UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

E.A.P. DE ODONTOLOGÍA

Identificación del *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales, y su susceptibilidad a la clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de sodio al 1% y al 5%

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Carola Maria Ariza Villanueva

Lima – Perú

2013

JURADO DE SUSTENTACIÓN

PRESIDENTE: C.D. Jaime Alberto Sánchez García

MIEMBRO: Blgº Elba Estefanía Martínez Cadillo

MIEMBRO ASESOR: Mg C.D. Mercedes Rita Salcedo Rioja

A Dios por darme todo lo que tengo y estar siempre presente en mi vida.

A mis padres Carmen y Pedro por su gran amor, esfuerzo y sacrificio para darme siempre lo mejor.

A mis hermanos Mari, Carla y Pedro gracias por preocuparse, por apoyarme, los quiero mucho.

A mis amigas por estar siempre conmigo y darme ánimos cuando más lo necesitaba, las quiero y llevo en mi corazón siempre.

AGRADECIMIENTOS

Quiero a agradecer de manera muy especial a todas las personas que con su apoyo y colaboración hicieron posible la realización de este proyecto.

A la Facultad de odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por darme la oportunidad de realizar este trabajo y darme el apoyo que necesitaba para la elaboración de este.

A mi asesora, Dra. Rita Salcedo Rioja por su confianza al aceptar trabajar en este proyecto, por todo su apoyo y consejos.

A mi jurado, Dra. Elba Martínez Cadillo, por su colaboración durante todo el proceso de ejecución y sus aportes en este trabajo.

A mi jurado Dr. Jaime Sánchez García por su paciencia, sugerencias y aportes en este proyecto.

Al Dr. Jhon Paul Mezarina Mendoza, con quien comencé este proyecto por su apoyo y confianza.

A los doctores de la Clínica de Odontopediatría de la Facultad de Odontología de la UNMSM por sus consejos y apoyo en la ejecución de este proyecto.

A todos los doctores de la Facultad de Odontología de la UNMSM que orientaron mis pasos durante mi formación profesional.

A Violeta y Helena del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM, por su colaboración durante la ejecución del proyecto.

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Resumen de las normalidades de cada irrigante……..... 57

TABLA 2: Resumen de efecto bactericida por compuesto frente a la bacteria *Fusobacterium nucleatum* ……... 64

TABLA 3: Comparación de halos de inhibición (mm). media y desviación estándar de cada irrigante frente al *Fusobacterium nucleatum* ……. 64

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICA 1: Gráfica de probabilidad de la Clorhexidina al 2% ……. 53

GRÁFICA 2: Gráfica de probabilidad del Hipoclorito de Sodio al 5% ……. 54

GRÁFICA 3: Grafica de probabilidad de la clorhexidina al 0,12% …….... 55

GRÁFICA 4: Gráfica de probabilidad del hipoclorito de sodio al 1% ……... 56

GRÁFICA 5: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* a la CHX 2% y al NaClO 5%..... 58

GRÁFICA 6: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* a la CHX 2% y al CHX 0,12% …….. 59

GRÁFICA 7: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* a la CHX 2% y al NaClO 1% ……. 60

GRÁFICA 8: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* al NaClO 5% y a la CHX 0,12% …….. 61

GRÁFICA 9: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* al NaClO 5% y al NaClO 1%..... 62

GRÁFICA 10: Comparación de la susceptibilidad del *F. Nucleatum* a la CHX 0,12% y al NaClO 1%..... 63

GRÁFICA 11: Comparación de halos de inhibición (mm). media y desviación estándar de cada irrigante frente al *Fusobacterium nucleatum* … 65

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN ……..…… 01

II. MARCO TEÓRICO ……. 02
2.1 Antecedentes ……..…….…. 02
2.2 Bases Teóricas ……... 13
2.3 Planteamiento del Problema…….. 37
2.4 Justificación ……. 38
2.5 Objetivos de la investigación …….. 39
2.6 Hipótesis ……... 40

III. MATERIALES Y MÉTODOS …… 41
3.1 Tipo de Estudio ……..…… 41
3.2 Población y Muestra …….. 41
3.3 Operacionalización de variables ……... 42
3.4 Materiales y Métodos …… 44
3.4.1 Procedimientos y Técnicas …… 44
3.4.2 Recolección de datos ……... 50

