

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO – ESCUELA DE GRADUADOS

BIOFILM ENDODÓNTICO

Actualidad y Manejo

Clínico

Una Revisión Bibliográfica

Dra. INGRID MARCELA RUALES ORDOÑEZ

Monografía para la obtención del título de Especialista en
Endodencia

VALPARAÍSO – CHILE
2009

AGRADECIMIENTOS

DR. EDUARDO SANTAMARÍA M.
Por su guía e invaluable aporte

DR. GASTÓN ZAMORA
Por su motivación y apoyo incondicional

DR. LUIS CHÁVEZ DE PAZ
Por ser motivo de inspiración

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
I GENERALIDADES DEL BIOFILM	2
II PRINCIPALES MICROORGANISMOS DEL BIOFILM ENDODÓNTICO	5
<i>BACTERIAS COMÚNMENTE AISLADAS EN PULPAS NECRÓTICAS Y LESIONES APICALES</i>	<i>7</i>
<i>Bacterias Anaerobias Estrictas</i>	<i>7</i>
<i>Bacterias Anaerobias Facultativas</i>	<i>8</i>
III INFECCIONES PRIMARIAS	9
IV INFECCIONES REFRACTARIAS AL TRATAMIENTO	12
V FACTORES DE VIRULENCIA	15
<i>Cápsula</i>	<i>16</i>
<i>Adherencia</i>	<i>17</i>
<i>Invasión</i>	<i>20</i>
<i>Toxinas</i>	<i>23</i>
<i>Factores Exógenos</i>	<i>25</i>
VI MECANISMOS DE RESISTENCIA	26
VII DIAGNÓSTICO DE BIOFILM ENDODÓNTICO	30
VIII ACTUALIDAD Y BIOFILM ENDODÓNTICO	32

VIII PLAN DE TRATAMIENTO DE DIENTES CON POSIBLE BIOFILM ENDODÓNTICO	34
IX PREPARACIÓN BIOMECÁNICA Y BIOFILM ENDODÓNTICO	39
<i>PREPARACIÓN BIOMECÁNICA VERSUS BIOFILM ENDODÓNTICO</i>	43
<i>IRRIGACIÓN INTRA-CONDUCTO VERSUS BIOFILM ENDODÓNTICO</i>	45
X MEDICACIÓN INTRA-CONDUCTO Y BIOFILM ENDODÓNTICO	48
DISCUSIÓN	52
BIBLIOGRAFÍA	57

INTRODUCCIÓN

Existe la teoría fuertemente estudiada que el fracaso en el tratamiento endodóntico de lesiones primarias y refractarias está relacionado directamente con la presencia de un Biofilm bacteriano incorrectamente tratado ya sea por motivos mecánicos, químicos o anatómicos.

También se ha discutido y demostrado la presencia de un Biofilm bacteriano que recorre el conducto radicular para estabilizarse en las zonas peri-radicales haciendo imposible su erradicación por métodos convencionales de tratamiento. Diferentes investigaciones han podido aclarar qué es y cómo se forma el Biofilm Bacteriano.

Biofilm es una estructura tridimensional similar a una o más comunidades de células bacterianas reunidas, incluidas en una matriz polimérica autosustentable, adheridas entre sí y/o a una superficie sólida e interface.

Su revisión, su estudio y su erradicación, es el motivo de esta Monografía.

BIOFILM ENDODÓNTICO: Actualidad y Manejo Clínico (Una Revisión Bibliográfica)

"El arte de la guerra consiste en ordenar las fuerzas"

Jacques Anatole

"...y entonces ellos se organizaron en fortalezas secretas que se conectaban por diminutos túneles, por medio de ellos compartían los ánimos para seguir, además de la comida y los escritos prohibidos..."

Manuela Jordá (Vida y obra de la guerra)

Diferentes investigaciones han podido aclarar qué es y cómo se forma el Biofilm Bacteriano. Godoy J., 2007, basado en estudios de Darveau R. y Costerton JW., 2000, define el Biofilm como una estructura tridimensional similar a una comunidad de células bacterianas (una o más comunidades juntas), incluida en una matriz polimérica autosustentable, compuesta principalmente de glicocalix, adherida entre sí y/o a una superficie sólida e interface (30). **Figura 1**

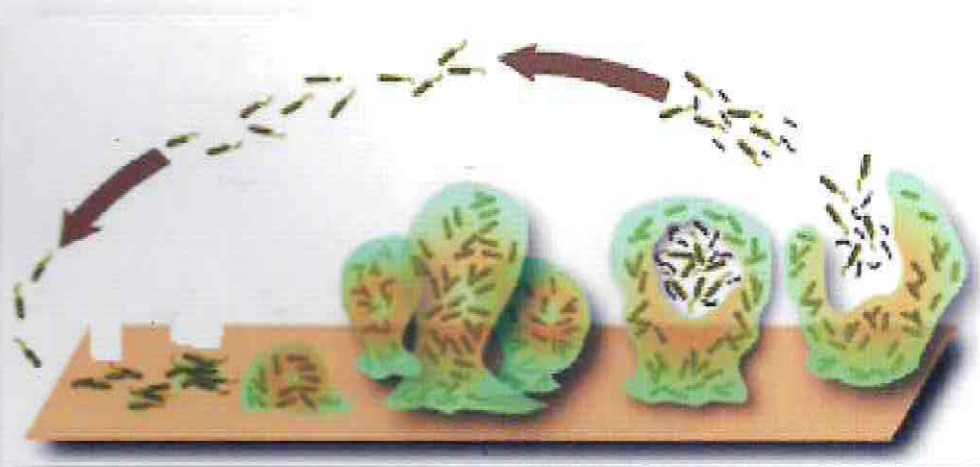


Figura 1. Esquema de formación de un Biofilm bacteriano. Tomado de: *Importancia de los Biofilm en la inocuidad de alimentos. Publicado por Álvaro Figueroa, Mayo de 2009*

El término de Biofilm fue elegido para diferenciar la organización de bacterias, hongos y protozoos de los microorganismos planctónicos libres en un ambiente acuoso (95), bacterias indispensables en la formación de Biofilms. En contextos estomatológicos es estudiado y conocido que la estructura del Biofilm se establece durante el acceso de las bacterias para formar la placa bacteriana sobre los dientes. La bacteria libre en la saliva (organismo planctónico) sirve como la principal fuente de organización del Biofilm. La excreción de sustancias adhesivas como polisacáridos y proteínas son esenciales para el acceso de otros microorganismos así como para mantener a las bacterias unidas al Biofilm. La estructura en sí entonces proporcionará la protección y puede permitir una mejor resistencia a influencias adversas externas para los organismos incorporados en comparación con el estado de planctónico. (95, 46). **Figura 2**

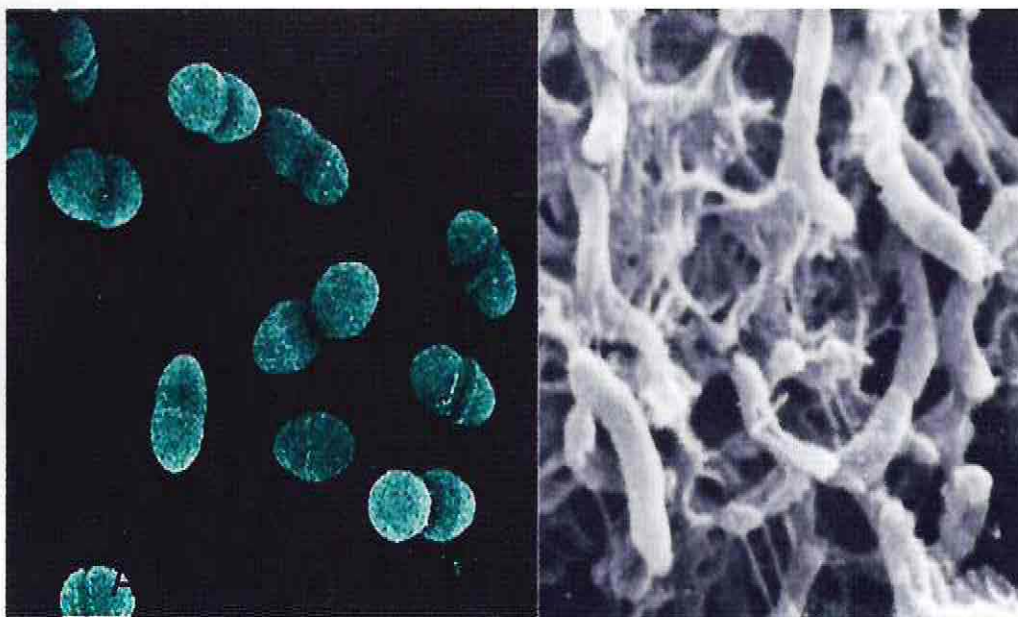


Figura 2. A. Bacterias en su forma planctónica. B. Bacterias en forma de Biofilm. Tomado de: *Microbiología. Noticias de actualidad científica. Chávez F. 2009.*

Los conductos radiculares infectados y el espacio periapical, cuentan con las características propias de un ambiente propicio para la formación de Biofilms. Microorganismos (bacterias, hongos, etc.), sustancias ricas en proteínas y nutrientes, superficies rígidas e irregulares, son algunas de estas características.

Duggan J. M, 2007, (24) en su estudio sobre la formación de Biofilm endodóntico concluye al igual que otros autores que el Biofilm tiene forma de micro-colonias unidas por canales separados del medio externo y por el cual se hace el intercambio de fluidos. Las células que se encuentran más profundamente en el Biofilm son expuestas a condiciones ambientales diferentes a las de la superficie, incluyendo la disminución en la tensión de oxígeno. Esto genera fenotipos

cambiados en términos de crecimiento y transcripción genética que podrían beneficiar las características de supervivencia y virulencia. Lo anterior y el metabolismo lento de los microorganismos, hace que se dificulte el acceso de medicamentos intra-conducto y antibióticos vía sistémica (24)

En un sentido general, la formación de Biofilm sigue algunas etapas ya establecidas:

- Adsorción de proteínas y formación de condiciones propicias,
- Formación de una bio-película.
- Adhesión de microorganismos a la bio-película y
- Co-adhesión de microorganismos.

Con el tiempo se presentan cambios metabólicos en los microorganismos y cambios en el ambiente.

De esta estructura pueden salir bacterias a colonizar nuevos lugares. **Figura 3**

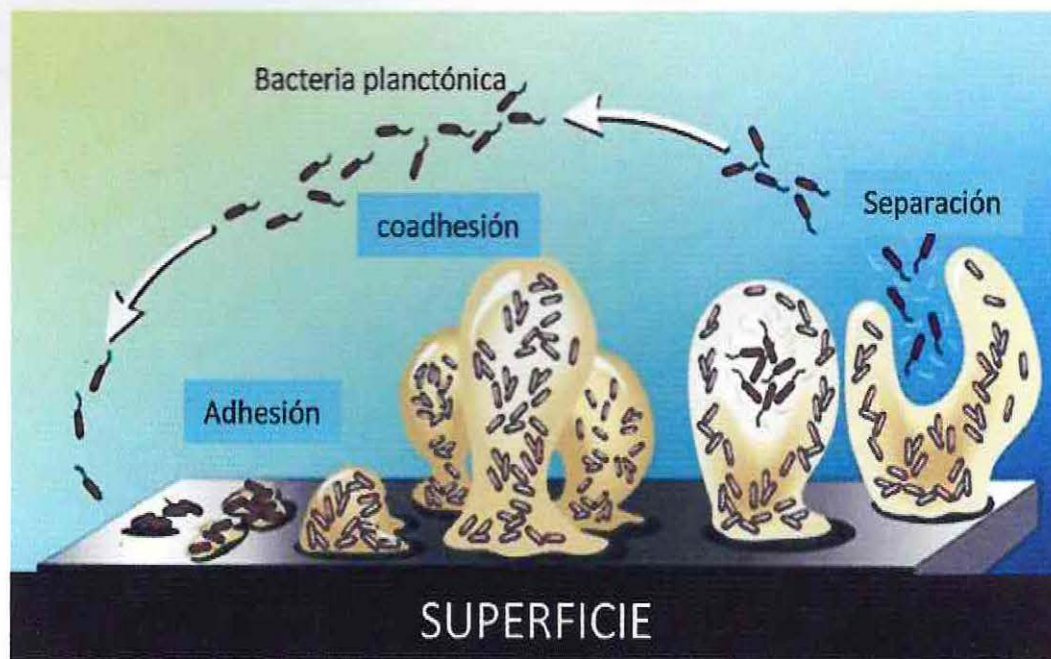


Figura 3. Esquema de formación de Biofilm Bacteriano. Tomado de: *Importancia de los Biofilm en la inocuidad de alimentos.* Publicado por Álvaro Figueroa, Mayo de 2009

PRINCIPALES MICRORGANISMOS DEL BIOFILM ENDODÓNTICO

El *Enterococcus Faecallis* es considerado uno de los principales microorganismos colonizadores del Biofilm endodóntico por su capacidad de adherirse a la dentina (24) y por su resistencia a la medicación intraconducto. Kishen A., 2008, (44) afirmó que la capacidad de permanencia de *E. Faecallis* después de la limpieza del conducto se debe a su capacidad de inducir uno nuevo a partir de la precipitación de uno maduro. **Figura 4**

Las infecciones endodónticas actualmente se sabe que son de característica poli-microbiana (14), es decir, que se encuentran diferentes especies microbianas en un mismo proceso infeccioso. **Figuras 5 y 6.**

En el año 2007 Chávez de Paz L.E, (14) redefinió la persistencia de infecciones en el conducto radicular, analizando el posible papel del Biofilm.

Observa cómo organismos asociados a una enfermedad pueden estar presentes en sitios sanos, pero en niveles bajos como para representar una amenaza (14, 78). Es decir que debe existir además de un agente infeccioso, un ambiente propicio y un huésped susceptible (112).

Se expone también como el estudio del *E. Faecallis* permite conocer la existencia de otros organismos con características de resistencia similares que forman una comunidad poli-microbiana persistente.

El *E. Faecallis* como cepa colonizadora en estudios *in vitro* o como motivo de análisis y aislamiento en estudios *in vivo* ha sido ampliamente estudiado por diferentes autores y desde diferentes enfoques.

El *E. Faecallis* es considerado un patógeno oportunista, una de las principales causas de infección nosocomial y un microorganismo frecuentemente aislado en conductos que fracasan después del retratamiento de conductos. A nivel cardíaco, se han descrito características del *E. Faecallis* que lo hacen ser resistente y persistente.

Esto puede ser atribuido a rasgos como la producción de gelatinasa, determinante en la adhesión y se asocia con la formación de Biofilm más grueso.

Estas mismas características se han visto en los aislados a nivel endodóntico. (24)

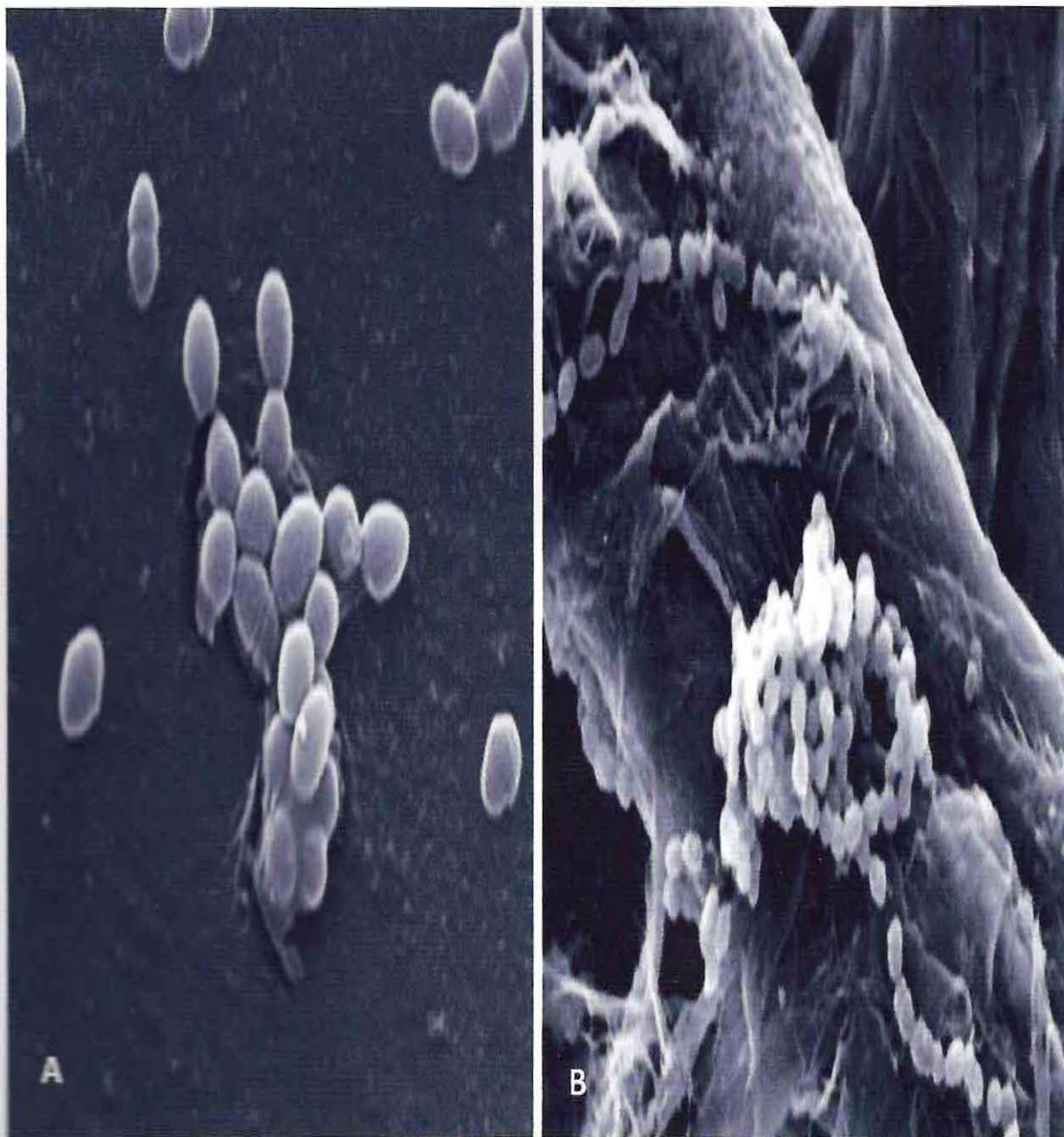


Figura 4. A) *E. Faecallis*. B) *E. Faecallis*. Tomado de: *Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Nanoparticulates*. *JOE*, Volumen 34, Número 12, Diciembre. 2008

BACTERIAS COMÚNMENTE AISLADAS EN PULPAS NECRÓTICAS Y LESIONES APICALES.

