimma en Etiopía en donde se analizaron 413 muestras clínicas de pus, sangre, orina y esputo. De las cuales 124 muestras presentaron una o más bacterias. La frecuencia de aislamientos fue *Proteus sp.* 27%, *Klebsiella sp.* 21%, *Enterobacter sp.*19%, y *E. coli* 19%. Los resultados de la actividad antimicrobiana mostraron que *E. coli*, *Klebsiella*, y *Enterobacter sp.* fueron resistentes a Ampicilina en un 100%. El 92% de *Enterobacter sp.*, 85% de *Klebsiella sp.* y 79% de *E. coli* fue resistente a Tetraciclina. En general estas bacterias presentaron una multiresistencia a los antimicrobianos comúnmente utilizados como Ampicilina, Tetraciclina, Cloranfenicol, y Trimetoprim sulfametoxazol ⁴⁸. Sin embargo en nuestro estudio el 50% de nuestras cepas de *Enterobacter agglomerans* mostró resistencia al Cloranfenicol y para el caso del Trimetoprim sulfametoxazol fue sensible en un 100%. En otro estudio realizado para comparar la actividad antimicrobiana de 13 antibióticos beta-lactámicos de 868 aislados clínicos se encontró que el principal patógeno fue *Enterobacter sp.* Al cual después de probar su actividad antimicrobiana fue susceptible a la Cefotaxima, Ceftriaxona y Cefalotina entre otros ⁴⁹. Nuestro resultado es contrastante en cuanto a la Cefalotina ya que en nuestro estudio *Enterobacter agglomerans* mostró un resistencia del 100%. (Figura12)

Llama la atención que en nuestro estudio *Klebsiella ozaenae* y *Klebsiella rhinoscleromatis* fueron resistentes a Cefalotina, Ampicilina y Carbenicilina en un 100% (Figuras 11 y 12). Sin embargo el total de las cepas obtenidas fueron sensibles a Amikacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Gentamicina, Nitrofurantoína, Trimetoprim sulfametoxazol y Pefloxacina, por lo que se dispone de al menos 6 antibióticos eficaces para el tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos.

Cabe mencionar que *Escherichia coli* mostró el mismo comportamiento que *Klebsiella ozaenae* y *Klebsiella rhinoscleromatis* en cuanto a antibióticos se refiere. Para *E. Coli*. nuestros resultados son semejantes con los obtenidos en 1999 en donde se analizaron las muestras de pacientes con infecciones urinarias de 11 hospitales diferentes. El 74% de las cepas identificadas perteneció a *E coli* y el 65% de las mismas fue resistente a ampicilina, 11% a Cefalotina, 2.5% a Cefuroxima, 19% a Ceftriaxona, 9% a Cefotaxima, 4.2% a gentamicina 1.3% a Amikacina, 5.6% Ciprofloxacina, 4.3% a Nitrofurantoína y 4.3% a Trimetoprim sulfametoxazol⁵⁰. En nuestro estudio *E. Coli*, mostró una sensibilidad del 100% para Nitrofurantoína y Trimetoprim sulfametoxazol.

Para *Proteus mirabilis* en donde si bien esta especie no es muy común aislarla en infecciones bucales se relaciona principalmente con infecciones del tracto urinario en el cual se ha descrito que tiene una resistencia del 90-95% a estos antibióticos. Siendo sensible a la Nitrofurantoína la cual en nuestro estudio también mostró una sensibilidad del 100%.

En cuanto a *Acinetobacter sp.* en nuestro estudio las cepas fueron resistentes al 100% a Cefalotina, Ampicilina, Carbenicilina, Amikacina, Nitrofurantoína y Netilmicina (Figura 14). Estos resultados coinciden con lo mencionado en 1999 ⁵¹, ya que casi siempre son resistentes a los antimicrobianos y la terapéutica de infección puede ser difícil. También esta especie responde con mayor frecuencia a gentamicina, Amikacina y penicilinas o Cefalosporinas más recientes. En nuestro estudio *Acinetobacter sp.* no mostró ninguna resistencia a la Gentamicina y Cefotaxima confirmando lo antes mencionado sin embargo para la Amikacina los datos difieren ya que nosotros reportamos una resistencia del 100%.

Candida albicans

Para esta especie se describe la susceptibilidad que tiene a ciertos antimicóticos como por ejemplo se han reportado infecciones por *Candida albicans* resistentes al tratamiento con fluconazol en enfermos de SIDA ⁵². En otro estudio de 100 cepas de *Candida albicans* aisladas de la cavidad oral de enfermos de SIDA 50 de ellas fueron resistentes al fluconazol ⁵³ en tanto que de 348 cepas aisladas en Inglaterra 17.5% fueron resistentes al mismo antimicótico, 3.4% fueron resistentes a flucitosina y 4% a anfotericina B ⁵⁴. Es frecuente que las cepas de *Candida albicans* resistentes a un antimicótico se aislen de pacientes que han sido tratados repetidamente o de forma continua con ese fármaco ⁵⁵, sin embargo existen reportes de cepas aisladas de pacientes que nunca han recibido tratamiento con algún tipo de antimicótico ⁵⁶.

CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, podemos concluir que *Staphylococcus aureus* se caracterizó como el principal patógeno de los conductos radiculares infectados o necróticos en los pacientes de la Clínica de Endoperiodontología.

- En este trabajo *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella rhinoscleromatis* *Enterobacter agglomerans*, y *E. Coli* se encontraron asociadas en los procesos infecciosos de los conductos radiculares de los pacientes analizados.

- La mayoría de las especies Grampositivas y Gramnegativas aisladas de las infecciones radiculares, fueron resistentes a los principales antibióticos de elección.

- Los datos obtenidos en este trabajo evidenciaron la importancia de aislar e identificar el agente causal de las infecciones radiculares, con el propósito de prescribir adecuadamente el antimicrobiano más eficaz.

- Existe una estrecha relación entre las enfermedades endodónticas y periodontales debido a que si bien no existe un proceso infeccioso visible algunos microorganismos penetran por medio de los canales laterales ocasionando enfermedades en la pulpa.

BIBLIOGRAFÍA

1. La microbiología bucal. Florín Torres, Sylvia Ximena. 1983. Pág.85
2. Divo A. 1990. Microbiología Médica. Ed. Interamericana. 4a. Edición. México.
3. Lindhe, J. 1986. Periodontología Clínica. Ed. Panamericana. Buenos Aires. pp. 59-114.
4. Carranza, F. A. 1988. Manual de Periodontología Clínica. Ed. McGrawHill. México. pp.1-42.
5. Ainamo, J., and Löe, H.1966. Anatomical characteristics of gingival. A Clinical and microscopic study of the free and attached gingival. Journal of Periodont., 37:5.
6. Valderhaug, J. P., and Nylen, M. U.1966: Function of epithelial rests as suggested by their ultrastructure. Journal of Periodont, Res., 1:69
7. Hoover, D.R., and Lefkowitz, W.1965. Fluctuation in marginal gingivitis. Journal of Periodontol. 36:310.
8. Burnett, W. G.1986. Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la boca. Ed. Limusa. México.
9. Lasala A. 1979. Endodoncia. 3era ed. Salvat. Barcelona. pp 103-107.
10. Buckley JP. 1905. The chemistry of pulp decomposition, with a rational treatment for this condition, and this sequelae. Dent Cosmos. 47:223.
11. Gómez Valencia, Ma. Sara. 1976. Enfermedades parasitarias e infecciosas de la cavidad bucal. 281 pp.

12. MacDonald JB, Socransky SS, Gibbons RJ. 1963. Aspects of the pathogenesis of mixed anaerobic infections of mucous membranes. *Journal Dent Res* 42:529.
13. Toral Cruz, María del Rocío. 1983. *Bacteriología en endodoncia*. 59 pp.
14. Sciaky I, Sulitzeanu A. 1961. The bacterial flora of diseased pulp. *Journal Dent Med* . 16:185
15. Sakehasi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. 1965. The effects of surgical exposures on dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats *Oral Surg* . 20:340.
16. Bartels H, Naidorf I, Blechman H. 1968. A study of some factors associated with endodontics . *Oral Surg*. 25:255.
17. Morse DR. 1981. Endodontic microbiology in the 1970s *Int Endod J*. 14:69
18. Espina Rivera P, Salinas Milos Y, Silva Steffens N, Esguep Sarah A. 1997. *Actinomyces y Candida albicans* en lesiones periapicales. *Medicina Oral*. 2:70-4.
19. Irigoyen E.; Velázquez C.; Zepeda M.; Mejía A.; 1999. Caries dental y enfermedad periodontal en un grupo de personas de 60 o más años de edad de la Ciudad de México. *Revista ADM*; 56(2): 64-69.
20. Taboada AO, Mendoza NVM, Hernández PD, Martínez ZIA. 2000. Prevalencia de caries dental en un grupo de pacientes de la tercera edad. *Revista ADM*; 57 (5): 188-192.
21. Larz . S.W. Spangberg. D:D:S.:Ph. D: *Experimental Endodontics* 1990 Charper 6: 139
22. Camling and Kohler P. 1987. Infection with the bacterium *Streptococcus*. *Arch of Oral Biol*. Vol 32.No. 11: 817 -823