IV. RESULTADOS …… 52
V. DISCUSIÓN ……..…… 66
VI. CONCLUSIONES ……..…… 69
VII. RECOMENDACIONES ……. 70

RESUMEN …….. 71
BIBLIOGRAFÍA ..…… 73
ANEXOS ……..…… 80

IDENTIFICACIÓN DEL *Fusobacterium nucleatum* EN CONDUCTOS RADICULARES DE DIENTES DECIDUOS CON NECROSIS PULPAR Y LESIONES PERIAPICALES, Y SU SUSCEPTIBILIDAD A LA CLORHEXIDINA AL 0,12%, AL 2% E HIPOCLORITO DE SODIO AL 1% y al 5%.

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha habido grandes avances en el conocimiento de la etiología y la patogenia de las lesiones pulpares y periapicales. Actualmente se sabe que los microorganismos juegan un papel principal en la enfermedad inflamatoria de la pulpa y tejidos periapicales.

Antiguamente las técnicas para identificar los microorganismos no eran las mejores, especialmente para identificar los anaerobios, por lo que se creía que la presencia de microorganismos aerobios era mayor que la de anaerobios, ahora gracias a las nuevas técnicas de cultivo e identificación se puede afirmar que la flora en los conductos radiculares es polimicrobiana y que los microorganismos más prevalentes son lo anaerobios.

Es por esto que el tratamiento a tiempo y de manera adecuada lleva a la eliminación o disminución de los microorganismos de la cámara pulpar y conductos radiculares infectados, para así poder lograr una limpieza y desinfección que culmine en una evolución satisfactoria.

En nuestro país actualmente existe un alto índice de niños que padecen de caries dental y de estas un gran número de piezas dentarias ya presentan lesiones pulpares, una de ella es la necrosis pulpar, por esto en la presente investigación identificamos a uno de los principales causantes de esta, que es el *Fusobacterium nucleatum* y la sensibilidad que este presenta a algunos de los irrigantes más usados en la práctica odontológica, esto nos ayudará a poder planear un eficaz tratamiento, evitando la perdida de estas piezas dentarias.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Sato y cols. (1993)[1] este estudio se realizó con la finalidad de poder conocer la composición bacteriana de los conductos dentarios necróticos de dientes deciduos. Se tomó la muestra de 6 piezas dentales, de tales muestras se aislaron 276 bacterias. Se encontró que el 91% eran anaerobios estrictos; estos hallazgos sugieren que el entorno de pulpas necróticas en dientes deciduos humanos es anaeróbico y por lo tanto favorece el crecimiento de anaerobios. De los 251 anaerobios estrictos aislados se encontró al *Propionibacterium* en un 19%, al *Eubacterium* en un 17% y al *Fusobacterium* en un 13% y en menor porcentaje se encontró al *Bifidobacterium* en un 2%, *Lactobacillus* en un 1 % y a la *Vellionela* en un 0,7%.

Ohara P. y cols. (1993)[2] Este estudio fue realizado para determinar los efectos antibacterianos de varias soluciones irrigadoras en endodoncia, contra seis bacterias anaerobias seleccionadas. Los organismos se mezclaron por separado con diluciones de cada uno de los irrigantes en tubos que contenían caldo de tioglicolato líquido y permanecieron en contacto durante periodos específicos de tiempo antes de ser evaluado para el crecimiento. De los seis irrigantes probados, la clorhexidina parecía ser la sustancia antibacteriana más eficaz. El peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio y R.EDTA eran menos eficaces, mientras que el hidróxido de calcio y soluciones salinas resultaron ser totalmente ineficaces.