BACTERIAS ANAEROBIAS ESTRICTAS

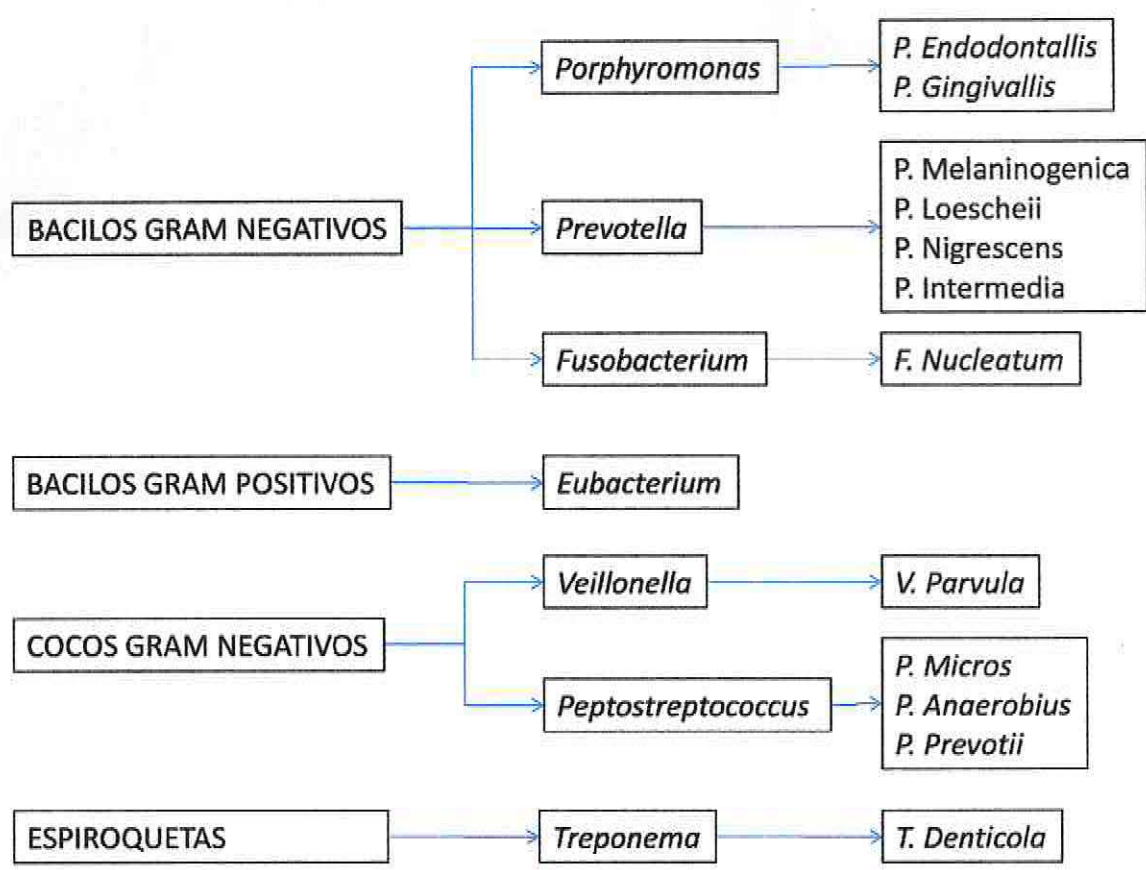


Figura 5. Tomado de: *Microbiología Oral. Capítulo 56. Microbiología de los procesos endodónticos.* Meléndez M. y cols. 2007

BACTERIAS ANAEROBIAS FACULTATIVAS

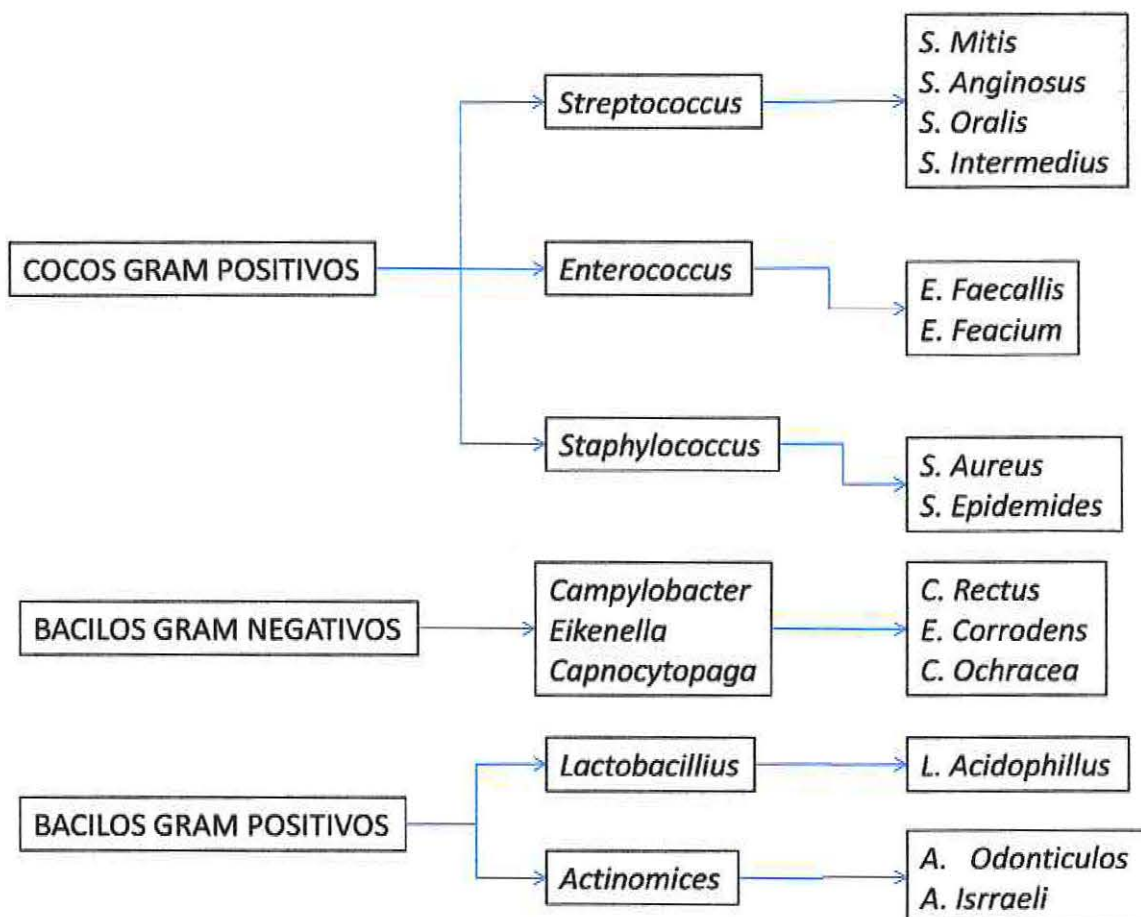


Figura 6. Tomado de: *Microbiología Oral, Capítulo 56. Microbiología de los procesos endodónticos.* Meléndez M. y cols. 2007

INFECCIONES PRIMARIAS

El conducto radicular posee particulares características durante los procesos infecciosos. Éste puede contaminarse por diferentes vías de invasión bacteriana: caries, túbulos dentinarios, fallas en el sellado marginal, infección periodontal (110).

El avance bacteriano a lo largo del conducto radicular y producto de la división microbiológica, puede invadir en un periodo de 90 días todo el conducto radicular (110, 111). Se ha descrito que un patógeno tiene requerimientos esenciales para su crecimiento y colonización como humedad, pH entre 6.7 y 7.5, temperatura de 37°C, entre otros. (109)

La introducción de métodos moleculares para el diagnóstico y la identificación de microorganismos han permitido identificar el tipo de bacterias predominantes en infecciones endodónticas primarias (66). Están asociadas con micro-flora mixta predominantemente bacterias anaerobias como *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, y *Prevotella* (93).

Actualmente con el uso de técnicas de hibridación para la identificación por medio del ADN bacteriano se han identificado algunas bacterias subestimadas como *Treponema spp.* (78), *Filifactor alocis* (79), *Tannerella forsythia* (32), y *Enterococcus Faecallis* (70).

Un grupo de investigadores encabezados por la Dra. Sassone L.M., 2008, (66) evaluaron la composición de la micro-biota de infecciones endodónticas primarias, asociando dientes sintomáticos y asintomáticos usando métodos de cultivo microbiológicos para diagnóstico. Encontraron que en casos sintomáticos, el predominio bacteriológico estaba dado por *Fusobacterium Nucleatum ssp. vincentii*, *Veillonella párvula*, *Treponema Socranskii*, *E. Faecallis*, *Campylobacter Gracilis*, *Neisseria mucosa*, y *Eubacterium Saburreum*. Y para los procesos asintomáticos los niveles más altos eran de *F. Nucleatum ssp. Vincentii*, *F. Nucleatum ssp. Nucleatum*, *E. Faecallis*, *E. Saburreum*, *N. Mucosa*, y *Peptostreptococcus Micros*. **Figuras 7 y 8**

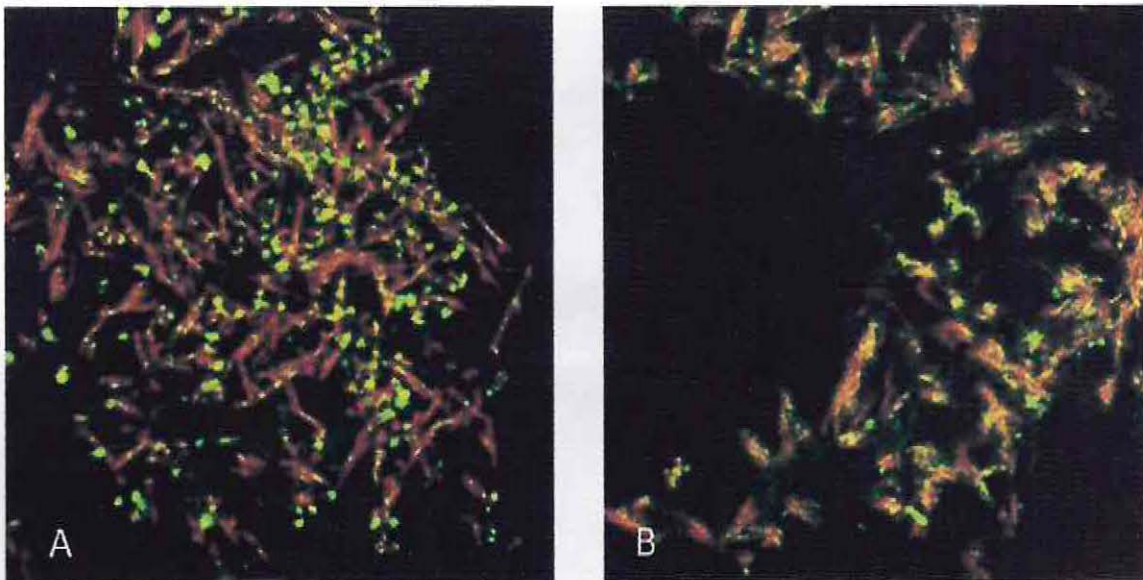


Figura 7. Co-agregación y auto-agregación bacteriana en infecciones endodónticas primarias. (magnificación a 2700X). (A) Co-agregación entre *F. Nucleatum* (rojo) y *P. Melaninogenica* (verde). (B) Co-agregación entre *F. Nucleatum* (rojo) y *S. Hemolyticus* (verde). Tomado de: *Autoaggregation and Coaggregation of bacteria Associated with Acute Endodontic Infections. JOE—Volumen 32, Número 4, Abril 2006.*

Algunos estudios (80, 81) han enfocado su objetivo en encontrar relaciones entre los signos y síntomas como el dolor y la presencia de microorganismos asociados.

Sassone L.M., 2007, concluyó que la presencia de bacterias era mayor en los casos sintomáticos que en los asintomáticos (67).

Jung I.Y. y col., 2001, (40) sugirieron que el grado de severidad de una infección endodóntica está relacionado no simplemente con la presencia de patógenos, sino también con el número de aquellos organismos con el sitio infectado.

Es así como las infecciones endodónticas primarias se componen de una flora patógena mixta que puede pasar tanto por periodos agudos como crónicos y que puede tener su etiología de diferentes vías ya descritas.

Un conducto radicular con una infección primaria que ha sido tratado endodónticamente puede culminar en el éxito del tratamiento, definido como la detención y eliminación del proceso infeccioso y el sellado hermético que evite la re-colonización bacteriana. Sin embargo, es común encontrarse con procesos que no ceden ante el tratamiento convencional y en los cuales persiste la presencia de patógenos activos; es entonces cuando nos encontramos con las denominadas **infecciones refractarias**. (54, 108)

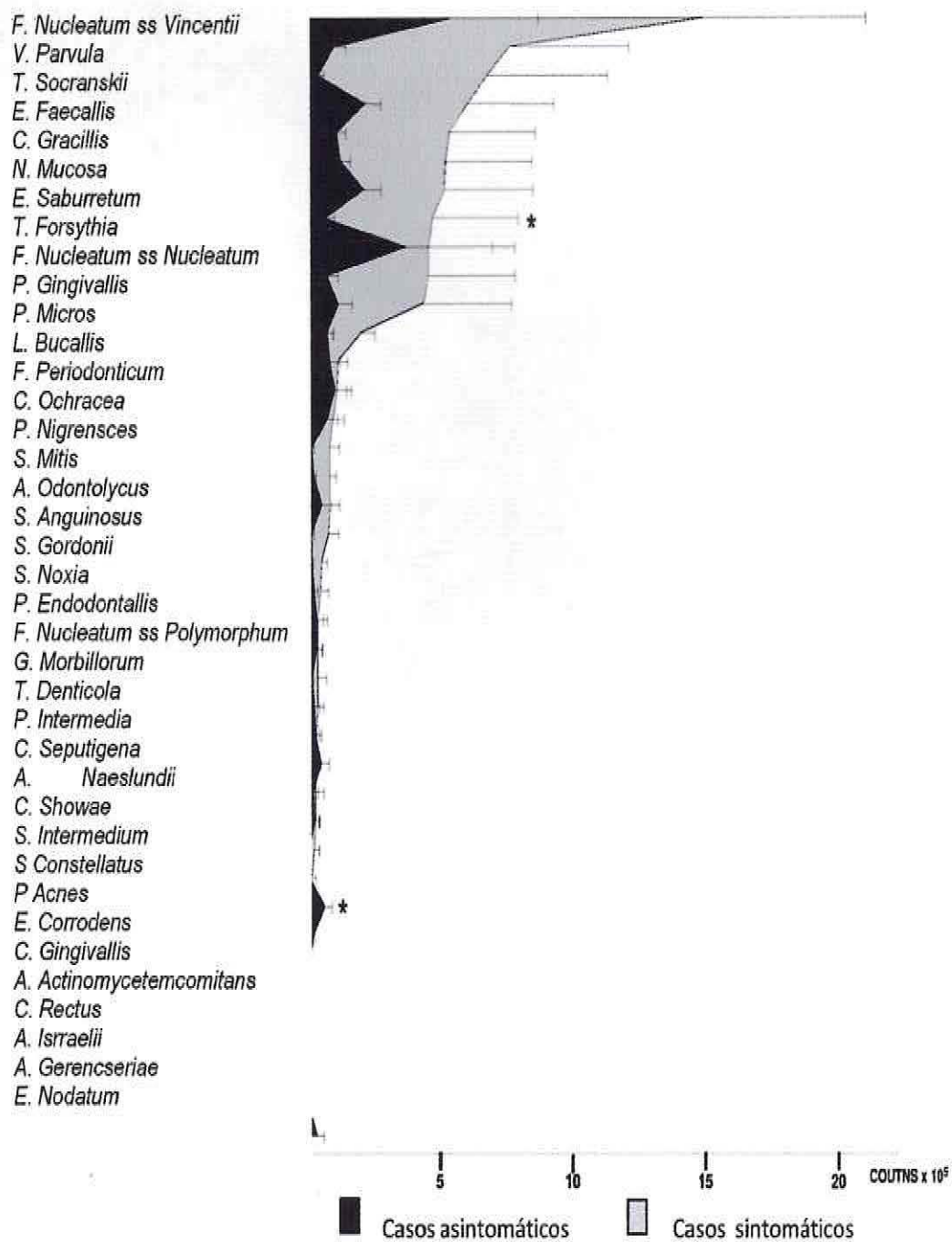


Figura 8. Esquema de la presencia de bacterias relacionadas con la sintomatología clínica.

Tomado de: *A Microbiological Profile of Symptomatic Teeth with Primary Endodontic Infections. JOE — Volumen 34, Numero 5, Mayo 2008*

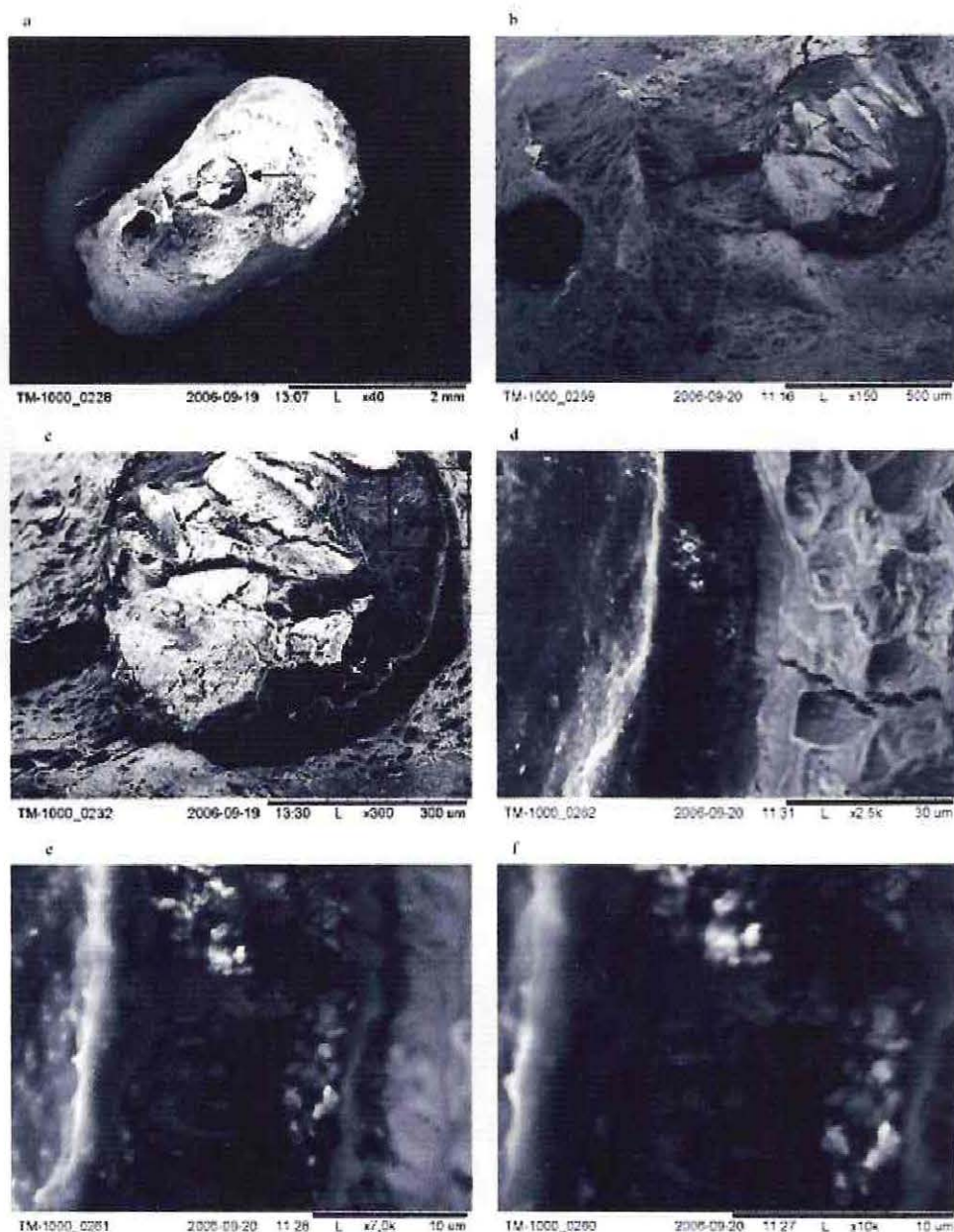


Figura 10. Se observa bajo el microscopio electrónico, un ápice tratado endodónticamente asociado con infección crónica. La amplificación (a) 40X muestra el conducto radicular principal obturado con gutapercha (flecha). Las amplificaciones de 150X en (b) y 300X en (c) muestran un espacio entre la gutapercha y la pared del conducto, una sección es marcada en (c) para una amplificación mayor. Las imágenes (d), (e), (y f) muestran la sección marcada en amplificaciones de 2500X, 7000X, y 10000 X, respectivamente. Se observa acumulaciones de células bacterianas adheridas en la interfase entre la gutapercha y la pared del conducto.

Tomado de: *Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities*. JOE—Volumen 33, Número 6, Junio 2007

INFECCIONES REFRACTARIAS AL TRATAMIENTO

Recientemente, el aislamiento repetido de *E. Faecallis* en conductos radiculares asociados con infecciones persistentes, ha causado gran interés en su estudio y ha sido ampliamente utilizado en pruebas *in vitro* de diferentes soluciones irrigantes, medicamentos y antisépticos (14).

Chávez de Paz L.E., 2007, (14) muestra como tradicionalmente se ha sugerido que la supervivencia de un microorganismo al tratamiento de conductos se debe a su "robustez" en comparación con otros más vulnerables. En su artículo explica como por medio del uso de parámetros ecológicos se sabe que la supervivencia bacteriana post-tratamiento endodóntico dependerá no de la robustez de los organismos, pero sí de la capacidad de adaptación del organismo a los nuevos factores restrictivos. Esta capacidad de adaptación se ve exponencialmente aumentada en comunidades de Biofilm (14)

El *E. Faecallis* que tiene un papel menor en la infección primaria, representa un microorganismo con una gran resistencia antimicrobiana en infecciones anaerobias. (3)

Por otra parte, colonizaciones por hongos se han detectado en infecciones primarias y secundarias (77).

Nair P. N. y col., 1990, (56) observó la presencia de levaduras en 2 de 9 biopsias de lesiones peri-radiculares refractarias.

Waltimo T.N y col., 1997, (101) en su informe presentaron a la *Cándida Albicans* como el patógeno fúngico aislado con mayor frecuencia en cuarenta y 7 de 692.

Sundqvist G. y col., 1998, (91) aislaron *C. Albicans* en 2 de 24 conductos de dientes en los cuales el tratamiento endodóntico había fracasado.

Microbiológicamente observamos gran variedad de patógenos que pueden estar implicados en la persistencia de infecciones endodónticas y que poseen características ya sea de formación de Biofilm o de incorporarse a uno ya establecido. **Figuras 9 y 10**

Existe la teoría fuertemente estudiada que el fracaso en el tratamiento de lesiones primarias está relacionado directamente con la presencia de un Biofilm bacteriano deficientemente tratado ya sea por motivos mecánicos, químicos o anatómicos.