23. Dahlén G, Bergenholtz G. 1980, Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J Dent Res* 59: 1033 -40.
24. Paul A. Farber, DDS, and Samuel Seltzer, DDS, 1988 Endodontic Microbiology. I. Etiology *Journal of Endodontics* p: 363 – 371
25. Abraham, E.P.; E. Chain; C.M., Fletcher; H.W., Florey; A.D. Gardener; N.G. Heatley & M.A. Jennings, 1941. Further observations on penicillin. *Lancet* 2: 177-188.
26. Murray, R. , Kilham, L. , Wilcox, C.& Finland, M. 1964. Development of streptomycin resistance of Gram-negative bacilli in vitro and during treatment. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 53:470-474.
27. Bryan, L.E. 1980. Mechanisms of Plasmid mediated Drug Resistance. En: Stuttard, C. and K.R. (eds) "Plasmids and Transposons: Environmental effects and Maintenance Mechanisms". Academic Press, New York, pp.57-81.
28. Amábile Cuevas, C.F. 1988. La resistencia bacteriana a los antibióticos *Ciencia y Desarrollo*. núm. 80. CONACYT. Año XIV: 57-68.
29. Bauer, A. W.; W.M. Kirby; J.C. Sherris. & M. Turk. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
30. D Ufomata, J O Akerele. 1992. Bacteriological investigation of infected root canals in Benin City, Nigeria. *West African Journal Medicine*, 11(3):195-198 .
31. Sobottka, I; Cachovan , G.; Stürenburg, E.; Ahlers, O.; Laufs, R.; Platzer, U.; and Dietrich M. 2002. In Vitro Activity of Moxifloxacin

against Bacteria Isolated from Odontogenic Abscesses. Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.46:4019-4021.

32. Paniagua, G.; Monroy, E.; García, O.; & Vaca, S. 1998. Effect of Beta-lactamase Inhibitors on Minimum Inhibitory Concentration of Ampicillin and Amoxicillin for *Staphylococcus aureus* strains. Rev Latin Microbiol 40:128-134.

33. Jiménez, M, 1996. Patrones de Resistencia a Antibióticos de Bacterias aisladas de pacientes de la Clínica Universitaria Iztacala durante 7 años. Tesis Profesional. Licenciatura. UNAM Iztacala.

34. G Mogi.1988. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in otitis media with effusion. Archives of otolaryngology head & neck surgery. 114(11):1262-1265.

35. Carrillo ER, Téllez MMA, Salinas RS . 2000. *Staphylococcus xylosum*: Una bacteria emergente Rev. Med. Hosp. Gen Mex.; 63 (2): 107-111.

36. Trude, H.; Caugant, D.S; and Olsen, I. 2003. Antibiotic Resistance in Bacteria Isolate from Subgingival Plaque in a Norwegian Population with Refractory Marginal Periodontitis. Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.47:1443-1446.

37. Siqueira JF , Lima KC .2002.*Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus xylosum* in a secondary root canal infection with persistent symptoms: a case report.. Australian endodontic journal , 28(2):61-63.

38. M Torabinejad, B Ung, J D Kettering.1990. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth . 16(12):566-569.

39. J C Baumgartner, C M Watts, T Xia. 2001. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. Journal of Endodontics, 26(12):695-698.
40. Campos BA, Ovalle CW.1999.Prevalencia de *Candida* bucal en pacientes geriátricos Revista ADM; 56 (5): 230-233.
41. O'Brien, T.F an The Intenational Survey of Antibiotic Resistance Group,1986.Resistance to antibiotic at medical centers in different parts of the world. J. Antimicrob. Chemother 18(Suppl.C.):243-253.
42. Ehrenkranz, N.J. 1984. Enfermedades por estafilococos. En: Kagan, B.M. Tratamiento con antimicrobianos 3. Ed. Interamericana. México. 209-217.
43. Aparicio G, Paz-Ramírez M, Ribas-Aparicio RM, Giono-Cerezo S, Rivera E. 1994. Resistencia a antibióticos por *Staphylococcus aureus* de origen diverso y su utilidad en la tipificación de cepas. Rev LA-Bacta; 6(2): 47-52.
44. Navarro-Navarro M, Cardoza-Amador JI, Rendón-Ibarra CA, Rivera-Castañeda EG. Resistencia a los antibióticos en cepas comunitarias y hospitalarias de *Staphylococcus aureus*. Bol Clin Hosp Infant Edo Son ; 18(1): 9-13.
45. Tenssay, Z. W. 2000. *Staphylococci* :Frecuency of solations and antibiotic susceptibility patterns in Jimma Hospital-West Ethipia . Ethiopian Medical Association , 38(3):175-184.
46. A Pinna, S Zanetti, M Sotgiu, F Carta .1999.Identification and antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated in corneal/external infections . Brithish Journal of Ofthalmology, 83(7):771-773.

47. Barberis IL, Pájaro MC, Godino SD, Pascual L. 2001. Sensibilidad antimicrobiana y estudio de adherencia en cepas de *Staphylococcus* spp coagulasa-negativas Rev. Latinoam. Microbiol. 43 (3): 109-113.
48. Tenssaie. 2001. Multiple antimicrobial resistance in gram negative bacillo isolated from clinical specimens. Jimma Hospital, south-west Ethiopia .Ethiopian Medical Association . 39(4):305-312.
49. H L Muytjens, J van der Ros-van de Repe. Comparative activities of 13 beta-lactam antibiotico. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 21 (6):925- 934.
50. F Valdivieso, O Trucco, M C DAaz, A Ojeda .1999. Antimicrobial resistance of agents causing urinary tract infections in 11 Chilean hospitals Sociedad Medica de Santiago. PRONARES project , 127 (9):1033-1040.
51. Jawetz, Melnick y Adelberg.199. Microbiología Médica. México. Manual Moderno.16 edic. 287-288.