Spratt DA y cols. (2001)[3] El fin de este estudio fue investigar el efecto bactericida de cuatro agentes antimicrobianos contra las biopelículas de especies únicas derivadas de una amplia gama de cepas del conducto radicular. Biofilms de especies como: *Prevotella intermedia, Peptostreptococcus micros, Streptococcus intermedius, Fusobacterium nucleatum y Enterococcus faecalis* se generaron en los discos de filtro de membrana y se sometieron a 15 min o 1 h de incubación con

5 ppm plata coloidal, hipoclorito de sodio al 2,25% (NaClO), 0,2% de clorhexidina, 10% de yodo o solución salina tamponada con fosfato (PBS) como controles. La actividad antimicrobiana de los agentes se neutralizó y las células bacterianas fueron cosechadas a partir de los discos con el vórtex, se diluyeron en serie en una reducción de fluido de transporte, se colocan en agar anaerobio exigente que contiene sangre de caballo al 5%, se incubó anaeróbicamente y se hizo el conteo de unidades formadoras de colonias. Yodo y NaClO eran más efectivos que la clorhexidina excepto contra *P. micros y P. intermedia* donde los tres son 100% efectivos. Yodo y NaClO provocó una destrucción del 100% después de 1 h de incubación para todas las cepas utilizadas. Sin embargo, después de 15 min, se mostraron diferentes efectos bactericidas dependiendo de la cepa. Ninguno de los agentes fueron eficaces contra *F. nucleatum* después de 15 minutos, pero NaClO, yodo y clorhexidina fueron efectivos después de 1 h. La plata coloidal era generalmente ineficaz. La eficacia de un agente particular, era dependiente de la naturaleza del organismo en la biopelícula y el tiempo de contacto. El NaClO fue el agente más eficaz probado en el estudio, seguido por el yodo. Sin embargo, la eficacia clínica de estos agentes debe ser considerado a la luz de la compleja anatomía del conducto radicular y la naturaleza polimicrobiana de las infecciones del conducto radicular.

Ferreira CM. y cols. (2002)[4] El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias usadas como agentes antibacteriales como son: soluciones de Hidróxido de Calcio, paramonoclorofenol alcanforado (PMMC), digluconato de clorhexidina al 2%, detergente de aceite de ricino. Estos fueron probados en bacterias anaeróbicas como: *Fusobacterium nucleatum, Prevotella nigrescens, Clostridium perfringens y Bacteroides fragilis*, se usó una técnica de dilución en caldo y fueron evaluadas in vitro. Para la determinación de la mínima inhibitoria y la concentración bacteriana mínima (MIC y MBC), fueron usados dos caldos de cultivo, medio clostridial reforzado (RCM) y Brucella suplementado, y fueron usados inóculos estandarizados y soluciones diluidas serialmente. Todos los agentes antibacterianos presentan actividad antimicrobiana que varió para diferentes bacterias. No hubo diferencias en el rendimiento de los dos caldos. El digluconato de clorhexidina fue el más efectivo, con los MICs más bajos, seguido

del detergente de aceite de ricino, PMCC e hidróxido de calcio. *C. perfringens* y *B. fragilis* fueron las bacterias más resistentes a todos los agentes.

Cunha y cols. (2003)[5] este estudio fue realizado para evaluar la prevalencia bacteriana en conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales, se tomaron muestra de 31 conductos radiculares. Se encontró bacterias anaerobias en un 96,7 %, estreptococos en un 96,7%, y al *S. mutans* en un 48,4%.

Se llegó a la conclusión que en los conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales la infección es polimicrobial, con un gran número de microrganismos, predominantemente estreptococos y microrganismos anaerobios.

Estrela, C y cols. (2003)[6] El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto antimicrobial del Hipoclorito de Sodio al 2% (NaClO) y clorhexidina al 2% (CHX) mediante la prueba de difusión en agar y prueba de exposición directa. Se utilizaron cinco microorganismos: *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Candida albicans*, y una mezcla de los mismos. Estas cepas se inocularon en infusión de cerebro y corazón (BHI) y se incubaron a 37 º C durante 24 h. Para la prueba de difusión en agar (ADT), 18 placas de Petri con 20 ml de agar de BHI se inocularon con 0,1 ml de las suspensiones microbianas, las cuales se extendieron sobre el medio utilizando hisopos estériles. Cincuenta y cuatro discos de papel (9 mm de diámetro) se sumergieron en las soluciones experimentales por 1 min. Posteriormente, tres discos de papel que contienen una de las sustancias se colocaron sobre la superficie de agar de BHI en cada placa de agar. Las placas se mantuvieron durante 1 h a temperatura ambiente, y después se incubaron a 37 º C durante 48 h. El diámetro de la inhibición microbiana se midió alrededor de los discos de papeles que contienen las sustancias. Para la prueba de exposición directa, 162 # 50 puntas de papel absorbentes estériles se sumergieron en las suspensiones experimentales durante 5 min, y luego se colocaron en placas de Petri y se cubren