También se ha hablado y demostrado la presencia de Biofilm que viaja más allá del conducto radicular para estabilizarse en las zonas peri-radiculares haciendo imposible su erradicación por métodos convencionales de tratamiento.

INFECCIÓN PRIMARIA



- 1 a 5 especies bacterianas por conducto
- 102 a 105 especies por conducto
- Infecciones mixtas
- Bacterias mas frecuentes:

- *Streptococcus Mitis*
- *Propionibacterium ssp*
- *Fusobacterium Nucleatum*
- *Prevotella ssp*
- *Lactobacilos*
- *Actinomyces ssp*

INFECCIÓN PERSISTENTE (CASOS DE RETRATAMIENTO)



- 2 a 30 especies bacterianas por conducto
- 103 a 107 especies por conducto
- Infecciones mixtas
- Microorganismos mas frecuentes:

- *Enterococcus Faecallis*
- *Cándida Albicans*
- *Streptococcus ssp*
- *Propionibacterium ssp*
- *filibactor alocis*
- *Actinomyces ssp*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Figura 9. Principales características microbiológicas de muestras tomadas en conductos radiculares post-instrumentación, comparado muestras tomadas de infecciones post-tratamiento. Tomado de: *Clinical Implications and Microbiology of Bacterial persistence after treatment procedures. JOE — Volumen 34, Número 11, Noviembre 2008*

FACTORES DE VIRULENCIA

Hay motivos para creer que algunas especies o grupos de microorganismos son más significativos que otros. Esto es ajustado por la expresión de sus factores de virulencia (51, 59).

Según Dorland W.A.N, (23) la infección puede ser definida como “*la invasión y la multiplicación de microorganismos en tejidos del cuerpo, que pueden ser clínicamente inaparentes o causar heridas locales a nivel celular debido al metabolismo competitivo, toxinas, la réplica intracelular, o la respuesta antígeno-anticuerpo*”.

Bergenholtz G., 2004, (3) en su artículo sobre infecciones endodónticas plantea cómo los microorganismos deben ser viables para causar infección. Por lo tanto los factores que permiten que un patógeno crezca y se desarrolle, debe ser considerado un factor de virulencia.

En gran medida, nuestro conocimiento sobre los factores de virulencia se relaciona con la capacidad que tienen los microorganismos de causar signos y síntomas; como inflamación, dolor, aumento de temperatura y formación de abscesos (8).

La importancia de la virulencia bacteriana ha sido estudiada en relación con la patogénesis y con el papel individual que juega una bacteria en una enfermedad dada.

Diferentes estudios muestran que los criterios para que una bacteria sea considerada parte de una infección endodóntica, están determinados según una “*ecuación de la infección*” (80).

Esta ecuación se forma teniendo en cuenta la virulencia, el número de bacterias y el tiempo de respuesta de defensa del huésped a nivel local y general. La virulencia en estos estudios está definida como la combinación y la *secuencia de infección-invasión-patogenicidad*, y los factores de virulencia son los que facilitan estos acontecimientos, jugando de esta forma un papel importante en la infección. (80).

Los Drs. Ingar Olsen y Gunnar Dahle' N., 2004, (59) de las Universidades de Oslo y Göteborg, discutieron acerca de los factores de virulencia expresados en algunas de las especies que tienen un papel importante en las infecciones endodónticas: *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus spp.* Estas especies son comúnmente aisladas en infecciones del conducto radicular, a nivel periapical y en el margen gingival.

Algunos de los factores de virulencia descritos son: cápsula, adherencia, invasión, toxinas, enzimas como proteasas e inhibidores de proteasas y colagenasas, entre otros.

Se ha demostrado que los hongos poseen atributos de virulencia que pueden desempeñar un papel en la causalidad de una enfermedad. Los mecanismos que se cree pertenecen a esta especie y que están igualmente implicados en su patogenicidad son:

1. La adaptabilidad a una variedad de condiciones ambientales,
2. La adherencia a una variedad de superficies,
3. La producción de enzimas hidrolíticas
4. La transición morfológica
5. La formación de biofilm,

La evasión e inmuno-modulación de la defensa del huésped. (22)

Cápsula.

La cápsula bacteriana formada por una serie de polímeros orgánicos, depositada en la parte exterior de la pared celular, contiene glicoproteínas y un gran número de polisacáridos, incluyendo poli-alcoholes y amino-azúcares (107). **Figura 11**

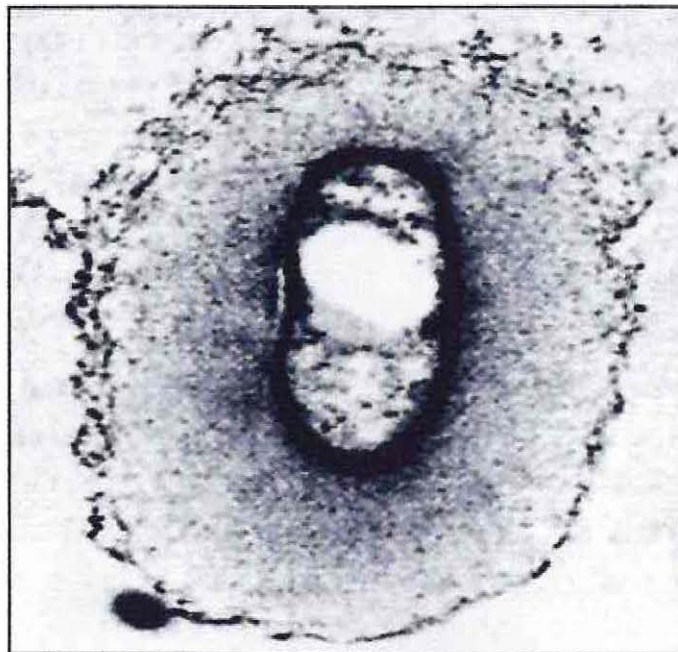


Figura 11. Cápsula bacteriana. Tomado de: *Microbiología. I.E.S. PANDO - OVIEDO (ESPAÑA). Sánchez J L. 2000*

Ésta está implicada en la adherencia, la formación de abscesos, y la fagocitosis de microorganismos (59). En una publicación se describe cómo bacteroides encapsulados,

fusobacterium, y cocos anaerobios facultativos gram positivos, generalmente inducían abscesos; mientras que los microorganismos no encapsulados no lo hacían (8).

La mayoría de las *Porphyromonas Gingivallis* aisladas están encapsuladas y se han asociado con el antígeno de superficie K. La presencia de antígeno K asociado con esta bacteria, tiene correlación con la resistencia a la fagocitosis y la necesidad de opsonización de anticuerpos específicos para su destrucción mediada por el complemento (99).

La *Porphyromona Endodontallis* no ha mostrado la formación de una cápsula similar incluso en presencia de antígeno K.

En un estudio donde se inocularon ratones con diferentes micro-organismos, se observó que de los abscesos generados, más del 50% eran por microorganismos encapsulados (9)

Estos datos muestran que las especies bacterianas que forman cápsulas, están más protegidas del sistema inmunológico y pueden escapar de la acción intracelular mediada por neutrófilos.

Tales especies se relacionan con infecciones endodónticas agudas exacerbadas.

Adherencia

La adherencia bacteriana es uno de los primeros pasos en la infección bacteriana (105).

Dahle' n G., 2004, (59) describe en uno de sus artículos, la presencia de fimbrias como un factor importante en la interacción entre la bacteria y las células del huésped. Estas fimbrias o pilis son filamentos huecos, delgados y rectos, situados en la superficie de determinadas bacterias y cuya función no está relacionada con la locomoción, sino con la adherencia a los sustratos y el intercambio de fragmentos de ADN durante la conjugación. **Figuras 12 y 13**

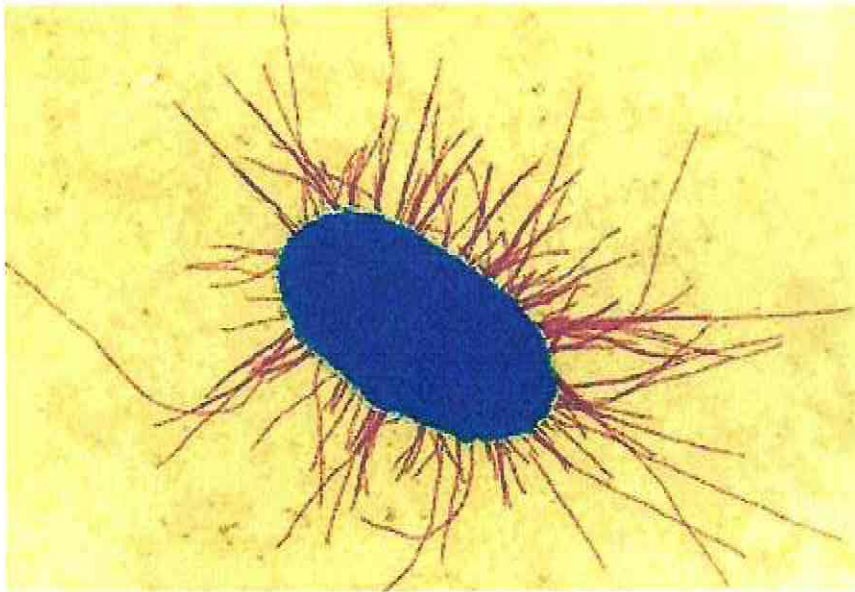


Figura 12. Fimbrias bacterianas bajo el microscopio electrónico de trasmisión (TEM) $\times 17,250$.
Tomado de: *Microbiología e Inmunología on-line*. Romero N. y cols. 2009

Dentro de las actividades biológicas de *P. Gingivallis* está la inmuno-geneticidad. Ésta se da como resultado del acoplamiento de varias proteínas del huésped; acción que produce el estímulo de citoquinas y la posterior reabsorción ósea. La *P. Gingivallis* posee dos tipos de fimbrias en su superficie, ambas generadas en un proceso de transcripción a nivel de la secuencia de ADN.

Algunos estudios han dividido las fimbrias presentes en la *P. Gingivallis* en seis grupos dependiendo de las características en sus genes. A nivel de la *P. Endodontallis* no se han descrito variaciones de tipo genético (1,59).

También, se ha descrito que el ácido (N-acetil-neuramínico) y el ácido (glucurónico) están implicados en la adhesión de *P. Gingivallis* a células epiteliales (45).

Las fimbrias de la *Prevotella Intermedia*, inducen la reacción de hemo-aglutinación; bacterias como *Prevotella. Loescheii* causan co-agregación bacteriana.

El *Fusobacterium Nucleatum* (7) aglutina eritrocitos humanos y se adjunta a células epiteliales, fibroblastos gingivales y leucocitos (42). También se adhiere al colágeno (53), fibronectina (38) y glicoproteínas presentes en gran cantidad en la saliva (29).

Examinando la ultra-estructura superficial de algunas bacterias orales, Kelstrup J. y col., 1979, (42) encontraron que las células del *F. Nucleatum* tenían 6-10 fimbrias polares, lo que pareció contribuir decisivamente en la cohesión bacteriana.

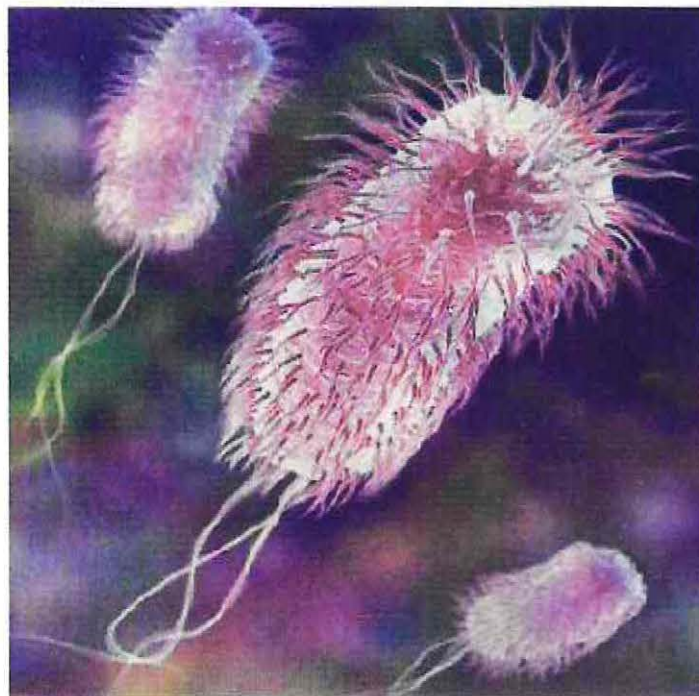


Figura 13. Fimbrias bacterianas. Tomado de: *En los 500 años del descubrimiento: Colones y Pinzones de la Microbiología.* Ledermann D. W. *Rev Chil Infect. Edición Aniversario 2003; 18-20*

Por otra parte, José F. Siqueira, 2004, (77) en su estudio sobre la presencia de hongos en las infecciones endodónticas, describe que la especie *Cándida* tiene moléculas superficiales que median la adhesión a tejidos del organismo. Estas moléculas incluyen un receptor homólogo a CR3 humano, que une RGD (angionina-glicina-acido aspártico), grupos que actúan sobre fibrinógeno, fibronectina y laminina, y una lecitina que permite la adherencia de bacterias sobre células epiteliales.

La especie de *Cándida Albicans* es también capaz de adherirse a algunos tipos de colágeno como el tipo I y IV.

Diversos autores han descrito una gran capacidad de adherencia por parte del *E. Faecallis* a las células y paredes del conducto radicular. **Figura 14**

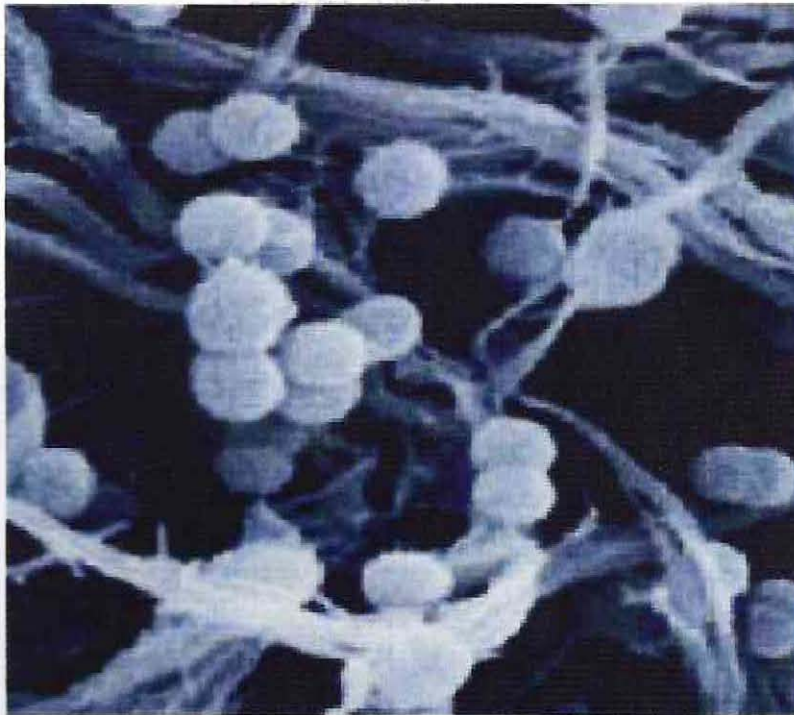


Figura 14. Bacterias gram negativas adheridas entre sí en una colonia de Biofilm. Tomado de la página web: www.javeriana.edu.co

Invasión

"Es importante acentuar que aunque el microorganismo endodóntico ya haya invadido al huésped, por su presencia en el conducto radicular que normalmente es estéril, el microorganismo puede invadir los túbulos dentinarios, deltas apicales, conductos laterales y tejidos apicales para su supervivencia y persistencia" (59)

La capacidad de invasión de las bacterias en los tejidos, es un factor de virulencia importante para la resistencia bacteriana.

Dorn B.R. y col., 1998, (22) divulgaron que *Prevotella Intermedia* puede invadir células epiteliales orales, para lo cual requiere la presencia de fibras tipo C y un cambio en su citoesqueleto y de este modo lograr la invasión.

Los índices de penetración de la *P. Gingivallis* a nivel de células epiteliales gingivales se catalogan como altos y rápidos. Una vez en su interior, se congrega en la región peri-nuclear de las células (4).

La invasión de túbulos dentinarios puede proteger a las células microbianas, de los efectos de los procedimientos intra-conducto y puede jugar un papel importante en el establecimiento de infecciones persistentes del interior de la raíz. (77) **Figuras 15 y 16**

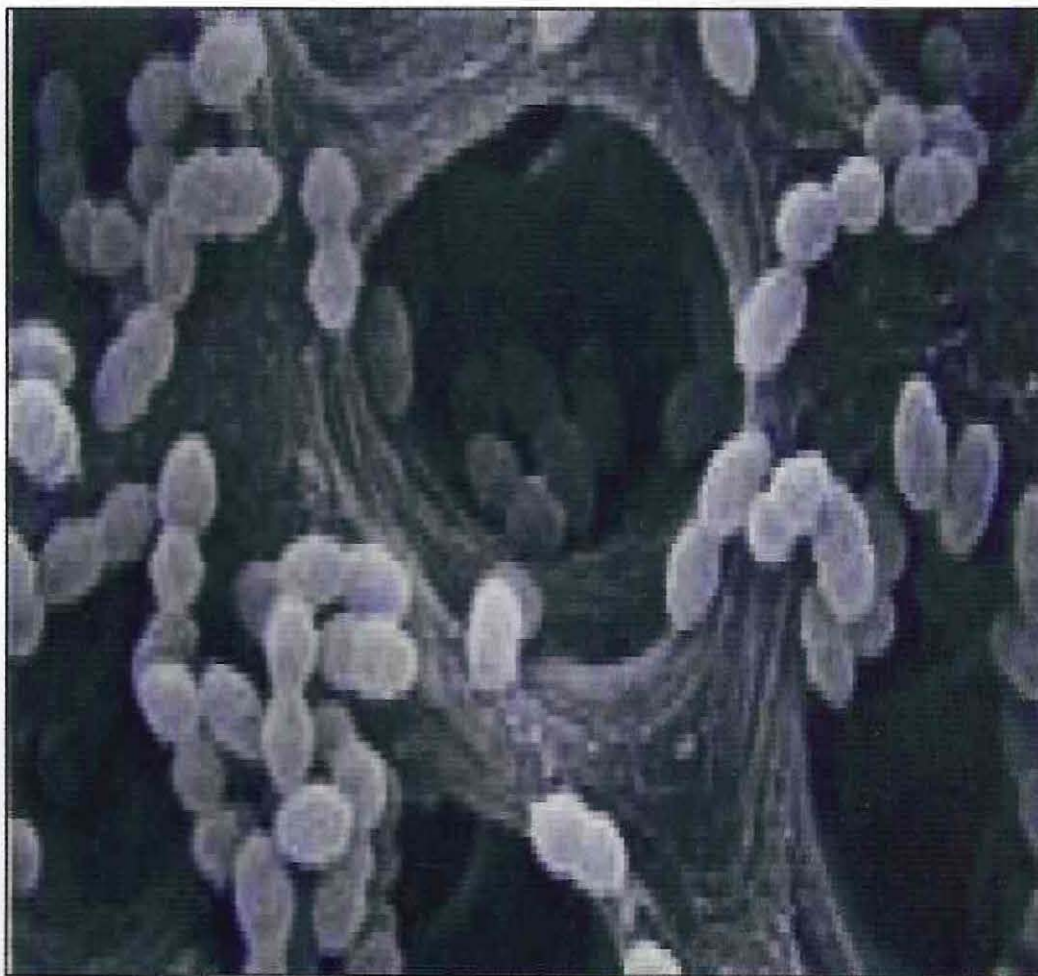


Figura 15. Invasión de *E. Faecalis* en túbulos dentinarios. Tomada de: *Microscopic observation of bacteria: review highlighting the use of environmental SEM. Int Endod J.2005; 38:775-788*