con una de las soluciones de irrigante, o con agua destilada estéril (grupo de control). Después de intervalos de 5, 10 y 30 min, las puntas de papel fueron retirados del contacto con las soluciones y se sumergieron individualmente en 7 ml de caldo Letheen, seguido de incubación a 37 º C durante 48 h. El crecimiento microbiano se evaluó por la turbidez del medio de cultivo. El 0,1 ml de inóculo obtenido a partir del caldo Letheen fue transferido a 7 ml de BHI, y se incubó a 37 º C durante 48 h. El crecimiento bacteriano se evaluó de nuevo por la turbidez del medio de cultivo. Tinción de Gram de cultivos BHI fue utilizado para la verificación de la contaminación y el crecimiento se determinó por examen macroscópico y microscópico. Se observó que el mejor rendimiento de la eficacia antimicrobiana del NaClO fue en la prueba de la exposición directa y de CHX se observó en la prueba de difusión en agar. La magnitud del efecto antimicrobiano fue influenciada por los métodos experimentales, indicadores biológicos y el tiempo de exposición.

Sassone LM y cols. (2003)[7] El propósito de este estudio fue analizar la actividad antimicrobiana in vitro del hipoclorito de sodio (1% y 5%) y clorhexidina (0,12%, 0,5% y 1%). Muestras bacterianas (ATCC) de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* fueron sometidos a una prueba de contacto. Las soluciones se evalúan en diferentes intervalos de tiempo: inmediatamente, 5 min, 15 min y 30 min después del contacto y se repiten 10 veces. Los resultados de la prueba de contacto mostraron que la clorhexidina al 0,12% no eliminó al *E. faecalis* en cualquier intervalo de tiempo, mientras que la clorhexidina al 0,5% y al 1% y el hipoclorito de sodio al 1% y 5% si lo hicieron. Estos resultados permiten concluir que para obtener una mejor actividad antimicrobiana, se debe utilizar la clorhexidina en una concentración mayor que 0,12%. (4)

Vianna ME y cols. (2004)[8] El objetivo de este trabajo fue estudiar in vitro la actividad antimicrobiana del Gluconato de Clorhexidina al 0,2%, 1%, y 2% (CHX gel y CHX líquido), frente a patógenos endodónticos y comparar los resultados obtenidos con el Hipoclorito de Sodio (NaClO) al 0,5%, 1% , 2,5%, 4%, y 5,25%. Se realizó una prueba de dilución en caldo, y se registró el tiempo que le toma a

los irrigantes para matar las células microbianas y se analizaron estadísticamente. La CHX 2,0% tanto gel y líquida eliminaron *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* en 15 segundos, mientras que la formulación de gel mató *Enterococcus faecalis* en 1 minuto. Todos los irrigantes probados eliminaron *Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis y Prevotella intermedia* en 15 segundos. El tiempo requerido para la CHX líquida al 1,0% y 2,0% para eliminar todos los microorganismos era la misma requerida para NaClO al 5,25%. La acción antimicrobiana está relacionada con el tipo, concentración, y la forma de presentación de los irrigantes así como la susceptibilidad microbiana.

Ercan E. y cols. (2004)[9] En este estudio se evaluó la actividad antibacteriana de dos diferentes sustancias irrigantes: el Gluconato de Clorhexidina al 2% y el Hipoclorito de Sodio al 5,25%, en dientes con necrosis pulpar y enfermedad periapical. Fueron usados 30 piezas dentales, entre incisivos y premolares, de 20 pacientes. Fueron tomadas dos muestras de los conductos, una antes y otra después de la preparación de los conductos, esta se realizó con conos de papel estériles, las piezas dentarias fueron separadas en dos grupos al azar y durante la preparación biomecánica se utilizó el irrigante q le correspondía a cada grupo. La última muestra obtenida antes de la obturación de los conductos. Las muestras obtenidas fueron procesadas microbiológicamente, incluyendo incubación anaeróbica en TSA por un lapso de 5 a 7 días. Después del conteo de colonias se concluyó que tanto el Gluconato de Clorhexidina como el Hipoclorito de Sodio fueron significantemente efectivos para reducir los microorganismos en los dientes con necrosis pulpar, lesiones periodontales o ambas, y que pueden ser utilizadas exitosamente como soluciones irrigantes.

Tanomaru, JM y cols. (2005)[10] La finalidad de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de las siguientes soluciones de irrigación: hipoclorito de sodio a concentraciones de 1%, 2,5% y 5,25% y gluconato de clorhexidina a concentraciones de 1% y 2% (solución) y 2% (gel), y se emplearon seis cepas diferentes de microorganismos. La pre incubación fue utilizada para difundir los materiales probados, así como la optimización de medio de cultivo con

el gel de 1,0% de TTC para evaluar los halos de inhibición. Los resultados mostraron que todas las cepas microbianas habían inhibido su crecimiento por las soluciones irrigadoras estudiadas, en el siguiente orden de eficacia: soluciones y gel de clorhexidina en las concentraciones estudiadas y solución de hipoclorito de Sodio al 5,25% seguida de las concentraciones de 2,5% y de 1% de hipoclorito de sodio.

Carson KR y cols. (2005)[11] El propósito de este estudio fue comparar la actividad antimicrobiana del Hipoclorito de Sodio al 6% y al 3%, del Gluconato de Clorhexidina al 2% y al 0,12% y de la doxiciclina (Doxy) en 4 microorganismos asociados con infecciones endodónticas primarias. La prueba de difusión en agar se utilizó para medir las actividades antimicrobianas de estos agentes *contra Peptostreptococcus micros, Prevotella intermedia, Streptococcus sanguis, y Lactobacillus acidophilus.* El análisis de mínima concentración inhibitoria se realizó mediante el método de macrodilución. Para tres de las cuatro microorganismos, el orden general de la eficacia antimicrobiana era 0,01% doxy> 0,005% doxy> 6% de NaClO> 3% NaClO> 2% CHX> 0,12% CHX. Para *L. acidophilus*, el orden de efectividad fue del 6% NaClO> 3% NaClO> 2% CHX> 0,01% Doxy> 0,005% Doxy> 0,12% CHX. El NaClO al 6% mostró significativamente mayores zonas de inhibición que 3% de NaClO para todos los endopatógenos probados.

Tanomaru, FM y cols. (2006)[12] La finalidad de este estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano de diferentes soluciones irrigantes usados durante la preparación biomecánica. Fueron utilizados 78 conductos radiculares de premolares de cuatro perros. Después de la inducción experimental de lesiones periapicales, los conductos radiculares fueron preparados usando las siguientes soluciones irrigantes: Grupo 1, Hipoclorito de Sodio al 2,5%; grupo 2, Clorhexidina al 2%; grupo 3, solución salina y grupo 4, fue el grupo control que no tuvo preparación biomecánica. La evaluación microbiológica de los conductos radiculares fue realizada por el recuento de las unidades formadoras de colonias (CFU) utilizando diferentes medios de cultivo. Dos conos de papel absorbente se utilizaron en cada conducto de la raíz con el fin de recoger las muestras

microbiológicas antes, y treinta días después de la preparación biomecánica. Las placas de cultivo se incubaron en ambiente aeróbico, anaeróbico y microaerófilos. La evaluación estadística se realizó mediante el análisis de las pruebas de varianza, Tukey y T Student. Los resultados demostraron que había reducción en el número de microorganismos en los grupos de NaClO y CHX (p <0,05). Hubo una mayor eficacia en el grupo de clorhexidina. El grupo que utilizó solución salina y el grupo de control presentó un aumento del número de microorganismos. Se puede concluir que el uso de soluciones de irrigación antimicrobianos durante la preparación biomecánica promueve la reducción de la microbiota de endodoncia. Sin embargo, todavía se observa un gran número de microorganismos.