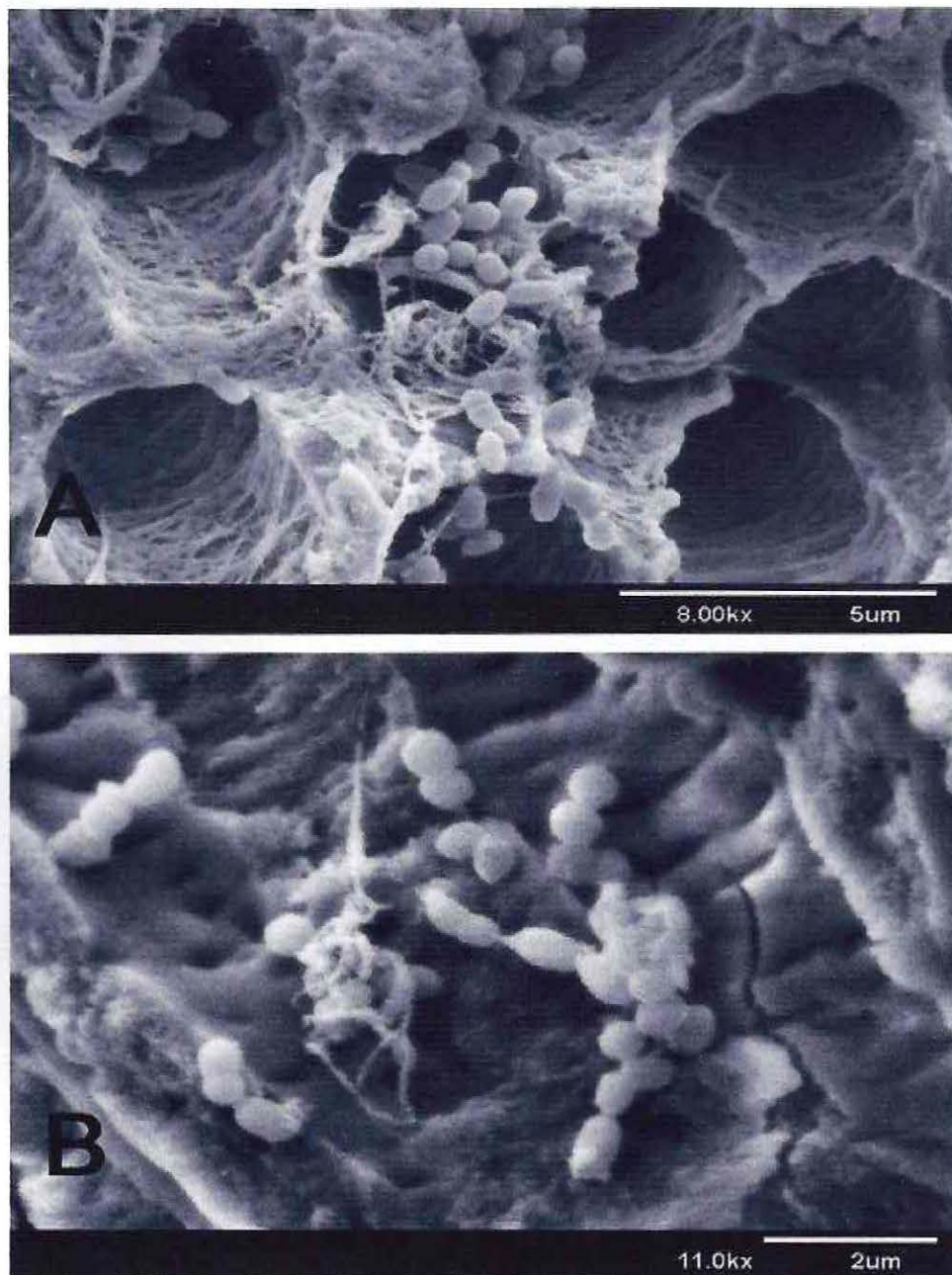


Figura 16. Exploración con SEM mostrando las acumulaciones de microorganismos *E. Faecallis* y *S. Gordonii*. (A) en la apertura de los túbulos dentinarios 24 horas después de inoculados (y B) a las 72 horas después, se observan dentro de los túbulos dentinarios (ampliando hasta 20m) . Tomado de: *Antibiotic Resistance Gene Transfer between Streptococcus Gordonii and Enterococcus faecalis in Root Canals of Teeth Ex Vivo*. *JOE—Volumen 34, Número 5, Mayo 2008*

Toxinas

El Lipopolisacárido Bacteriano (LPS), factor de virulencia propio de bacterias Gram negativas, es considerado uno de los factores más importantes relacionados con la reabsorción del tejido óseo (59).

Mecanismo mediado por la LPS-INDUCCION de la interleuquina IL-1b. LPS de *P. Intermedia*, participa en la destrucción de tejido periodontal, resorción de hueso alveolar y además inhibe la formación ósea (60).

A nivel de la *P. Gingivallis* el LPS bacteriano con un criterio selectivo puede modificar la respuesta de huésped actuando como agonista o antagonista de la proteína p38 como un medio de facilitar la colonización (19).

El LPS bacteriano, causa enfermedades inflamatorias y daño a los tejidos, por la inducción de una variedad de mediadores químicos inflamatorios:

- Citoquinas (ej., factor de necrosis de tumoral [TNF]),
- Interleuquina ([IL]-1, y IL-6),
- Especies de oxígeno reactiva (ej., óxido nítrico y superóxido),
- Lípidos metabólicos (ej., prostaglandinas, leucotrienos),
- Un factor que activa plaquetas. (28)

Baik J. E., 2007, (2) en una de sus investigaciones establece que a diferencia de las bacterias gram negativas, las bacterias gram positivas como el *E. Faecallis* expresan no el LPS bacteriano, sino el **ácido lipoteicoico (LTA)**. Figuras 17 y 18

LTA es similar a LPS tanto en su estructura como en sus propiedades inmunológicas.

Como los LPS, el LTA también está formado por la unión de 1,3-poliglicerofosfatos a ácidos grasos (104) y está implicado en respuestas inflamatorias y en:

- Síndrome de sepsis, (37)
- Formación de Biofilm, (26)
- Adherencia a dientes debido a su actividad adsorbtiva a hidroxiapatita. (13)

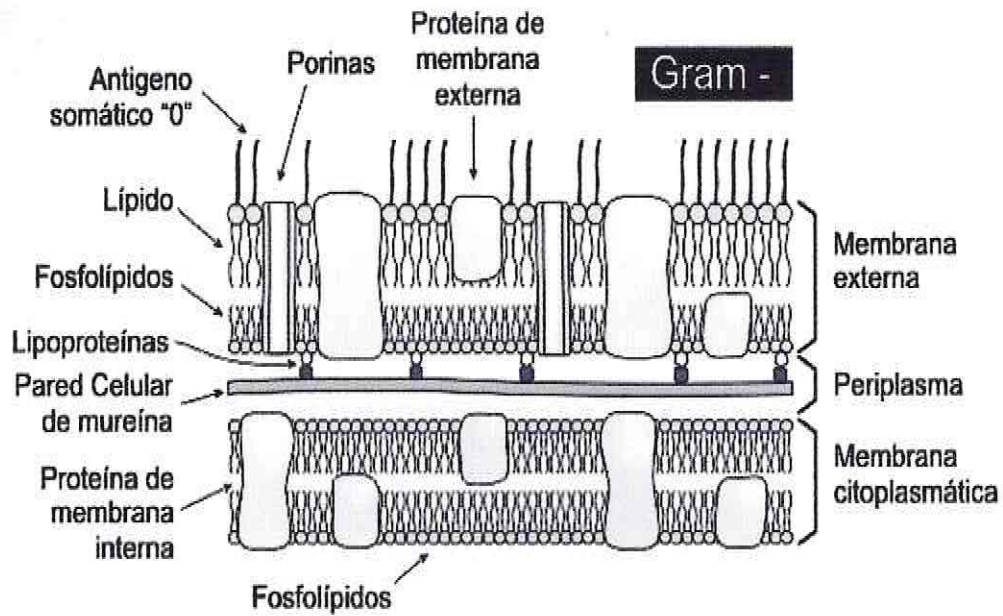


Figura 17. Bacteria gram negativa caracterizada por la presencia de LPS. Tomado de: *Introducción al estudio de la célula. Márquez S. y cols. 2009 (Web)*

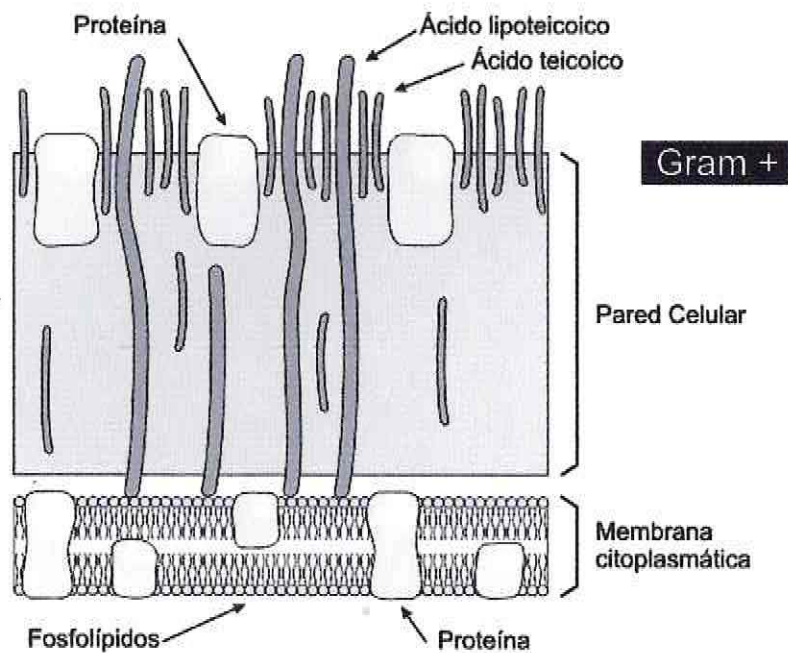


Figura 18. Bacteria gram positiva caracterizada por la presencia de ácido lipoteicoico. Tomado de: *Introducción al estudio de la célula. Márquez S. y cols. 2009 (Web)*

Factores exógenos

La virulencia bacteriana puede ser modificada por factores exógenos como sustancias nutritivas y la tensión de oxígeno (59) (41).

En este aspecto Gunnar Dahle ' n y cols. (59) describen cómo, por ejemplo, la virulencia de *P. Intermedia* y *P. Nigrescens*, es disminuida en la presencia de glucosa mientras que a nivel de *P. Gingivalis* no hay ningún efecto.

La capacidad de adaptación de los microorganismos ante los diferentes cambios ambientales, les permite fortalecerse y evadir los mecanismos de defensa del organismo y los implementados en forma externa como antibióticos vía sistémica y durante la preparación biomecánica del conducto radicular.

De esta forma y teniendo en cuenta todo lo anteriormente descrito, los microorganismos poseen diversas características de virulencia con los que se relaciona su patogenicidad y su resistencia.

La capacidad de formar Biofilm mediante un proceso de agregación y co-agregación constituye también uno de los principales factores de dicha virulencia (90)

El orden en que han sido abordados algunos de los factores de virulencia descritos en esta revisión está basado en la descripción desarrollada por los Drs. Ingar Olsen y Gunnar Dahle ' N. (59)

MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA

"Así como el agua no tiene una forma estable, no existen en la guerra condiciones permanentes."

Chia Lin

"Además, como en cada micro-ambiente natural, las capacidades adaptables de organismos individuales, exponencialmente son aumentadas en comunidades de Biofilm"

Luis Chávez de Paz

Las enfermedades endodónticas, tienen su principal etiología en la presencia, colonización y acción de diferentes microorganismos. De esta forma el conocimiento de su comportamiento permite la planificación y acción de eficaces estrategias para su control y erradicación. Durante años se ha observado en los microorganismos una especial capacidad de resistir a la acción antibacteriana sistémica y local (94).

A nivel endodóntico, diversos estudios han evaluado la resistencia bacteriana no solo desde el punto de vista de la acción de antibióticos administrados de forma sistémica, sino también de la resistencia a la medicación intra-conducto.

Chávez de Paz L.E., 2007, describe algunos de los mecanismos utilizados por las bacterias que les permite adaptarse al ambiente: la formación de Biofilm, la modificación fisiológica, la respuesta de tensión, y la creación de las sub-poblaciones de células. (14)

Gunnel Svensäter y Gunnar Bergenholtz, 2002, (95) explican como agentes antimicrobianos desarrollados para actuar sobre bacterias planctónicas y de crecimiento rápido, tienen una disminución de su acción ante comunidades de Biofilm maduro, donde los microorganismos son notablemente más resistentes. Describen por ejemplo que un cultivo de Biofilm puede ser mil veces más resistente que una célula planctónica. Las concentraciones inhibitorias para la clorhexidina y el fluoruro de amina son 300 y 75 veces mayores en comunidades de Biofilm, respectivamente, cuando *Streptococcus Sobrinus* es cultivado como un Biofilm comparado con la concentración mínima bactericida para células planctónicas (71).

La resistencia de las comunidades del Biofilm a los agentes antibacterianos ha sido atribuida a diferentes mecanismos (97). La estructura y la organización densa de la población de Biofilm dentro de la matriz polimérica podrían restringir la penetración del agente en el Biofilm (95). También se describe que el crecimiento lento de las células en el Biofilm puede causar células más resistentes que aquellas de división rápida. **Figuras 19 y 20**

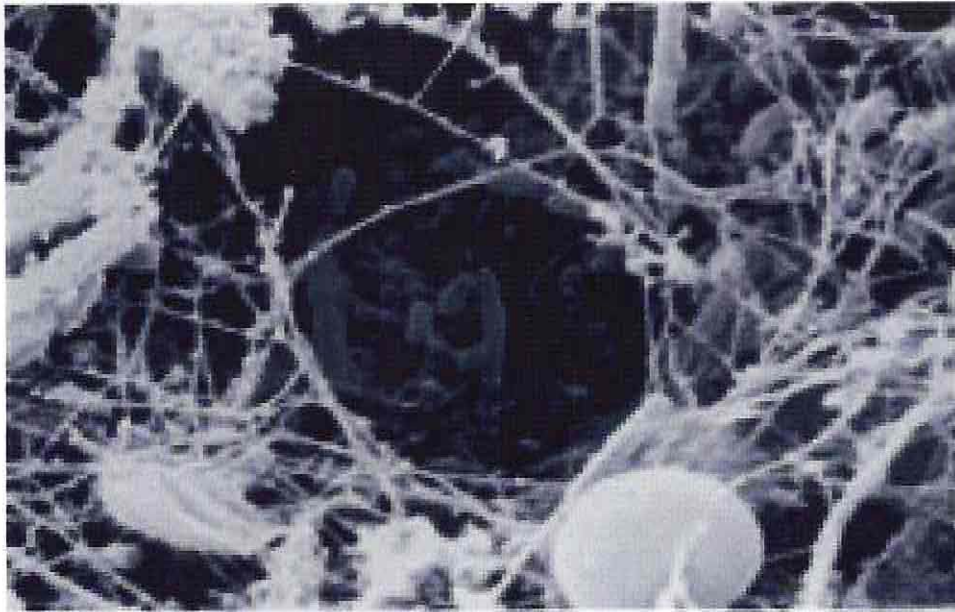


Figura 19. Biofilm bacteriano en la zona apical del conducto radicular. Tomado de: *Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. Int Endod J.2001; 34:216-220*

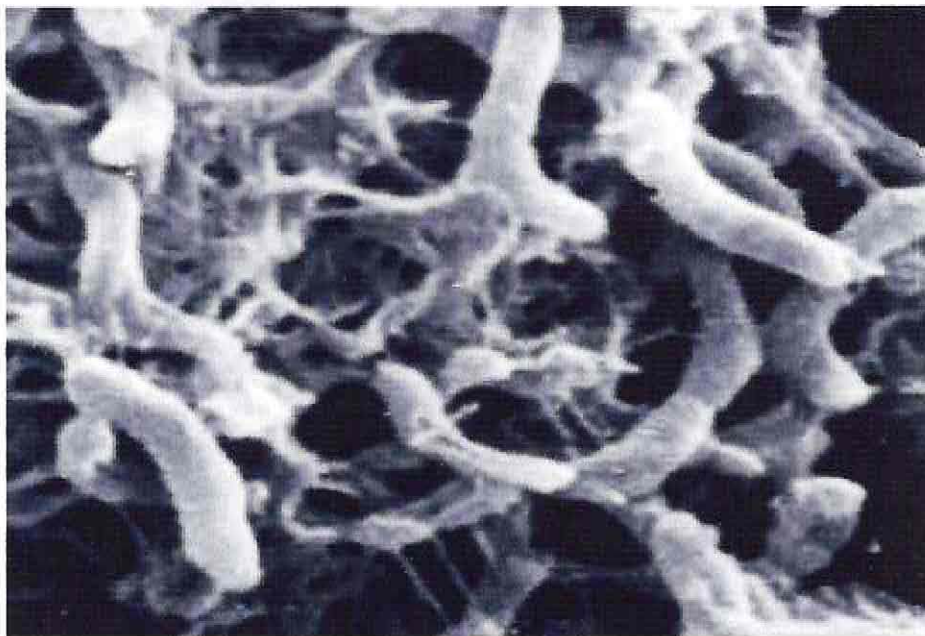


Figura 20. Biofilm endodóntico. Se muestra la red entrecruzada que dificulta la penetración de antibacterianos. Tomado de: *Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scanning electron microscopy study. Int Endod J.2001; 34:216-220*

En relación a la resistencia a antibióticos, es conocido que los microorganismos pueden transferir genes de resistencia de unos a otros (17). Los Plásmidos que han sido encontrados en bacterias (17) y levaduras (39), tienen una importancia clínica especial porque ellos pueden estar implicados en la difusión de la resistencia a los antibióticos.

Christine Sedgley, 2008, (71) estudió la transferencia de genes de resistencia antibiótica entre *Streptococcus Gordonii* y *Enterococcus Faecallis*. Allí se explica cómo la transferencia horizontal de plásmidos puede influir en la plasticidad y evolución del genoma bacteriano, permitiendo el movimiento de información genética, tanto dentro como entre especies, confiriendo así, rasgos que facilitan la supervivencia en condiciones atípicas. Un plásmido es transferido como una cadena de ADN que pasa de una célula a otra. Allí, es sintetizado e incorporado al ADN celular.

En todas partes del Biofilm, las condiciones ambientales varían, causando cambios en el fenotipo bacteriano, mejorando la supervivencia y las características de virulencia (57); así como el potencial aumento para la transferencia génica horizontal de determinantes de resistencia a antibióticos (87). Esta transferencia se ha visto mejorada en Biofilms (87).

Sedgley C. y col, 2008, (71) confirmaron la transferencia bi-direccional de un determinante de resistencia a la Eritromicina (un clásico antibiótico de la familia de los macrólidos) sobre el plásmido conjugado pAM81 entre *S. Gordonii* y *E. Faecallis*; apoyando de esta forma su hipótesis que planteaba “que el intercambio horizontal de resistencia de antibióticos puede ocurrir entre diferentes especies bacterianas en conductos radiculares”.

Por otra parte, ha sido demostrado que la especie de *Cándida* es resistente a algunas medicaciones comúnmente usadas en endodoncia, como el hidróxido de calcio (102). Waltimo T. M. y col., 1999, (102), evaluaron la sensibilidad de *C. Albicans* ante cuatro desinfectantes: yoduro de potasio, acetato de clorhexidina, hipoclorito de sodio, e hidróxido de calcio. Se encontró que las células de *C. Albicans* eran sumamente resistentes al hidróxido de calcio.

La sensibilidad de *E. Faecallis* también fue evaluada para objetivos comparativos. Observaron que toda las especies de *Cándida* mostraron niveles de resistencia igualmente alta o más alta al hidróxido de calcio acuoso que las vistas en el *E. Faecallis*.

Este resultado se explicó esclareciendo que la *C. Albicans* sobrevive en una amplia gama de potenciales de hidrógeno, y por esta razón soluciones de hidróxido de calcio saturadas no pueden tener ningún efecto sobre *C. Albicans*. **Figura 21**

La supervivencia bacteriana en conductos radiculares después del tratamiento, está basada en la capacidad de los organismos individuales de adaptarse al ambiente interno del mismo. Por lo tanto, el estudio de los mecanismos utilizados por los organismos para sobrevivir en un ambiente tan sumamente controlado, con sustancias nutritivas restrictivas, más los efectos de los medicamentos antibacterianos, es importante para nuestro entendimiento de infecciones radiculares internas que persisten.

La capacidad de los organismos en tales infecciones para formar Biofilm puede ser vista como el mecanismo adaptable más importante realizado por la bacteria para sobrevivir a los cambios ambientales que son resultado del protocolo de tratamiento.