Sena NT y cols. (2006)[13] el objetivo de este estudio es investigar la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio al 2,5% y al 5,25% y gel de clorhexidina al 2,0% gel y solución como sustancias irrigadoras en endodoncia en contra de especies seleccionadas del biofilm. Biopelículas de especies individuales de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis* y *Fusobacterium nucleatum* fueron generados en una membrana de nitrato de celulosa colocado en un medio agar. Las biopelículas se sumergieron en las soluciones irrigadoras por 30 s y también por 5, 10, 15, 30 y 60 min, con y sin agitación mecánica. La solución salina estéril se utilizó como control. Después de cada período de tiempo, los filtros de membrana se transfirieron a continuación a tubos que contenían 2 ml de medio líquido fresco más neutralizadores (con el fin de prevenir la acción residual de las sustancias ensayadas). Los microorganismos se suspendieron usando un vórtice, y el inóculo se diluyó en serie 10 veces. Las alícuotas de las diluciones se sembraron en el medio agar sangre de cordero al 5%. Se calcularon las unidades formadoras de colonias. Las muestras se compararon mediante la prueba de Friedman y Tukey y, cuando sea necesario, a un nivel de significación de P <0,05.

La agitación mecánica promueve la eficacia de los agentes antimicrobianos, lo que resulta en menos tiempo para eliminarlos, a excepción de *S. aureus* con NaClO al 2,5%. Los agentes antimicrobianos en la presentación líquida, especialmente NaClO al 5,25% y clorhexidina al 2%, mataron a los microorganismos con mayor

rapidez. Solución salina no inhibió el crecimiento de cualquiera de los microorganismos, con o sin agitación, siendo estadísticamente diferentes (P <0,05) de NaClO y clorhexidina. *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* y *F. nucleatum* fueron eliminados en 30 s por todos los agentes antimicrobianos, con o sin agitación, en contraste con las cepas facultativos y aerobios. Por lo que se concluye que la agitación mecánica mejora las propiedades antimicrobianas de las sustancias químicas a prueba usando un modelo de biopelícula, a favor de los agentes en la presentación líquida, especialmente NaClO al 5,25% y de clorhexidina al 2%.

Sassone L. y col. (2007)[14] este estudio evaluó la composición de la microbiota de las infecciones endodónticas primarias en 111 dientes con una sola raíz con pulpa necrótica. Se determinó la presencia, los niveles y proporciones de 40 especies diferentes de bacterias en cada muestra con la técnica de hibridación checkerboard ADN-ADN, utilizando sondas de ADN. El promedio de especies por muestra fue 22, entre estas están: *Enterococcus faecalis* (89.3%), *Campylobacter gracilis* (89.3%), *Leptotrichia buccalis* (89.3%), *Neisseria mucosa* (87.5%), *Prevotella melaninogenica* (86.6%), *Fusobacterium nucleatum ssp. vincentii* (85.7%), *Eubacterium saburreum* (75.9%), *Streptococcus anginosus* (75%), and *Veillonella parvula* (74.1%) entre las más prevalentes. Las especies que se encuentran en el promedio de altos recuentos (de más de 10^5) son *F. nucleatum ssp. vincentii* (13.14 x 10^5), *E. saburreum* (5.67 x 10^5), *E. faecalis* (5.38 x 10^5), *N. mucosa (4.19 x 10^5), V. parvula (3.63 x 10^5), C. gracilis (3.46 x 10^5), Treponema socranskii (3.34 x 10^5), Porphyromonas endodontalis (2.96 x 10^5), Porphyromonas gingivalis (2.85 x 10^5), Micromonas micros (2.81 x 10^5), Prevotella nigrescens* (2.68 x 10^5) and *Fusobacterium nucleatum ssp. nucleatum* (2.64 x 10^5). La conclusión a la que llegaron es que varias especies bacterianas que se consideran patógenos orales parecen estar implicados en la etiología de las infecciones endodónticas primarias.

Stringhini, E. y cols. (2008)[15] La finalidad de este estudio fue evaluar, in vitro, el efecto antimicrobiano de la clorhexidina al 2% y el hipoclorito de sodio, en

los dientes deciduos con conductos necróticos. El contenido de los dientes deciduos necróticos fue estandarizado según la escala 0,5 McFarland. Veinte molares primarios fueron contaminados por este contenido y se dividieron en dos grupos (n=10): NaClO 0,5% y CHX 2%. Antes y después de la instrumentación del canal radicular, se recogieron las muestras, se transfirieron al medio Infusión Cerebro Corazón (BHI), diluidas hasta 10-5 y se sembraron en medio agar sangre. Después de 5 días en anaerobiosis se midieron las ufc / ml y los resultados fueron sometidos a la prueba de Wilcoxon y la prueba T. La Clorhexidina mostró efectos antimicrobianos similares al hipoclorito de Sodio, pudiendo ser utilizada como solución de irrigación auxiliar en la instrumentación de dientes primarios.