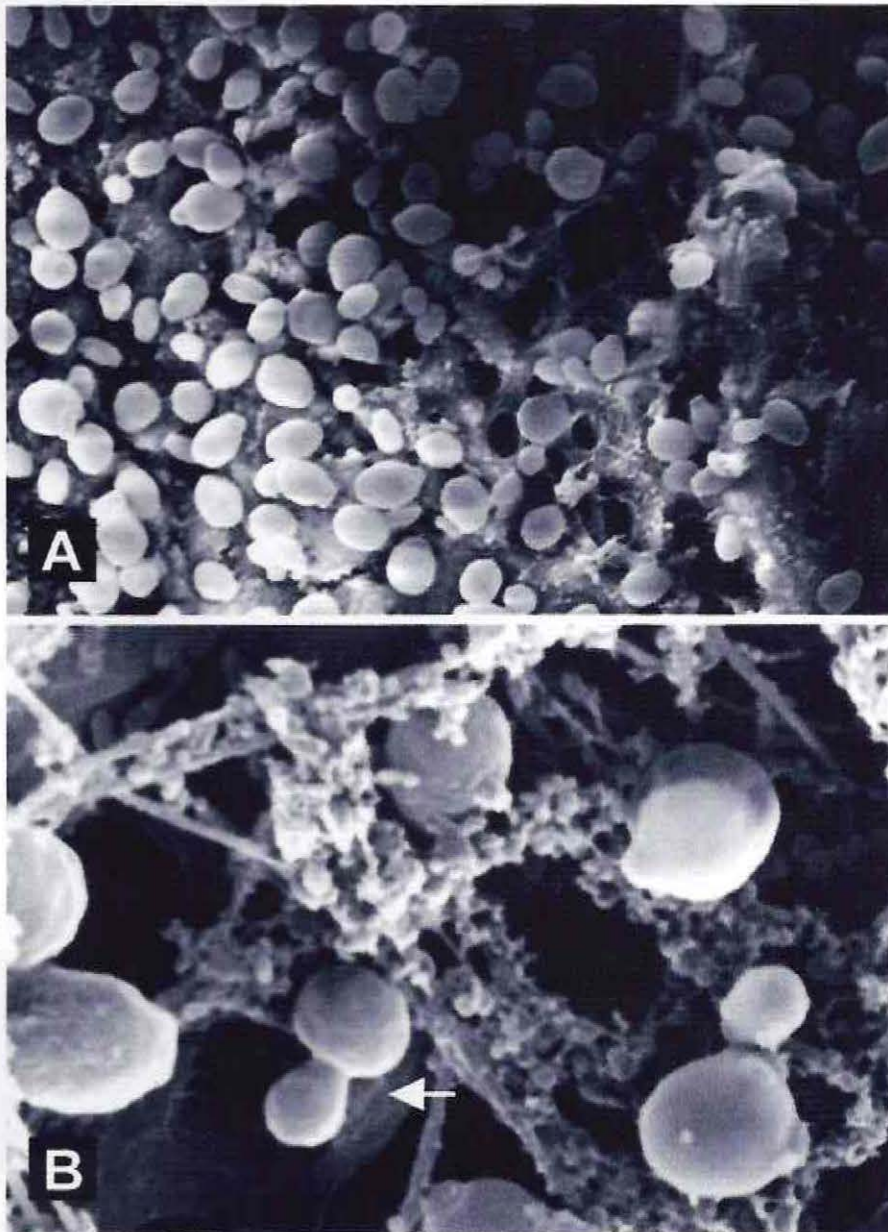


Figura 21. SEM. Muestra la presencia de *Cándida Albicans* en células de dentina. (A) Magnificación 3X 1900. (B) Magnificación 3X 5000. Tomado de: *Fungi in endodontic infections. Oral Pathol Oral Radio, Oral Endod 2004; 97:632-41*

DIAGNÓSTICO DEL BIOFILM ENDODÓNTICO

Actualmente, el diagnóstico de dientes comprometidos con Biofilm puede ser intuido por medio del:

- 1) Conocimiento del comportamiento microbiológico. (3)
- 2) Análisis clínico relacionando las bacterias, la historia de infección del diente, los signos y síntomas presentes.
- 3) Uso de nuevas técnicas de análisis molecular y de cultivo microbiológico.

En general, no existen estudios que determinen con exactitud qué micro-organismos de la flora bacteriana en infecciones endodónticas se encuentran organizados en un Biofilm (14).

Esta organización, se da bajo la influencia de diversos factores locales, externos, internos, propios del huésped y propios del patógeno, que varían de un caso a otro.

Por tal motivo, no se registra en la literatura un protocolo universal para el diagnóstico clínico de dientes comprometidos con Biofilm. Sin embargo, y como resultado de diversos estudios se han observado patrones que intuyen la formación de Biofilm a nivel endodóntico.

José F. Siqueira y cols., (77) en su artículo "*Fungi in endodontic infections*", publicado en el año 2004, describe la incidencia de hongos en infecciones primarias y secundarias, mostrando un número mayor de colonizaciones en infecciones que persisten.

En la literatura se ha hablado, dentro del marco de apariciones bacterianas a manera de Biofilm, que éstas se observan principalmente en conductos radiculares de dientes con pulpas no vitales (98, 76).

Como hemos visto, la sintomatología aguda producto de la acción directa o indirecta de micro-organismos, con dificultad muestra la presencia de un Biofilm. Dado que los estudios han relacionado esta sintomatología con micro-organismos aislados y poco se sabe si su comportamiento varía cuando se encuentran unidos a una Comunidad; por lo tanto, ante la presencia de un proceso infeccioso a nivel endodóntico se deben tener en cuenta múltiples factores antes de determinar si estamos ante la presencia de un Biofilm.

El Biofilm en los conductos radiculares y a nivel periapical se da como un medio de organización para la defensa y supervivencia de los micro-organismos, que requiere tiempo, nutrientes, y un ambiente apropiado (hábitat adecuado)

Los investigadores en un alto porcentaje, basan sus estudios en el análisis de dientes con procesos necróticos, crónicos, con imagenología de lesiones apicales asociadas, sintomáticas o asintomáticas, de dientes tratados endodónticamente o sin tratamiento, para el análisis microbiano y formación de Biofilm.

Se puede pensar entonces, en la siguiente deducción:

- 1) Existe baja probabilidad de encontrar organizaciones de Biofilm en conductos con pulpas vitales.
- 2) La mayoría de los procesos crónicos y de fracaso post-endodóntico están asociados con la presencia de esta “organización microbiana inteligente”.

Gunnel Svendsen y Gunnar Bergenholtz, 2004, (95) en su estudio sobre Biofilm en infecciones endodónticas, plantean que posiblemente la primera prueba para determinar la presencia de Biofilm en infecciones endodónticas fue realizada por Nair P.N.R., en el año 1987. (55) Usando un microscopio electrónico de transmisión (TEM) examinó el contenido del conducto radicular de 31 dientes, que tenían caries y un proceso periapical.

En el año 1991, Molven O. y cols. (52), utilizaron para su estudio sobre Biofilm, un microscopio electrónico de barrido (SEM), que les permitió observar la formación en racimos de cocos y espiroquetas.

En el año 2006, Ruff, M. L., y cols. (63) observaron bajo el SEM la presencia de hongos adheridos a comunidades de Biofilm.

Muchas investigaciones utilizan muestras bacterianas, cultivadas en placas de Petri para el análisis de micro-organismos (48).

Debido a errores en la toma de muestras y en los tipos y formas de cultivo, durante mucho tiempo, se tendió a subestimar algunas de las especies bacterianas presentes en las infecciones endodónticas (3).

ACTUALIDAD Y BIOFILM ENDODÓNTICO

En la actualidad, muchos investigadores utilizan métodos moleculares para la identificación y análisis de especies microbiológicas. Las propuestas moleculares de identificación microbiana parten de la premisa de que ciertos genes contienen información relevante acerca de la identidad microbiana. (65)

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es un método molecular basado en la replicación *in vitro* del ADN a través de ciclos repetitivos de desnaturalización, reunión de los cebadores y pasos de extensión (107).

Autores como Sedgley C. y cols., 2006, (72) compararon el método de cultivo tradicional con el método molecular PCR cuantitativo en tiempo real, para detectar y cuantificar cepas de *E. Faecallis*. Sus resultados señalan que este micro-organismo fue detectado en 9 (10,2%) de 88 muestras endodónticas a través del cultivo, y en 70 (79,5%) de 88 muestras a través de PCR cuantitativo en tiempo real.

La técnica de PCR cuantitativa en tiempo real sólo identifica la presencia de secuencias específicas de ADN, y como consecuencia, el número de micro-organismos intactos y viables es desconocido (72)

El método de transcriptasa reversa PCR, es una variación de la técnica original de PCR desarrollada para amplificar los ARN blanco y aumentar el uso de la enzima transcriptasa reversa, la cual puede sintetizar una cadena de ADN complementaria de un modelo de ARN.

Sedgley C. y cols, 2006, (73) compararon la presencia de *E. Faecallis* utilizando tres métodos de detección micro-biológica: cultivo, PCR cuantitativo en tiempo real y transcriptasa reversa PCR. Los resultados señalaron que *E. Faecallis* fue hallado en un 10,3% por el método de cultivo tradicional, 55,1% por la técnica molecular PCR cuantitativo en tiempo real y todas las cepas de *E. Faecallis* halladas por PCR cuantitativo fueron positivas al examen con transcriptasa reversa PCR. Estos autores concluyen que ambos métodos de detección molecular son mucho más sensibles que el cultivo tradicional para la detección de micro-organismos de muestras endodónticas (73).

En el mes de Febrero del año 2009, el Dr. Luis Chávez de Paz, muestra un software analizador de imágenes basado en la segmentación del color para la caracterización de la viabilidad y actividad fisiológica de Biofilms (*bioImage_L*) (16). En su estudio plantea que los métodos de procesamiento de imágenes automatizados y semi-automatizados digitales, extraen, datos

cuantitativos sobre la estructura y la distribución topográfica de un Biofilm en diferentes dimensiones (16, 5)

Recientemente para evaluar el estado fisiológico de células bacterianas, incluyendo la actividad metabólica, la integridad de la célula, o la presencia de ácidos nucleicos, ha sido de gran utilidad el uso de sondas fluorescentes. La sonda fluorescente ha sido utilizada para evaluar la viabilidad de tensiones bacterianas *in vitro* (15) y determinar la auto-agregación y co-agregación de bacterias aisladas de dientes con infecciones endodónticas (43)

De esta forma, es preciso decir que el diagnóstico clínico del Biofilm endodóntico, implica la unión de diferentes conceptos fisiológicos y celulares del huésped y del agente patógeno.

El constante avance y desarrollo de técnicas de investigación micro-biológicas aumenta dicho conocimiento haciendo más certero el diagnóstico y tratamiento de un Biofilm endodóntico.

PLAN DE TRATAMIENTO DE DIENTES CON POSIBLE BIOFILM ENDODÓNTICO

El tratamiento convencional de conductos, accediendo a un protocolo estándar en sus etapas, sigue siendo la primera y más efectiva medida para el manejo del Biofilm endodóntico. Muchas investigaciones han tenido por objetivo conocer la respuesta del Biofilm endodóntico ante los diferentes procesos que conlleva un tratamiento endodóntico (71, 83, 85).

José F. Siqueira Jr., 2008, (82) plantea en su artículo *Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures*, cuales son los objetivos para llevar a cabo un tratamiento endodóntico. **Figura 22**

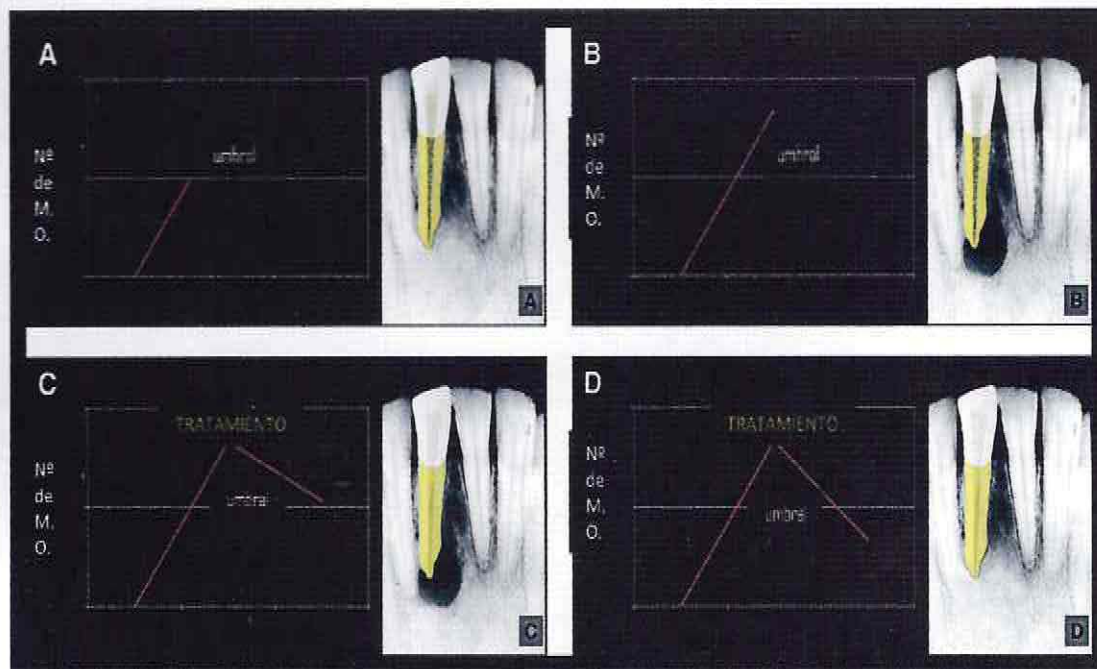


Figura 22. Objetivo microbiológico de tratamiento endodóntico de dientes con periodontitis apical. (A) Carga bacteriana. (B) Periodontitis apical. (C) Lesión apical persistente. (D) Poblaciones bacterianas en niveles sub-críticos compatibles con la curación. Tomado de: *Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures*. *JOE* — Volumen 34, Número 11, Noviembre 2008

El tratamiento endodóntico de dientes con pulpa vital que está irreversiblemente contaminada, es considerado, desde el punto de vista microbiológico, un tratamiento profiláctico que evita el progreso de la infección y la generación de lesiones apicales. Esta observación coincide con lo planteado por Spangber L.S.W., 2008. (88)

El objetivo de tratar dientes con necrosis pulpar séptica, está enfocado hacia la eliminación de micro-organismos como hacia la prevención de nuevas colonizaciones microbianas (82, 60, 83).

El porcentaje de éxito del tratamiento endodóntico dependerá entonces de la eficacia y eficacia del clínico en el logro de estos objetivos (82, 10, 75).

Como hemos revisado, las enfermedades infecciosas, son el resultado de la interacción entre un determinado número de patógenos, factores de virulencia y respuestas del huésped. Esta interacción puede ser potenciada en efecto y/o duración cuando se suman mecanismos de organización y sucesión bacteriana.

Es indispensable tener en cuenta y presente este conocimiento al momento de abordar un conducto radicular contaminado.

Los micro-organismos tienen que alcanzar un número de células suficientes para causar la enfermedad. Antes de que sea alcanzado un umbral, no se evidenciarán signos y síntomas clínicos. Después de que los niveles bacterianos alcanzan y exceden el umbral, la enfermedad infecciosa (periodontitis apical) es establecida. (82) (14)

El objetivo microbiológico de un tratamiento endodóntico de dientes con periodontitis apical está relacionado con el control de crecimiento y multiplicación bacteriana. Si los procedimientos operatorios de tratamiento no tienen éxito en reducir los niveles bacterianos por debajo de aquel umbral, entonces la enfermedad persistirá.

Se ha demostrado que el tratamiento endodóntico no necesariamente esteriliza el conducto radicular, pero reduce poblaciones bacterianas a los niveles sub-críticos que son compatibles con la curación (82).

Considerando la anatomía compleja del sistema de conductos de cualquier raíz dentaria, es extensamente reconocido que, con el actual uso de instrumentos adecuados disponibles, utilización de sustancias, y técnicas, buscar la erradicación total de bacterias es una manera utópica de comprender el tratamiento de conductos.

Por lo tanto, el objetivo accesible y humano es de reducir poblaciones bacterianas a un nivel por debajo del necesario, para inducir así la curación o resistir la enfermedad. *“Es la lucha y la pugna entre salud y enfermedad”*. **Figura 24**

No se puede desconocer o dejar de recordar, a la hora de tratar las infecciones endodónticas, que la patogénesis de la enfermedad:

- 1) Es variable de un paciente a otro (65, 80),
- 2) Está determinada por la propiedad de la virulencia de los patógenos involucrados.
- 3) Está expuesta a cambios y complejidad en la resistencia, ubicación de los patógenos y respuesta a las estrategias empleadas.

La misma combinación y asociación de especies bacterianas puede dar respuestas diferentes en distintos pacientes (82).

El sistema de conductos radiculares y su variante anatomía, además de proporcionar factores importantes que influyen en la colonización bacteriana, disminución en la concentración de oxígeno y la disponibilidad nutritiva, (90) considerando su morfología y su topografía interna no constante, proporcionan un territorio inaccesible para la acción de antibióticos administrados sistémicamente. **Figura 23**

Por lo tanto, ante la presencia de infecciones de origen endodóntico, el tratamiento de conductos por medio de la preparación biomecánica y la medicación intra-radicular van a actuar directamente sobre la zona donde se encuentra la mayor cantidad de bacterias. De esta forma se reduce significativamente la carga bacteriana pero difícilmente actúan sobre todo el conducto (Biofilm bacteriano endodóntico intra-radicular y menos aún sobre el Biofilm bacteriano endodóntico apical (5mm) y periapical.

La mayoría de los clínicos tienen un acceso restringido al uso de muestras y cultivos que corroboren el índice bacteriano intra-radicular, durante el tratamiento y antes del sellado final (pre-obturación)

La revisión constante de la literatura y el seguimiento de diversos protocolos de tratamiento reportados y estudiados, aporta las guías clínicas necesarias para un adecuado tratamiento alternativo.



Figura 23. Diferentes nichos y factores limitantes en el ambiente del conducto radicular.
 Tomado de: *Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities, Journal of Endodontic. Volume 33, Number 6, June 2007*



Figura 24. Interpretación de datos de estudios que evalúan la especie y el fenotipo de bacterias presentes en el conducto radicular en el momento de la obturación (post-instrumentación o post-medicación) o en conductos con re-tratamiento (post-obturación). Si un taxón (especie microbiológica) es encontrado en la etapa de obturación, pero no en el momento de un re-tratamiento, probablemente quiere decir que éste sucumbió en el conducto radicular después de obturado. Si un dado taxón es encontrado tanto en el momento de obturación como en el momento de re-tratamiento, esto puede significar que este taxón puede causar una infección persistente. Si un dado taxón no es descubierto en muestras tomadas en el momento de la obturación, pero es identificado en muestras de re-tratamiento, esto puede significar que éste taxón entrará a el conducto después de la obturación y luego estará implicado en una infección secundaria. Tomado de: *Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures JOE* — Volumen 34, Número 11, Noviembre 2008

PREPARACIÓN BIOMECÁNICA Y BIOFILM ENDODÓNTICO

La preparación biomecánica del conducto radicular (PBM) es de crucial importancia para la desinfección del conducto radicular y tal vez sea una de las etapas más importantes del tratamiento endodóntico, si no la más.

Goldman M. y cols, 1988, (31) expuso que la correcta preparación biomecánica del espacio del conducto radicular se considera como esencial para el éxito en la terapia endodóntica.

Según Davis S.R. y cols, 1972, (20) describió que la anatomía inherente del sistema de conductos radiculares hace que los actuales protocolos de instrumentación parezcan inadecuados para alcanzar nuestra meta, aún en conductos que se piensa están preparados "a fondo". **Figura 25**

Weine F. y cols, 1975, (103) planteó que cuando un conducto es preparado adecuadamente, una variedad de materiales o técnicas de obturación serán probablemente exitosas.

Por la adecuada remoción del contenido del conducto y de la dentina afectada y por la creación de un espacio para el material de obturación, este tratamiento intra-conducto produce unas condiciones que inducen a la iniciación de la curación y reparación. Sin embargo, inadecuadas o inapropiadas preparaciones pueden causar dificultades para el sellado final y el éxito del tratamiento.

En la revisión bibliográfica realizada por Haapasalo M. y cols., 2003, (33) se deja bien en claro que en la literatura no hay ningún procedimiento estándar en términos de medidas mecánicas y antimicrobianas totalmente fiable en la completa eliminación de la infección intra y extraradicular.

Diversos autores han enfocado sus investigaciones en la potenciación de las técnicas biomecánicas. De este modo, de han ensayado *in vivo* e *in vitro*, diferentes mecanismos de preparación (36), soluciones irrigantes (63, 44), uso de quelantes (88), empleo de ultrasonido (62), agua ozonizada, entre otras estrategias.

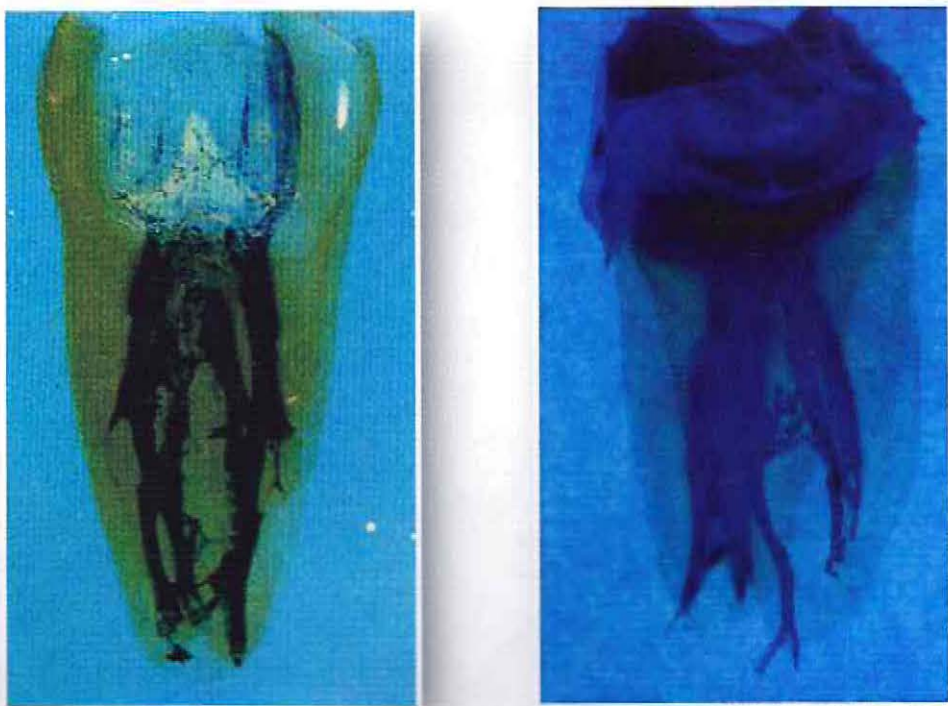


Figura 25. Variantes en la anatomía radicular.

Tomado de: *Endodoncia. Técnica y Fundamentos*. Editorial Médica Panamericana. 2002

Históricamente y a través de los años, han sido observados algunos inconvenientes y carencias en la preparación biomecánica de conductos radiculares. Estas pueden estar condicionadas por factores como la morfología y anatomía radicular, el sobrepaso de detritus contaminados y/o infectados al periápice, la penetración de bacterias en los túbulos dentinarios, la formación de Biofilm, la pérdida de una técnica aséptica, la inexperiencia del operador, y la deficiencia en el conocimiento y actualización del operador, etc.

Después de la instrumentación de un conducto radicular con una infección primaria en la que ha habido una sobre-instrumentación, la herida provocada a nivel apical puede generar la entrada de exudado inflamatorio en ese conducto y causar el crecimiento de bacterias proteolíticas que hayan podido sobrevivir al procedimiento del tratamiento endodóntico (50). Asimismo, una sobre-instrumentación en un caso de retratamiento puede “interrumpir” las condiciones de hibernación o “stand-by” que a menudo existen para algunas bacterias en los conductos radiculares tratados endodónticamente; que pudiesen haber quedado atrapadas por el relleno del conducto radicular entre paredes dentinarias (Biofilm post-obturación intra-conducto).

Si el sistema de conductos radiculares es abierto otra vez con el fin de un nuevo tratamiento (re-tratamiento), la ampliación innecesaria del foramen puede aumentar el suministro alimenticio y esto tendría un impacto negativo sobre el resultado del procedimiento (50).

El uso de una medicación anti-microbiana intra-conducto, puede ser "LETAL" para las bacterias residuales. (82) Sin embargo, existen reportes de bacterias que han sobrevivido no sólo a la preparación biomecánica, sino también a la medicación intra-conducto. Por ejemplo:

Saunders W.P, y cols., (68) en el año 1994, analizó las posibles causas del fracaso post-tratamiento endodóntico concluyendo que éstas, están principalmente relacionadas con la persistencia de la infección y no con infecciones secundarias.

Sjögren U. y cols., en el año 1990, (85) muestra que la incidencia de infección post-tratamiento es más alta en aquellos casos en que se presentó lesión periapical antes del tratamiento. Esto es reforzado con el alto porcentaje de éxito que presentan los dientes vitales (sin infección apical) tratados endodónticamente.

La bacteria que persiste en los conductos radiculares después de la preparación biomecánica o después de la medicación intra-conducto no siempre mantendrá un proceso infeccioso. Esta declaración es apoyada por el hecho que algunas lesiones apicales pudieron sanar incluso cuando la bacteria fue encontrada en el conducto radicular en la etapa de obturación (27, 86).

José F. Siqueira Jr., en el año 2008, (82) describe en su estudio algunas de las posibles razones para este suceso:

- 1) Las bacterias residuales pueden morir después del relleno debido a los efectos tóxicos del material obturador, por la disminución en las sustancias nutritivas, o por la interrupción de la ecología bacteriana.
- 2) Los microorganismos pueden estar presentes en cantidades y virulencia que puede ser sub-crítica para sostener la inflamación peri-radicular.
- 3) Los patógenos permanecen en una ubicación que les impide tener acceso a los tejidos peri-radicales.

Diversos estudios muestran que no se ha encontrado una especie bacteriana "en solitario" que pueda persistir como tal después de un tratamiento endodóntico.

Las bacterias Gram negativas, comunes en infecciones primarias, por lo general son eliminadas durante los procedimientos del tratamiento. Una posible excepción incluye algunas bacterias anaerobias, como *Fusobacterium Nucleatum*, *Prevotellas*, y *Campylobacter Rectus*, que han sido halladas en cultivos post-instrumentación (86, 11, 84). **Figura 26**

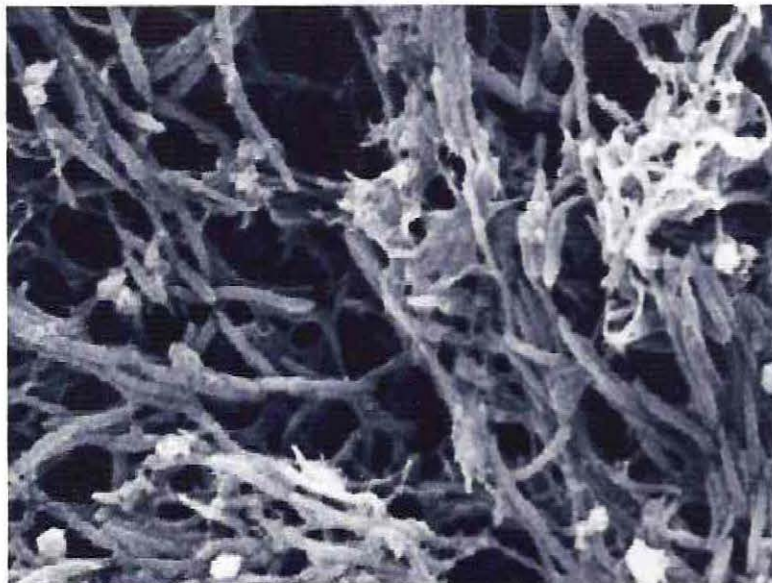


Figura 26. Biofilm endodóntico con presencia de *Fusobacterium Nucleatum*
 Tomado de: *In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single species Biofilms. International Endodontic Journal, 39, 878–885, 2006.*

La gran mayoría de estudios al respecto, han revelado que las bacterias gram positivas son quienes comúnmente se resisten al tratamiento.

Entre estas encontramos:

- *Streptococcus* (*Streptococcus Mitis*, *Streptococcus Gordonii*, *Streptococcus Anginosus*, *Streptococcus Sanguinis*, y *Streptococcus Oralis*),
- *Actinomyces* (*Actinomyces Israelii* y *Actinomyces Odontolyticus*),
- *Propionobacterium* (*Propionibacterium Propionicum*),
- *Lactobacilos* (*Lactobacilo Paracasei* y *Lactobacilli Acidofilus*)
- *Enterococcus Faecallis*
- *Olsenella Uli* (71, 86, 11,84).

Este hallazgo apoya la teoría que dice que las bacterias gram positivas pueden ser más resistentes a medidas de tratamiento antimicrobiano y que poseen mejores capacidades de adaptación a las condiciones ambientales adversas, generadas por la instrumentación y la medicación intra-conducto.

PREPARACIÓN BIOMECÁNICA VERSUS BIOFILM ENDODÓNTICO

El régimen de preparación biomecánica de conductos radiculares incluye dos procedimientos esenciales: conformación del conducto e irrigación del mismo.

Es decir limpieza y tallado.

En gran medida, los avances en las técnicas e instrumentos de preparación y obturación, han aumentado la eficacia en el limado de las paredes del conducto radicular, la irrigación, medicación intra-conducto y el sellado final, potenciando así el éxito en el tratamiento de la eliminación del Biofilm endodóntico.

L. Fava, 1983, (25) reportó que después de instrumentación e irrigación, 55% de conductos con pulpas vitales y 80% con pulpas necróticas presentaban residuos de tejidos intra-conducto.

Stenman E., 1983, (89) examinó 161 conductos radiculares y demostró que entre 2 y 6 mm después de una instrumentación estandarizada, la lima trabaja sólo en tres paredes y la cuarta la toca ocasionalmente. Llegó a concluir que no se puede llevar a cabo una perfecta limpieza nada más con instrumentos manuales.

Se comenzó a pensar en la necesidad de utilizar una forma mecanizada de realizar una limpieza más eficiente y se pensó en el ultrasonido, el cual efectúa la limpieza mediante la cavitación.

Los sistemas ultrasónicos tienen la particularidad de asociar un agente físico (las ondas acústicas) y un agente químico (la solución irrigante). Este último, utilizado abundantemente y de forma continua durante toda la instrumentación, se activa por las ondas acústicas y desencadena efectos hidrodinámicos. Este principio se adapta a los criterios de calidad de una buena irrigación: cantidad, penetración, renovación y agitación.

Al eliminar tejido contaminado mecánicamente, se puede reducir de forma significativa el índice bacteriano y puede ser desestabilizada la patogenicidad instaurada. Sin embargo y como se ha revisado, esto resulta insuficiente, si no se complementa con mecanismos de irrigación y medicación adecuados. **Figura 27**

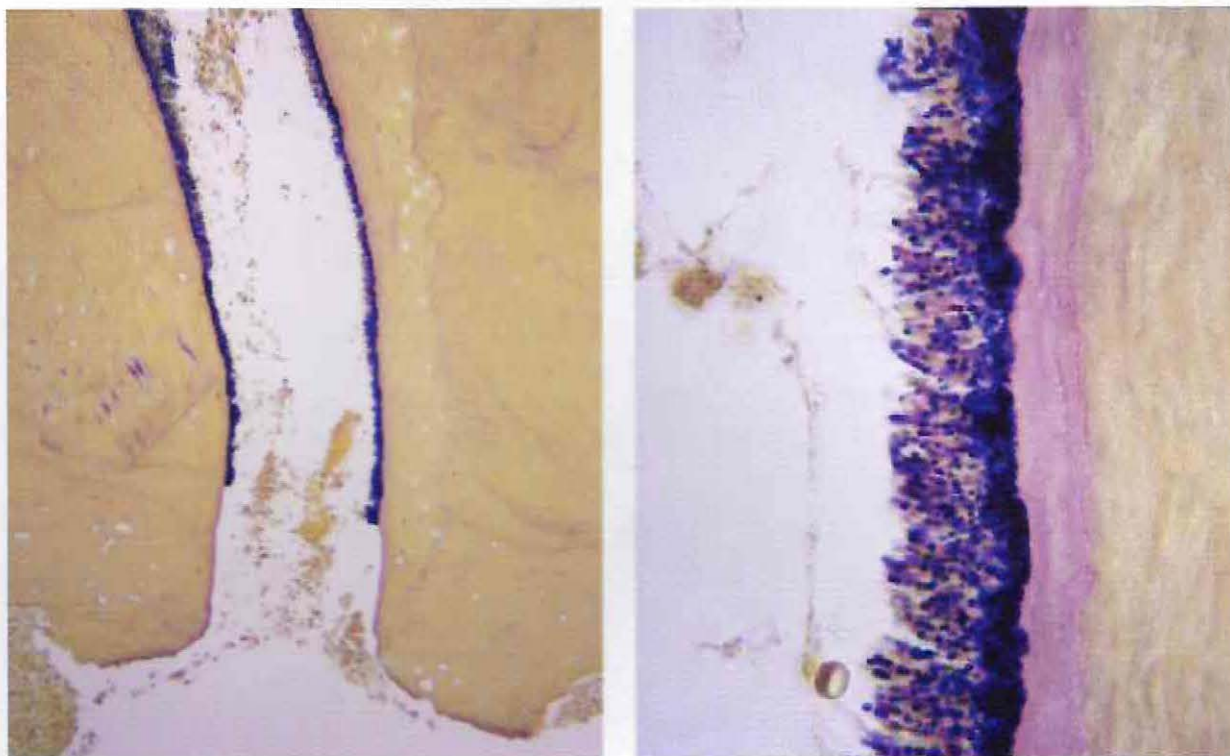


Figura 27. Persistencia de Biofilm adherido a las paredes del conducto radicular post-instrumentación.
Tomado de: *Biofilms in endodontic infection. Endodontic Topics. 2004, 9,27-36*

Al ser el Biofilm endodóntico una organización bacteriana difícil de destruir, desequilibrar y en un sentido ideal, eliminar, es fundamental ante la sospecha de su existencia en un conducto radicular, la aplicación rigurosa de una correcta y prolija preparación biomecánica del mismo.

IRRIGACIÓN INTRACONDUCTO VERSUS BIOFILM ENDODODÓNTICO

La eliminación bacteriana del conducto radicular es realizada mediante la acción mecánica de instrumentos manuales y rotatorios, la función de arrastre de las soluciones irrigantes así como los efectos antibacterianos de los mismos (82).

Durante los últimos años se han propuesto varias soluciones como irrigantes endodónticos, no obstante, el hipoclorito de sodio (NaOCl) sigue siendo el irrigante usado con mayor frecuencia (21).

Algunos estudios han revelado que la preparación biomecánica en la que se usa como irrigante NaOCl en diferentes concentraciones no basta para garantizar de forma fiable la eliminación bacteriana; aproximadamente el 40 % al 60 % de los conductos radiculares han resultado positivos para la presencia de microorganismos (86, 11, 106).

Ante estos resultados, se han propuesto otras alternativas en soluciones irrigantes.

Vianna M.E y cols., el año 2006, (100) y Siqueira J.F Jr. y cols., el año 2007, (84) investigaron soluciones de **clorhexidina** (CHX) a diferentes concentraciones, como una alternativa de irrigación. Los investigadores encontraron que aunque la clorhexidina tenía excelentes características antimicrobianas, no era superior al NaOCl.

A medida que se avanza en nuevas investigaciones, el *Enterococcus Faecallis* cada vez más es asociado con periodontitis refractaria y con fracasos endodónticos. Este *Enterococcus*, posee características que le permiten ser uno de los micro-organismos con una alta tasa de resistencia y "conciliación" a la terapia endodóntica. Posee facultades como adaptación en ambientes con pH básico, fuerte adhesión a la dentina, penetración y colonización de túbulos dentinarios y formación de Biofilm en condiciones adversas (21, 44, 84).

Comúnmente no es encontrado en la cavidad bucal que no ha tenido una historia de tratamiento endodóntico, así como rara vez es aislado en conductos con infecciones primarias. Sin embargo, en un altísimo porcentaje de las muestras tomadas post-tratamiento endodóntico, está presente. Por tal motivo se le ha atribuido la capacidad de ingresar en el conducto durante el tratamiento (entre sesiones) o después de la obturación final (84). Sobre este punto, aún no es conocido con certeza en qué momento y de qué forma el conducto es colonizado por este patógeno.

Kishen A. y cols., en el año 2008, (44) estudiaron la influencia de algunos regímenes y protocolos de irrigación sobre la adhesión del *E. Faecallis* a la dentina intra-radicular. En este estudio se utilizaron como soluciones irrigantes hipoclorito de sodio (NaOCl) al 2.5%, clorhexidina (CHX) al 2%, en combinación con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)

utilizado como quelante para retirar los residuos dentinarios. Se encontró un alto porcentaje de bacterias que se adherían sobre la dentina (67%) cuando EDTA fue usado como último irrigante.

Cuando NaOCl fue usado como último irrigante, hubo un 40% de adhesión de bacterias a la dentina. La irrigación final con CHX mostró la menor adhesión bacteriana a la dentina (19%). Cuando se utilizó como último irrigante NaOCl, después de la acción de EDTA, se observó que el aumento en la adhesión bacteriana producida por el EDTA disminuía considerablemente.

Resultados similares se observaron cuando después de EDTA la irrigación final se realizó con CHX. La irrigación final con EDTA mostró el número máximo de *E. Faecallis* adheridos a dentina. La irrigación final con EDTA al 15 % después de 5 minutos produce una zona de desmineralización de 20 a 30 μm (44, 49, 35).

La desmineralización de dentina, que expone el colágeno, crea un sustrato ideal para la adhesión de *E. Faecallis* (84, 35). Esto podría ser la posible razón del aumento de la adhesión de este germen a la dentina después de usar EDTA como irrigante final. Cuando el NaOCl es usado después de la irrigación con EDTA, el colágeno expuesto es retirado, disminuyendo la adhesión bacteriana.

Sena N. T., en el año 2006, (69) comparó la acción anti-microbiana del hipoclorito de Sodio (NaOCl) en diferentes concentraciones con el gluconato de clorhexidina al 2% (CHX) en forma líquida y en forma de gel, con agitación mecánica (ultrasonido) y sin ella.

Dicho estudio reveló que todos los micro-organismos anaerobios estrictos fueron eliminados dentro de un lapso de tiempo de 30 segundos por todas las sustancias antimicrobianas probadas. A excepción de *C. Albicans*, *S. Aureus* y *E. Faecallis* que requirieron de 300 segundos (5 minutos) para ser eliminados. En el caso de la clorhexidina al 2% en consistencia de gel, se requirieron para la eliminación de *C. Albicans* 900 segundos (15 minutos) para ser totalmente eliminado, seguido por *S. Aureus* 600 segundos (10 minutos) y *E. Faecallis* 360 segundos (6 minutos). No se reportaron diferencias estadísticamente significativas entre el NaOCl al 5.25%, el líquido de clorhexidina al 2 % y el NaOCl al 2.5 %. La clorhexidina en gel necesitó más tiempo para eliminar todas las bacterias y levaduras.

Este estudio también mostró que la activación mecánica de las soluciones irrigantes, potencia la velocidad de eliminación bacteriana, puesto que aumenta el contacto del agente antimicrobiano con el patógeno. Sin embargo, la mezcla de NaOCl y CHX debe ser evitada durante la instrumentación. Esta combinación puede producir la precipitación de compuestos tóxicos como la paracloroanilina (92).

BioPure MTAD es una medicación intra-radicular recientemente presentado en el mercado como "MTAD". Es una mezcla de Doxiciclina, ácido cítrico, y un detergente (Tween 80). (96)

Torabinejad M. y cols., en el año 2003, demostraron que MTAD elimina eficazmente el barro dentinario (smear layer) además de ser un potente antimicrobiano de los conductos radiculares (96, 74).

Ruff M. L. y cols., 2006, (63) estudiaron la eficacia antifúngica de MTAD. Concluyeron que el MTAD fue superior en la remoción del barro dentinario en relación con el EDTA; sin embargo, el NaOCl y CHX fueron significativamente superiores antimicrobianos que el MTAD. (63)

Muchas otras investigaciones han demostrado una similar acción antimicrobiana de hipoclorito de sodio y clorhexidina. Sin embargo, la capacidad de disolución de tejidos del NaOCl en conjunto con sus características antibacterianas y su facultad de ser potenciado mediante el uso de calor, ultrasonido, y diferentes concentraciones, *ampliamente estudiadas*, lo hace ser un apropiado irrigante en el manejo de Biofilm endodóntico y en la endodoncia moderna.

MEDICACIÓN INTRACONDUCTO Y BIOFILM ENDODÓNTICO

Las bacterias residuales pueden afectar desfavorablemente el resultado del tratamiento endodóntico. Las poblaciones de Biofilm pueden ser resistentes y sobrevivir a los procesos de preparación biomecánica e irrigación.

Definir, precisar y especificar clínicamente cuando un tratamiento presenta bacterias sobrevivientes, alcanza altos niveles de complejidad. Sin embargo, si se tienen en cuenta algunos de los planteamientos descritos en esta monografía se puede obtener una idea aproximada.

Así, el diagnóstico se basará principalmente en el análisis del diente, las características previas al tratamiento, la técnica de preparación empleada y las tendencias de la solución de irrigación a emplear.

Innumerables investigadores han recomendado el empleo de una medicación intra-conducto que complemente los efectos antibacterianos llevados a cabo durante la preparación del conducto y eliminar así, las bacterias persistentes (6, 43).

Diversos estudios han mostrado que ésta medicación en donde se emplee una pasta de hidróxido de calcio (con diferentes vehículos basados en sus diferentes propiedades físicas, químicas y vehiculares propiamente tales) puede ser necesaria para complementar los efectos antibacterianos de la preparación y la irrigación y proporcionar así, un conducto radicular más apto para ser obturado.