Sassone LM y cols. (2008)[16] El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antimicrobiana de hipoclorito de sodio (1% y 5%) y clorhexidina (0,12%, 0,5% y 1%) con o sin la adición de material orgánico (albúmina de suero bovino, BSA) contra algunos muestras de bacterias (*Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*) utilizando dos ensayos de actividad (de contacto y las pruebas de difusión en agar). En la prueba de contacto (primer modelo), las muestras bacterianas se mantuvieron en contacto con cada solución de irrigación para diferentes intervalos de tiempo: inmediatamente, 5 min, 15 min y 30 min. La prueba de difusión en agar fue el segundo modelo utilizado. En la mitad de las muestras, se añadió 0,5% de BSA para simular el tejido orgánico presente en el canal de la raíz. El crecimiento bacteriano se evaluó para cada microorganismo y ensayo de actividad. Cada ensayo se repitió 10 veces. En la prueba de contacto, solución de clorhexidina al 0,12% (CHX) no eliminó *E. faecalis* en cualquier tiempo de prueba. CHX al 0,5% elimino todas las cepas de *E. faecalis*, excepto después de un contacto inmediato. Todas las cepas fueron eliminadas por CHX al 1%, NaClO al 1% y NaClO al 5%. El BSA no interfiere con la actividad antimicrobiana de las soluciones de irrigación. En la prueba de difusión en agar, todas las soluciones presentan zonas de actividad antimicrobiana, sin embargo, BSA interfirió con la actividad antimicrobiana de NaClO y CHX. Bajo la condición de la prueba de contacto, la CHX 0.12% fue ineficaz en la eliminación de *E. faecalis*, mientras que la CHX al 0,5% y al 1%, y NaClO al 1% y al 5% mostró eficacia antibacteriana

frente a todas las cepas bacterianas probadas. La adición de una carga orgánica interfirió con la exactitud de la prueba de difusión en agar.

Rôças IN y col. (2011)[17] El objetivo de este estudio clínico fue comparar los efectos antimicrobianos del hipoclorito de sodio al 2,5% (NaClO) y del gluconato de clorhexidina al 0,12% (CHX) cuando se utiliza como irrigantes durante el tratamiento de dientes con periodontitis apical. Se utilizaron 47 dientes unirradiculares de un solo conducto con pulpas necróticas y periodontitis apical asintomática. Se tomaron las muestras antes y después de la preparación mecánico-química utilizando el NaClO al 2,5% (n = 30) o 0,12% CHX (n = 17) como irrigante. La presencia de bacterias, arqueas y hongos se evaluó mediante la reacción en cadena de la polimerasa de amplio rango (PCR), mientras que las identificaciones bacterianas se realizaron mediante la técnica de checkerboard focalizando 28 candidatos patógenos endodónticos.

Todas las muestras previas a la irrigación fueron PCR positivos para la presencia de bacterias, pero negativo para los dos arqueas y hongos. Ambos NaClO y CHX y basada en protocolos fueron significativamente eficaces en la reducción de los niveles de bacterias y el número de taxones. No se observaron diferencias significativas entre ellos en todos los parámetros evaluados, incluyendo la incidencia de los resultados negativos de PCR en la muestra después de la irrigación (40% de NaClO vs 47% para CHX, p = 0,8), la reducción en el número de taxones por el canal (p = 0,3), y la reducción en los niveles de bacterias (p = 0,07). Los taxones más frecuente en las muestras S2 del grupo NaClO fueron *Propionibacterium acnes*, especies de *Streptococcus, Porphyromonas endodontalis* y *Selenomonas sputigena*. En el grupo de CHX, los taxa más prevalente en S2 eran *Dialister invisus*, *Actinomyces israelii*, *Prevotella baroniae*, *Propionibacterium acidifaciens*, y especies de Streptococcus. Por esto se puede decir que los protocolos de tratamiento utilizando riego, ya sea con NaClO o CHX tuvieron éxito en reducir significativamente el número de taxones bacterianos y sus niveles en canales de la raíz infectados, sin diferencia significativa entre estas sustancias.