Medicamentos anti-microbianos utilizados en endodoncia pueden ser inactivados por la dentina, fluidos (sangre, pus, exudados, etc.), y materia orgánica (34). Algunas especie microbianas, como *E. Faecallis* y *Cándida Albicans*, pueden mostrarse resistentes al hidróxido de calcio (71, 12); por diversos mecanismos. **Figura 28**

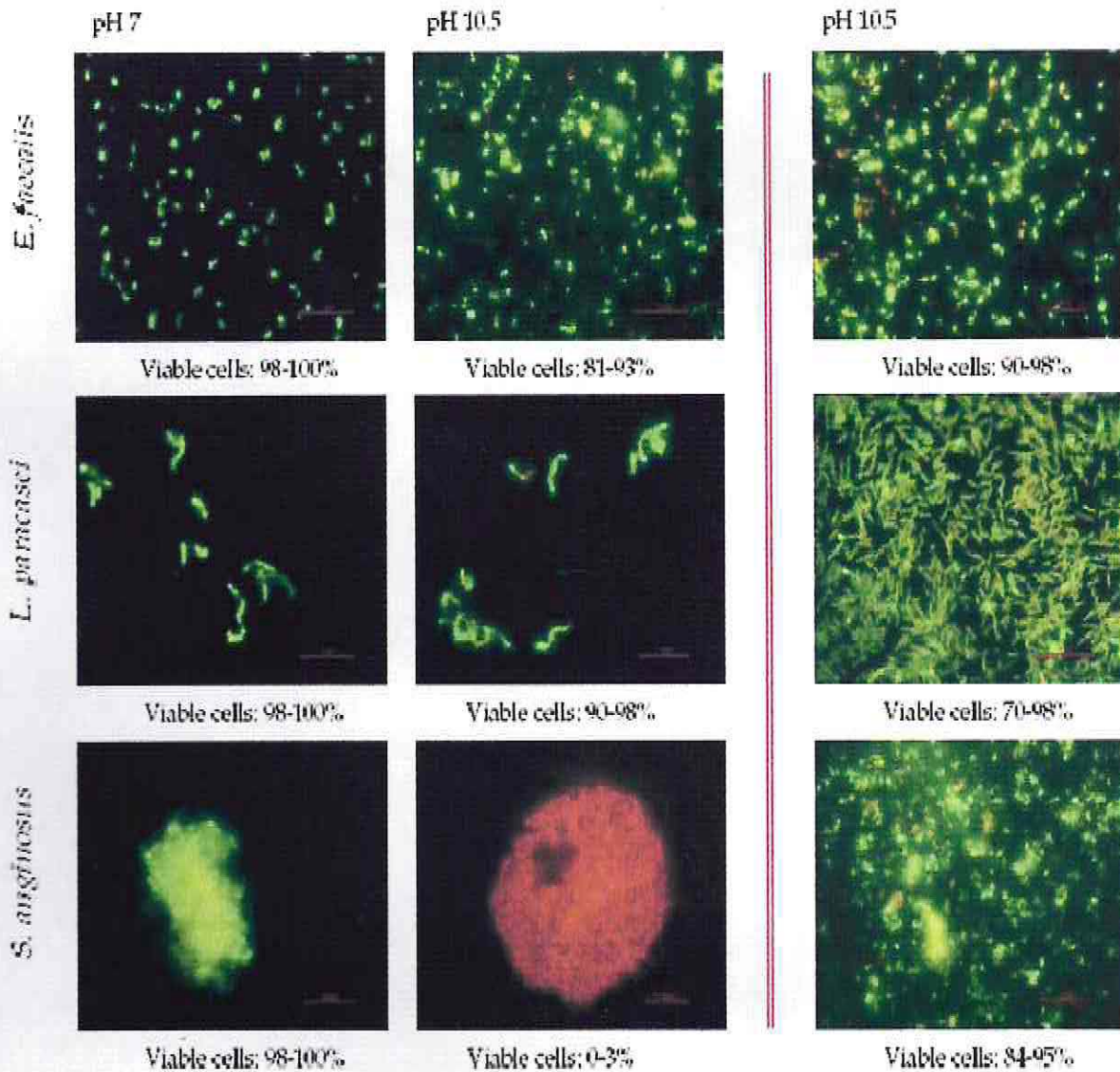


Figura 28. Microfotografías de fluorescencia usando tinción de fluorescencia Live/Dead (Vivo/Muerto) para la viabilidad bacteriana post-medición. Las células teñidas verde fluorescente representan células viables, mientras que las células teñidas rojo fluorescente son no-viables o dañadas. En la primera columna, las imágenes muestran células planctónicas de tres muestras del conducto radicular con medio neutro (pH 7). La columna de la mitad muestra células planctónicas después de exposición a pH 10.5 por 4 horas, y la columna derecha muestra células en bio-película expuesta a cambios alcalinos (pH 10.5) por 4 horas. Barras, 2 μ . Tomado de: *Chávez de Paz V. L.E., Journal of Endodontic. Volumen 33, Número 6, Junio 2007*

Es importante la utilización de medicamentos intra-conducto en aquellos casos donde éste ha permanecido por largo tiempo expuesto al medio bucal, o donde es evidente la presencia de lesiones apicales activas y también cuando se sospecha un largo tiempo de cronicidad.

Muchos autores y clínicos han debatido la realización de tratamientos de conductos en una sola sesión. Explicando la probabilidad de contaminación e infecciones entre sesiones.

Otros defienden la necesidad de medicación como una medida que complementa la acción antimicrobiana buscada durante el tratamiento.

"He aquí la lucha sin cuartel entre bárbaros apicales (endodoncias en una sesión y violación de contricción apical y amantes pulpares (respeto del muñón pulpar y sesión de medicación si fuese necesario)". (113)

En este punto, los estudios y de los resultados basados en evidencias clínicas, han encontrado, que el uso de medicamentos intra-radicular verdaderamente disminuye y/o neutraliza la acción bacteriana y de este modo puede ofrecer un mejor resultado en el control bacteriológico interno del conducto radicular.

Por lo tanto, ante la complejidad anatómica del sistema de conductos, y las limitaciones inherentes al acceso de instrumentos e irrigantes, la medicación intra-conducto puede ayudar a eliminar las bacterias residuales que han sobrevivido a la preparación biomecánica.

Dentro de la gama de medicamentos intra-conducto que existen en la actualidad, son aquellos a base de hidróxido de calcio y clorhexidina los que están siendo más estudiados y utilizados y con mayor reporte de literatura.

Estudios actuales han reportado algunas limitaciones para estos medicamentos. Microorganismos como *Enterococcus Faecallis* y *Cándida Albicans* poseen una alta resistencia a la acción antimicrobiana del hidróxido de calcio, por su capacidad de sobrevivir en medios donde el pH es muy básico.

En el caso de la clorhexidina, que tiene un efecto antibacteriano de amplio espectro (con más efectividad sobre gérmenes gram positivos que para gram negativos) y que actúa por la disrupción de la membrana de la célula microbiana, actuando con un pH entre neutro con tendencia a ser básico (5.5 a 7.0), se observa que posee facultades anti-microbianas similares al hidróxido de calcio, pero presenta inconvenientes en su manipulación, menor acción anti-fúngica, puede ser neutralizada en presencia de surfactantes iónicos, aniones inorgánicos (fosfato, nitrato o cloro) y otras sustancias (47).

El Biofilm endodóntico y su organización "*in situ*" que lo hace "impermeable", representa un reto para la acción de medicamentos intra-conducto.

Lee Y. y cols., 2008 analizaron el efecto antimicrobiano de un dispositivo de liberación controlada de clorhexidina (PCRD). Los autores encontraron que estos dispositivos pueden ser

efectivos contra *E. Faecallis* y *Cándida Albicans*; además que permitían una fácil colocación del dispositivo a lo largo del conducto radicular (47).

Blanscet M. L. y cols., 2008, (6) describen que el hidróxido de calcio posee características antibacterianas y anti-fúngicas, con capacidad de disolución de tejidos, y reparación de perforaciones dentarias; además del control de lipopolisacáridos bacterianos (LPS). Los autores reportaron que a mayor concentración de la pasta de hidróxido de calcio, más eficaz era la acción antimicrobiana. (6)

Baik J. E., y cols, 2008, (2) mostraron que el hidróxido de calcio posee una efectiva acción sobre los factores de virulencia y endotoxinas tanto de bacterias gram negativas como gram positivas (Lipopolisacárido y el ácido lipoteicoico). Los investigadores también manifiestan que el tiempo eficaz para inactivar bacterias como el *E. Faecallis* se encuentra alrededor de los 100 minutos.

Un estudio reciente observó el crecimiento del Biofilm sobre dentina y su comportamiento ante la exposición frente a antibióticos (58). Se comparó la efectividad de una medicación intra-conducto con diferentes antibióticos: penicilina, tetraciclina, clindamicina, doxiciclina, en diferentes concentraciones. Encontraron que este tipo de medicación colocada directamente sobre el conducto radicular, no representa una acción antibacteriana significativa. Tampoco produjo efecto alguno sobre las colonias del Biofilm (58).

Otro estudio mostró que el uso de antibióticos al interior de los conductos radiculares no tiene efecto antimicrobiano sobre la *Cándida Albicans* (77).

“Quisiera mencionar y destacar, que actuales estudios en el planeta (al año 2009), mencionan nuevamente como excelentes agentes de medicación intraconducto entre sesiones refractarias al tratamiento, a los antiguos agentes químicos paramonoclorofenol alcanforado y formocresol, con sus defectos y sus virtudes”. (113)

Así, la medicación intra-conducto, es un tema de continuo debate. Donde en la particularidad de cada caso clínico se halla la respuesta para su aplicación u omisión.

DISCUSIÓN

Nuestros pacientes o nuestros inter-consultores, confían en nuestro criterio, conocimiento y destreza para abordar desde un caso endodóntico simple hasta uno más complejo y difícil.

Es nuestra obligación y responsabilidad escudriñar continuamente en el saber. Conocer los nuevos desafíos y las nuevas estrategias para ser abordados.

“Tenemos el deber ético y moral de estar siempre preparados ante cualquier evento y poder resolverlo con la capacidad adecuada o saber derivar oportunamente, cuando nuestra capacidad se siente sobrepasada”. E. Santamaría M. 2009

El éxito de un tratamiento endodóntico comienza realizando un diagnóstico acertado: *“no se ve lo que no se conoce”*; y se continúa con el desarrollo de un plan de tratamiento realizado con responsabilidad y sano criterio.

Para lograr el éxito en el tratamiento endodóntico de dientes comprometidos con Biofilm, se requiere del manejo conceptual y práctico de los procedimientos endodónticos.

No podemos eliminar procesos infecciosos, si no conocemos el comportamiento de quienes lo ocasionan, las reacciones del hospedero y el mecanismo de acción de las formas mecánicas y químicas usadas para su erradicación.

Desde sus inicios, la endodoncia ha buscado herramientas que le permitan controlar los procesos infecciosos, revertir enfermedades y prolongar la vida útil de un diente funcional y asintomático.

A medida que la tecnología va avanzando, ha sido posible escudriñar en el comportamiento microbiológico llegando a conocer su capacidad de adaptación y de resistencia y actualmente su organización a manera de Biofilm.

Esta forma de colonización que ya era conocida en otros campos médicos, ha entrado a ser motivo de estudio y se le ha atribuido ser la causa de cuadros infecciosos que no ceden al tratamiento convencional de conductos.

Las bacterias y los procesos infecciosos pueden permanecer en el conducto radicular o en la zona periapical posterior a al tratamiento endodóntico y ocasionar el fracaso del mismo, a causa de tres factores:

- 1) Relacionados con el comportamiento bacteriano y anatómico (adhesión y penetración microbiana en los túbulos dentinarios, organizaciones de Biofilm bacteriano, factores anatómicos del conducto radicular y su periápice, etc.).
- 2) Factores relativos al operador (deficiencias del conocimiento, errores en el diagnóstico, pronóstico y plan de tratamiento, fallas en el abordaje clínico, etc.).

- 3) Factores propios del paciente (abandono del tratamiento, pacientes poco colaboradores, factores sistémicos, físicos y emocionales asociados y/o comprometidos, etc.).

A mayor conocimiento, preocupación y control de estos factores, mayor índice de éxito en los tratamientos.

Los microorganismos que permanecen en el segmento apical del conducto radicular, en deltas apicales, y en conductos laterales, podrían mantener infecciones crónicas con periodos de reagudización y/o en la “cronicidad perenne” por muchos años. Como esta bacteria está en contacto directo con los tejidos peri-radicales, posee a una fuente sostenible de sustancias nutritivas y puede mantener la inflamación en esa zona y perjudicar de este modo la curación.

Se ha visto que este tipo de bacterias más que permanecer en un estado planctónico, se encuentran organizadas a manera de Biofilm. Esto aumenta su supervivencia y dificulta su eliminación.

El tratamiento endodóntico puede eliminar la carga bacteriana o como es más usual, puede cambiar el ambiente (hábitat), modificar el entorno y romper la cadena de la enfermedad. Finalmente se altera la dupla conceptual salud- enfermedad.

Un tratamiento convencional de conductos (protocolo “iso”) puede eliminar o neutralizar un Biofilm endodóntico. Cuando esto no sucede y la infección persiste, se debe realizar un análisis sobre el abordaje realizado y la estrategia empleada y entonces, se debe re-tratar el conducto.

El retratamiento de un conducto que ha tenido un mal abordaje clínico, puede corregir dichos errores, brindar una mejor desinfección y culminar en un éxito programado. Si la falla en el abordaje clínico no puede ser corregida con el nuevo tratamiento (por ej. zonas anatómicas inaccesibles), éste debe ser complementado con un procedimiento quirúrgico.

Si aparentemente no existen fallas en el tratamiento realizado (este argumento sólo puede ser utilizado cuando el tratamiento ha sido realizado personalmente y se conoce el caso desde un comienzo), y la infección aún persiste, es muy probable que el retratamiento no mejore esta situación y deba ser complementado quirúrgicamente. Aún así debiera intentarse modificar alguna estrategia, si el criterio así lo exige.

El Biofilm intra-conducto, puede ser eliminado mecánicamente mediante una ampliación por medio de una preparación biomecánica rigurosa, algo más exhaustiva (54). Para la eliminación de Biofilm extra-radicular o peri-radicular puede requerirse de una intervención endodóntica-quirúrgica o quirúrgico-endodóntica (64-57).

El *Enterococcus Faecalis* presente en los conductos radiculares y asociado con infecciones rebeldes y persistentes, desde hace un tiempo, ha causado bastante interés entre los investigadores.

E. Faecallis se ha hecho el microorganismo ideal para probar diferentes soluciones irrigantes, medicamentos intra-conductos y soluciones antisépticas aplicadas en procedimientos endodónticos.

Todos estos estudios se han realizados con un perfil *in vitro* y han revelado que dicha bacteria gram positiva, posee una capacidad de resistencia innata y un comportamiento penetrante y adhesivo.

Este gran interés demostrado sobre el *E. Faecallis*, quizás relacionado por su capacidad de crecer en casi cualquier condición de laboratorio, causó el concepto inicial de que era un agente exclusivo en la etiología de las infecciones crónicas endodónticas. Por consiguiente, la excesiva atención sobre el *E. Faecallis* mantuvo un sesgo de información sobre la existencia de otros organismos paralelos en infecciones endodónticas que consiguen características de tolerancia similares al *E. Faecallis*.

Este concepto inicial malentendido, cambia radicalmente con el conocimiento global de las infecciones poli-microbianas (también llamadas multi-microbianas) y Biofilms Bacterianos conformados por diferentes tipos de microorganismos.

Los estudios *in vitro* en los cuales se analizan los diferentes procedimientos, técnicas y materiales endodónticos, en los que se usan cepas de *E. Faecallis*, como “germen piloto”, han descrito minuciosamente la patogénesis y virulencia de esta bacteria.

El *E. Faecallis* es una bacteria cocócea, gram positiva, anaerobia, facultativa, inmóvil y no esporulada.

El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros y es habitante normal del tracto gastrointestinal humano. Esta bacteria ha atraído recientemente la atención de diversos académicos, investigadores y especialistas porque ha sido identificada como una causa frecuente de infecciones periapicales persistentes.

Una característica notable del *E. Faecallis* la constituye su capacidad para sobrevivir y crecer en micro-ambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales (6,5% de cloruro de sodio), temperaturas extremas (15-60°C), pudiendo resistir además a la acción de colorantes como azul de metileno al 0,1%.

Esta capacidad de resistencia por parte de *E. Faecallis* en un micro-ambiente tóxico, está relacionada con su capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que ya han sido sometidos a tratamiento endodóntico y en los cuales los nutrientes son muy limitados.

En este mismo sentido, y a la luz de infecciones poli-microbianas, se ha investigado la presencia de hongos en infecciones persistentes.

La especie de *Cándida Albicans*, es la más comúnmente encontrada en la cavidad oral, tanto de individuos sanos como en aquellos que se encuentran comprometidos con alguna patología sistémica.

La *Cándida Albicans* es considerada un patógeno versátil, mutable e inestable. Esta versatilidad está relacionada con su capacidad de sobrevivir como comensal en diversos sitios anatómicos, topografía en territorios extremos fisiológicos como lo es por ejemplo el pH variable.

La *Cándida Albicans*, posee moléculas superficiales que median la adhesión a tejidos, incluidos aquellos que poseen un receptor homólogo como la *integrina CR3*, *fibrinógeno*, *fibronectina* y *laminina*, entre otros.

Este patógeno tiene la capacidad de ligar células epiteliales además de colágeno tipo I y IV, entre otros tejidos.

Algunas especies de *Cándida* han sido visualizadas co-agregadas con bacterias tales como *Fusobacterium Nucleatum*, *Cándida Tropicalis*, *Streptococcus Gordonii*, *Actinomyces* y *E. Faecallis*.

La virulencia y patogenicidad de la *Cándida Albicans* ha sido comparada con el *E. Faecallis*, en relación a su adhesión, resistencia, persistencia, formación de Biofilm, etc.

Al respecto se ha visto que poseen características similares de resistencia, además de su comportamiento ante cambios ambientales naturales o provocados.

La *Cándida Albicans*, al igual que el *E. Faecallis* posee una aumentada resistencia a la terapia tópica con hidróxido de calcio.

- La *Cándida Albicans* puede usar los iones de Ca^{++} liberados por el hidróxido de calcio como un factor necesario para su crecimiento y morfogénesis. Esta puede ser una de las razones de la ineficacia del hidróxido de calcio ante la *Cándida Albicans*.

Sin embargo, se ha hecho notar que las acciones terapéuticas realizadas en un tratamiento convencional de endodoncia pueden controlar las infecciones primarias o persistentes colonizadas por hongos.

- Recientes estudios han coincidido que una medicación intra-radicular será efectiva ante especies como *Cándida Albicans* y *E. Faecallis*, cuando ésta permanezca en contacto con el micro-organismo, por un periodo mínimo de 1 hora 30 minutos.

Especies como la *Cándida Albicans* y *E. Faecallis*, son identificados mediante técnicas de PCR. Ha generado cierta controversia el hecho que, la técnica de PCR basa su lectura en la lectura del ADN bacteriano, pero no determina la supervivencia de la bacteria al momento de ser leída. Esto ha generado inquietud ante la posibilidad de tomar muestras donde se incluyan bacterias activas e inactivas que no son diferenciadas por esta técnica. La PCR, únicamente las identifica. Esto ha empezado a ser motivo de atención de investigadores.

El Quórum Sensing, desde el punto de vista endodóntico, ha sido relacionado con el crecimiento bacteriano, formación de Biofilm, persistencia de infecciones y cambios morfo-genéticos en grupos bacterianos.

Este fenómeno es el responsable de que un conjunto de células independientes, bajo la generación de señales extra-celulares, desarrolle comportamientos sociales coordinados, creando un patrón de multi-celularidad y formación de colonias.

Diferentes teorías han tratado de explicar cómo se relaciona la persistencia de bacterias post-tratamiento con el fracaso de éste. Se conoce que la ausencia de microorganismos es compatible con salud periapical, pero no necesariamente su presencia es sinónimo de enfermedad.

Es claro también que el *Quórum Sensing*, brinda a diferentes grupos celulares la capacidad de organizarse y formar colonias de Biofilm que son más resistentes a las técnicas de erradicación. En otras áreas de la Odontología, como la Periodoncia, la eliminación del Biofilm bacteriano se realiza principalmente con el uso de medios mecánicos que se complementan con sustancias antibacterianas.

Esto nos hace pensar, que ante la presencia de Biofilm periapical, donde hasta el momento es imposible el acceso mecánico intra-conducto, eventualmente sería necesario un abordaje quirúrgico extra-conducto, para su eliminación total. Esto sería necesario en casos de lesiones que persisten y no ceden a la terapia convencional del conducto.

Teniendo en cuenta que la mayoría de las infecciones endodónticas intra y extra-radicales son erradicadas con el abordaje intra-conducto, ya sea por la eliminación bacteriana, o por los cambios en el ambiente que la inhabilitan: si un conducto radicular ha sido tratado correctamente y la infección persiste, sólo el abordaje extra-radicular puede revertir la infección mantenida.

- Últimamente, se ha hablado de materiales de obturación radicular con nano-partículas anti-bacterianas que continúen actuando aun después del sellado final del conducto (61). Éste concepto todavía es materia de investigación y podría brindar una nueva opción para el manejo de bacterias, principalmente gram positivas, que tienen una mayor tasa de resistencia a la preparación biomecánica, medicación tópica e irrigación y a las mismas técnicas de obturación radicular.

Se ha comprobado, que el uso de antibióticos dentro del conducto, tiene poca acción en la eliminación de Biofilm endodóntico, y que su uso puede ser más vulnerable a los cambios en la resistencia bacteriana como lo fue en el pasado.

- En la actualidad, cada vez más, se relaciona el fracaso endodóntico con la presencia de Biofilm bacteriano... dando lugar a muchos campos para futuras investigaciones relacionadas tanto con infecciones propiamente endodónticas como endo-periodontales y peri-endodónticas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agani G., Tricot-Doleux S., Houalet S., Bonnaure-Mallet M. (2003).. Epithelial cell surfaces involved in the polyvalent adherence of *Porphyromonas gingivalis*: a convincing role for neuraminic acid and glucuronic acid. *Infect Immun*, 71: 991–996.
2. Baik J. E., Kum K-Y., Yun C-H., Lee J-K. Lee K., Kim K. K., y Han S. H. (2008).. Calcium Hydroxide Inactivates Lipoteichoic Acid from *Enterococcus faecalis*. *J Endod*; 34:1355–1359.
3. Bergenholtz G., Dahle' n G. (2004).. Advances in the study of endodontic infections: introduction. *Endodontic Topics*, 9: 1–4.
4. Belton C.M., Izutsu K.T., Goodwin P.C., Park Y., Lamount R.J. (1999).. Fluorescence image analysis of the association between *Porphyromonas gingivalis* and gingival epithelial cells. *Cell Microbiol*, 1: 215–223.
5. Beyenal, H. C., Donovan, Z. Lewandowski., y Harkin G. (2004).. Threedimensional biofilm structure quantification. *J. Microbiol. Methods* 59:395–413.
6. Blanscet M. L., Tordik P. A., y Goodell G. G. (2008). .An Agar Diffusion Comparison of the Antimicrobial Effect of Calcium Hydroxide at Five Different Concentrations with Three Different Vehicles. (*J Endod*, 34:1246–1248
7. Bolstad A.I., Jensen H.B., Bakken V. (1996).. Taxonomy, biology and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clin Microbiol Rev*, 9: 55–71.
8. Brook I. (1994).. The role of encapsulated anaerobic bacteria in synergistic infections. *FEMS Microbiol Rev*, 13: 65–74.
9. Brook I., Gillmore J.D., Coolbaugh J.C., Walker R.I. (1983).. Pathogenicity of encapsulated *Bacteroides melaninogenicus* group, *B. oralis* and *B. ruminicola* subsp. *Brevis* in abscesses in mice. *J Infect*, 7: 218–226.

10. Byström A., Happonen RP., Sjogren U., Sundqvist G. (1987).. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. *Endod Dent Traumatol*, 3:58–63.
11. Byström A., Sundqvist G. (1985)..The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy. *Int Endod J*, 18:35– 40.
12. Byström A., Claesson R., Sundqvist G. (1985).. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol*, 1:170 –5.
13. Ciardi J.E., Rolla G., Bowen W.H., Reilly J.A. (1977).. Adsorption of *Streptococcus mutans* lipoteichoic acid to hydroxyapatite. *Scand J Dent Res*. 85:387–91.
14. Chávez de Paz LE. (2007).. Redefining the Persistent Infection in Root Canals: Possible Role of Biofilm Communities. *J Endod*, 33:652– 66
15. Chávez de Paz L.E., Bergenholtz G., Dahlén G., Svensäter G. (2006).. Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms. *Int Endod J* 2006.
16. Chávez de Paz L. E. (2009).. Image Analysis Software Based on Color Segmentation for Characterization of Viability and Physiological Activity of Biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 1734–1739
17. Clewell D.B., Francia M.V. (2004).. Conjugation in gram-positive bacteria. In: Funnell BE, Phillips GJ, eds. *Plasmid biology*. Washington, DC: ASM Press, 227–56.
18. Dahle'n G., Fabricius L., Heyden G., Holm S., Mo'ller A. (1982).. Apical periodontitis induced by selected bacterial strains in root canals of immunized and nonimmunized monkeys. *Scand J Dent Res*, 90: 207–216.
19. Darveau R.P., Arbabi S., Garcia I., Bainbridge B., Maier R.V. (2002).. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide is both agonist and antagonist for p38 mitogen-activated protein kinase activation. *Infect Immun*, 70: 1867–1873.
20. Davis S.R., Brayton S. M., Goldman M. (1972).. The morphology of the prepared root canal. *Oral Surg* 34: 642-8
21. Díaz A. C. (2008).. Aspectos relevantes de *Enterococcus Faecalis* y su participación en las infecciones de origen endodóntico. Web
22. Dorn B.R., Leung K.L., Progulsk-Fox A. (1998).. Invasion of human oral epithelial cells by *Prevotella intermedia*. *Infect Immun*, 66: 6054–6057.
23. Dorland WAN. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*, 30th edn. Philadelphia, PA: WB Saunders Co.

24. Duggan J. M., Sedgley C. M. (2007).. Biofilm formation of oral and endodontic *Eterococcus faecalis*. J Endod, 33: 815– 818
25. Fava L. (1983).. The double-flared technique: An alternative for biomechanical preparation J. Endod. 9: 76-80
26. Fabretti F., Theilacker C., Baldassarri L. (2006).. Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides. Infect Immun. 74:4164 –71.
27. Fabricius L., Dahlén G., Sundqvist G., Happonen RP., Möller AJR. (2006).. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. Eur J Oral Sci, 114:278–85.
28. Fujihara M., Muroi M., Tanamoto K., Suzuki T., Azuma H., Ikeda H. (2003).. Molecular mechanisms of macrophage activation and deactivation by lipopolysaccharide: roles of the receptor complex. Pharmacol Ther. 100:171–94.
29. Gillece-Castro B.L., Prakobphol A., Burlingame A., Leffler H., Fisher S.J. (1991).. Structure and bacterial receptor activity of a human salivary prolin rich glycoprotein. J Biol Chem, 266: 17358–17368.
30. Godoy J., Caneppe G., Embry M. (2007).. Periodontal Biofilms: Knowledge of its Structure and Dynamics, Rev Chil Period Oseoint, 4 (2): 3-10.
31. Goldman M., White R.R., Moser Ch. R., y Tenca J. I. (1988).. A comparison of three methods of cleaning and shaping root canal in vitro. J. Endod. 14: 7-12.
32. Gomes B.P.F.A., Jacinto RC., Pinheiro ET. (2006).. Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. J Endod , 32:937– 40.
33. Haapasalo M., Udnaes T., Endal U. (2003).. Persistent, recurrent, and acquired infection of the root canal system posttreatment. Endod Topics, 6: 29–56.
34. Haapasalo M., Qian W., Portenier I., Waltimo T. (2007).. Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments. J Endod , 33:917–25.
35. Habelitz S., Balooch M., Marshall S.J., Balooch G., Marshall G.W Jr. (2002).. In situ atomic force microscopy of partially demineralized human dentin collagen fibrils. J Struct Biol, 138:227–36.
36. Haikel Y., y Allemann Cla. (1988).. Effectiveness of four methods for preparing root canals: A scanning electron microscopic evaluation. J. Endod. 14:340-345

37. Han S.H., Kim J.H., Seo HS. (2006).. Lipoteichoic acid-induced nitric oxide production depends on the activation of platelet-activating factor receptor and Jak2. *J Immunol*. 176:573–9.
38. Isogai E., Hirose K., Fujii N., Isogai H. (1992).. Three types of binding by *Porphyromonas gingivalis* and oral bacteria to fibronectin, buccal epithelial cells and erythrocytes. *Arch Oral Biol*, 37: 667–670.
39. Jayaram M., Mehta S., Uzri D., Velmurugan S. (2004).. Segregation of the yeast plasmid: similarities and contrasts with bacterial plasmid partitioning. *Plasmid*, 51:162–78.
40. Jung I.Y., Choi B.K., Kum K.Y. (2001).. Identification of oral spirochetes at the species level and their association with other bacteria in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 92:329–34.
41. Kayaoglu G., Orstavik D. (2004).. Virulence factors on *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med*, 15: 308-320.
42. Kelstrup J., Theilade J., Fejerskov O. (1979).. Surface ultrastructure of some bacteria. *Scand J Dent Res*, 87: 415–423.
43. Khemaleelakul S., Baumgartner JC., Pruksakom S. (2006).. Autoaggregation and coaggregation of bacteria associated with acute endodontic infections. *J Endod*, 32:312– 8.
44. Kishen A., Sum C-P., Mathew S., y Chwee-Teck L. (2008).. Influence of Irrigation Regimens on the Adherence of *Enterococcus faecalis* to Root Canal Dentin. *J Endod*, 34:850 – 854
45. Laine M.L., Appelmelk B.J., van Winkelhoff AJ. (1997).. Prevalence and distribution of six capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis patients. *J Dent Res*, 76: 1840–1844.
46. Lewis K. (2001)..The riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 45: 999–1007.
47. Lee Y., Han S., H Hong S., Lee J.K., y Kum K.Y. (2008).. Antimicrobial Efficacy of a Polymeric Chlorhexidine Release Device Using *In Vitro* Model of *Enterococcus faecalis* Dentinal Tubule Infection. *J Endod*, 34:855– 858
48. Lomcali G., Sen BH., Cankaya H. (1996) Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol*, 12: 70–76.

49. Marshall GW Jr., Balooch M., Tench R.J, Kinney J.H., Marshall S.J. (1995).. Atomic-force microscopy of conditioning agents on dentin. J Biomed MaterRes, 29:1381-7.
50. McGurkin-Smith R., Trope M., Caplan D., Sigurdsson A. (2005).. Reduction of intracanal bacteria using GT rotary instrumentation, 5.25% NaOCl, EDTA, and Ca(OH)₂. J Endod, 31:359-63.
51. Makinen P.L., Clewell D.B., An F., Mäkinen K.K. (1989).. Purification and substrate-specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ("gelatinase") from *Streptococcus-faecalis* (Strain 0g1-10). J Biol Chem, 264:3325-34.
52. Molven O., Olsen I., Kerekes K. (1991).. Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. Endod Dent Traumatol, 7: 226-229.
53. Nallapareddy S.R., Qin X., Weinstock G.M., Höök M., Murray B.E. (2000).. *Enterococcus faecalis* adhesin, ace, mediates attachment to extracellular matrix proteins collagen type IV and laminin as well as collagen type I. Infect Immun , 68:5218 -24.
54. Nair P.N.R., Henry S., Cano V., Vera J. (2005).. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 99:231-52.
55. Nair P.N.R. (1987).. Light and electron microscopic studies on root canal flora and periapical lesions. J Endod, 13:29-39.
56. Nair P.N., Sjögren U., Krey G., Kahnberg K.E., Sundqvist G. (1990).. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endod, 16: 580-8.
57. Noiri Y., Ehara A., Kawahara T., Takemura N., Ebisu S. (2002).. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. J Endod. 28:679-83.
58. Norrington D. W., Ruby J., Beck P., and Eleazer P. D., (2008).. Observations of biofilm growth on human dentin and potential destruction after exposure to antibiotics. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 105:526-9
59. Olsen I., Dahle ' n G. (2004).. Salient virulence factors in anaerobic bacteria, with emphasis on their importance in endodontic infections. Endodontic Topics, 9: 15-26

60. Orstavik D. (2003).. Root canal disinfection: a review of concepts and recent developments. *Aust Endod J*, 29:70–4.
61. Okishen Anil., Shi Zhilong, Annie Shrestha., y Neoh Koon Gee. (2008).. An Investigation on the Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Cationic Nanoparticulates for Root Canal Disinfection. *J. Endod*; 34: 1515–1520
62. Plotino G., Pameijer C. H., Grande N. M., y Somma F. (2007).. Ultrasonics in Endodontics: A Review of the Literature. *J Endod* , 33: 81–95.
63. Ruff, M. L., McClanahan S. B, and. Babel B. S. (2006).. *In Vitro* Antifungal Efficacy of Four Irrigants as a Final Rinse. *J Endod*, 32:331–333.
64. Ricucci D., Martorano M., Bate A.L., Pascon E.A. (2005).. Calculus-like deposit on the apical external root surface of teeth with post-treatment apical periodontitis: report of two cases. *Int Endod J*, 38:262–71.
65. Sakamoto M., Rôças IN., Siqueira JF Jr., Benno Y. (2006).. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol*, 21:112–22.
66. Sassone L. M., Rivail A. F., Favari M., Guerra R., Figueiredo L., Fidel S. R., and Magda Feres. (2008).. A Microbiological Profile of Symptomatic Teeth with Primary Endodontic Infections. *J Endod*, 34:541–545.
67. Sassone L., Fidel R., Figueiredo L., Fidel S., Favari M., Feres M. (2007).. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA-DNA hybridization. *Oral Microbiol Immunol*, 22:390 –7.
68. Saunders W.P., Saunders E.M. (1994).. Coronal leakage as a cause of failure in root canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol*, 10: 105–108.
69. Sena, N. T., Gomes, B. P. F. A., Vianna, M. E., Berber, V. B., Zaia, A. A., Ferraz, C. C. R. y Souza-Filho, F. J. (2006).. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species Biofilms. *International Endodontic Journal*, 39, 878–885.
70. Sedgley C., Nagel A., Dahlén G., Reit C., Molander A. (2006).. Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals. *J Endod*, 32:173–7.
71. Sedgley C. M., Sotavento E. H., Martin J., y Flannagan S. E. (2008).. Antibiotic Resistance Gene Transfer between *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis* in Root Canals of Teeth Ex Vivo. *Endod*. 34:570 –574

72. Sedgley C., Nagel A., Dahlén G., Reit C., Molander A. (2006).. Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction and Culture Analyses of *Enterococcus faecalis* in Root Canals. *J Endod*, 32: 173-7.
73. Sedgley C., Buck G., Appelbe O. (2006).. Prevalence of *Enterococcus faecalis* at multiple oral sites in endodontic patients using culture and PCR. *J Endod*, 32: 104-9.
74. Shabahang S., Pouresmail M., Torabinejad M. (2003).. In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite. *J Endod*, 29:450 -2.
75. Shani S., Friedman M., Steinberg D. (2000).. The anticariogenic effect of amine fluorides on *Streptococcus sobrinus* and glucosyltransferase in biofilms. *Caries Res*, 34: 260-267.
76. Shah H.N., Gharbia S.E., Olsen I. (2005).. *Bacteroides*, *Prevotella* and *Porphyromonas*. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Bacteriology. London: Edward Arnold, 10: 1913-1944.
77. Siqueira, J. F Jr., and. Sen, B. H. (2004).. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 97:632-41.
78. Siqueira J.F Jr., Rôças IN. (2003).. *Treponema socranskii* in primary endodontic infections as detected by Nested PCR. *J Endod*, 29:244 -7.
79. Siqueira J.F Jr., Rôças IN. (2003).. Detection of *Filifactor alocis* in endodontic infections associated with different forms of periradicular diseases. *Oral Microbiol Immunol*, 18:263-5.
80. Siqueira J.F Jr., Rôças I.N., Rosado AS. (2004).. Investigation of bacterial communities associated with asymptomatic and symptomatic endodontic infections by denaturing gradient gel electrophoresis fingerprinting approach. *Oral Microbiol Immunol*, 19: 363-70.
81. Siqueira J.F Jr., Rôças I.N. (2005).. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: part 1-current molecular technologies for microbial diagnosis. *J Endod*, 31:411-23.
82. Siqueira J. F. Jr., y Rôças I N.(2008).. Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures. *J Endod*, 34:1291-1301.
83. Siqueira JF Jr. (2001).. Strategies to treat infected root canals. *J Calif Dent Assoc*, 29:825-37.
84. Siqueira JF Jr., Rôças IN., Paiva SS., Guimarães-Pinto T., Magalhães KM., Lima KC. (2007).. Bacteriologic investigation of the effects of sodium hypochlorite and

chlorhexidine during the endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 104:122–30.

85. Sjögren U., Hagglund B., Sundqvist G., Wing K. (1990).. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod*, 16:498–504.
86. Sjögren U., Figdor D., Persson S., Sundqvist G. (1997).. Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*, 30:297–306.
87. Sorensen S.J., Bailey M., Hansen LH., Kroer N., Wuertz S. (2005).. Studying plasmid horizontal transfer in situ: a critical review. *Nat Rev Microbiol*, 3:700–10.
88. Spangberg L.S.W. (2008).. Endodontic treatment of teeth without apical periodontitis. In: Ørstavik D, Pitt Ford T, eds. *Essential Endodontology*. 2nd ed. Oxford, UK: Blackwell Munksgaard Ltd, 316–46.
89. Stenman E., Spngberg L. (1982).. Machining efficiency of endodontic K files and Hedstrom files *J. Endod*. 16: 375-382.
90. Sundqvist G. (1992).. Ecology of the root canal flora. *J Endod*, 18: 427–30.
91. Sundqvist G., Figdor D., Persson S., Sjögren U. (1998).. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 85: 86–93.
92. Tung B., Bui J., Craig Baumgartner (2009).. Evaluation of the interaction between sodium hypochlorite and chlorheidine gluconate and its effect on root dentin. *Journal Endod*. 34: 181-184.
93. Sundqvist G., Figdor D. (1998).. Endodontic treatment of apical periodontitis. In: Ørstavik D, Pitt Ford T, eds. *Essential Endodontology*. Oxford: Blackwell Science Ltd, 242–77.
94. Sussman O. A., Mattos R., Restrepo A. (2000).. Resistencia Bacteriana, Web.
95. Svenskaˆter G., Bergenholtz G. (2004).. Biofilms in endodontic infections. *Endodontic Topics*, 9: 27–36.
96. Torabinejad M., Khademi AA., Babagoli J (2003).. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod*, 29:170–5.
97. Tronstad L., Barnett F., Riso K., Slots J. (1987).. Extraradicular endodontic infections. *Endod Dent Traumatol*, 3:86–90.

98. Tronstad L., Barnett F., Cervone F. (1990).. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol*, 6: 73–77.
99. VanWinkelhoff A.J., Appelmek BJ., Kippuw N., de Graaff J. (1993).. K-antigens in *Porphyromonas gingivalis* are associated with virulence. *Oral Microbiol Immunol*, 8: 259–265.
100. Vianna M.E., Horz H.P., Gomes B.P., Conrads G. (2006).. *In vivo* evaluation of microbial reduction after chemo-mechanical preparation of human root canals containing necrotic pulp tissue. *Int Endod J*, 39:484 –92.
101. Waltimo T.M., Sire'n E.K., Torkko H.L., Olsen I., Haapasalo M.P. (1997).. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J*, 30:96-101.
102. Waltimo T.M., Sire'n EK., Ørstavik D., Haapasalo M.P. (1999).. Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide *in vitro*. *Int Endod J*, 32:94-8.
103. Weine F., Kelly R. F., y Lio P.J. (1975).. The effect of preparation procedures on original canal shape and on apical foramen shape. *J Endod*. 1: 255-262.
104. Wicken A.J., Knox K.W. (1975).. Lipoteichoic acids: a new class of bacterial antigen. *Science*. 187:1161–7.
105. Xie H., Gibbons R.J., Hay DI. (1991).. Adhesive properties of strains of *Fusobacterium nucleatum* of the subspecies *nucleatum*, *vincentii* and *polymorphum*. *Oral Microbiol Immunol*, 6: 257–263.
106. Zehnder M. (2006).. Root canal irrigants. *J Endod* , 32:389 –98.
107. WWW.WIPIEDIA.COM
108. Walton y Torabinejad. (1997), Evaluación de éxitos y fracasos. *Endodoncia. Principios y práctica*. Editorial McGraw-Hill. Capítulo 19
109. Soares I. J., Goldberg F. (2002), El escenario. *Endodoncia. Técnica y fundamentos*. Editorial Médica Panamericana S.A. Capítulo 1
110. Zamora G. (2008).. Seminario, Microbiología Endodóntica. Univ. Valp.
111. Meléndez M. y cols, (2007), Microbiología de los procesos endodónticos. *Microbiología Oral*. Capítulo 5
112. Gonzáles M. C., (2006) Caries-status on Colombian patients with cleft lip palate: visual examination using the ICDAS criteria. *Fasc*. 40: 335 – 335.

113. Santamaría M. E., Conferencia SOPECH, V Región CHILE, 2009.