Tavares WLF y cols. (2011)[18] El objetivo de este estudio fue evaluar la microbiota de las infecciones endodónticas en dientes deciduos mediante la prueba de hibridación Checkerboard DNA-DNA después de la amplificación uniforme de ADN en muestras por amplificación de desplazamiento múltiple (MDA). Fueron recolectadas 40 muestras de conductos radiculares de dientes deciduos que presentaban pulpa necrótica con o sin resorción ósea perirradicular / interadicular detectable radiográficamente y se analizaron 32, con 3 personas que contribuyeron con 2 muestras; estas fueron MDA amplificadas y se analizaron mediante la prueba de hibridación Checkerboard DNA-DNA para los niveles de 83 taxones bacterianos. Se utilizaron dos medidas de resultado: el porcentaje de dientes colonizados por cada especie, y se calculó la proporción media de cada taxón bacteriano presente en todas las muestras. La cantidad media de ADN en las muestras antes de la amplificación fue de 5,2 (± 4,7) ng y 6,1 (± 2,3) µg después de la MDA. El número medio de especies detectadas por muestra fue de 19 (± 4) (rango: 3-66) al número entero más próximo. Los taxa más prevalentes fueron *Prevotella intermedia* (96,9%), *Neisseria mucosa* (65,6%), *Prevotella nigrescens* (56,2%), *Tannerella forsythia* (56,2%), *Prevotella denticola* (53.1%) y *Fusobacterium nucleatum ss vicentii* (50,0%). No se detectaron *Aggregatibacter (Haemophilus) aphrophilus y el Helicobacter pylori. P. intermedia* (10%), *Prevotella tannerae* (7%) y *Prevotella nigrescens* (4,3%) presentaron las proporciones medias más altas de las especies objetivo promediado con las muestras positivas. Los conductos radiculares de los dientes deciduos infectados tenían una diversa población bacteriana. *Prevotella sp* se encuentra comúnmente con P. intermedia, *Prevotella tannerae* y *Prevotella nigrescens* entre las especies más importantes detectadas.

Gomes GB y cols. (2012)[19] Diferentes métodos de identificación microbianas han demostrado que los perfiles de la comunidad microbiana en las infecciones endodónticas son diversas y variados. El objetivo de este estudio fue evaluar la frecuencia de seleccionados patógenos endodónticos en las cámaras pulpares (PC) y conductos radiculares (RC) de dientes deciduos infectados utilizando métodos de PCR. Uniendo PC y RC se obtuvieron muestras de 15 pacientes y se analizaron por PCR para la presencia *de Filifactor alocis,*

Fusobacterium nucleatum, Parvimonas micra, Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens, Prevotella tannerae, Tanerella forsythia, Treponema denticola y Treponema socranskii. La frecuencia de cada especie se determinó en el PC y RC de cada caso. Las especies más frecuentemente detectados en PCs fueron: *P. nigrescens* (86,7%), *F. nucleatum* (80%), *P. gingivalis* (73,3%) *y F. alocis* (73,3%). De las muestras de PC, 13,3% presentaba *P. micra y T. denticola*, y el 6,7% *T. forsythia.* Las especies más frecuentemente detectados en RCs fueron *P. gingivalis* (100%), *P. nigrescens* (93,3%), *F. nucleatum* (93,3%), *P. tannerae, P. micra y T. denticola* fueron encontrados en un 40% de las muestras RC; T. forsythia se encontró en el 26,7% de las muestras de RC. El "complejo rojo", que consta de *P. gingivalis, T. denticola, y T. forsythia*, no fue encontrado en PC de cualquier diente, pero fue encontrado en un 30% de las muestras de RC. La detección de *P. nigrescens* en PC se asocia a la presencia de *P. nigrescens* en RC ($p = 0,04$). Los resultados sugieren alta heterogeneidad entre las muestras, incluso entre las muestras de un mismo sujeto.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 La pulpa dental

La pulpa dental está constituida por un tejido conectivo especializado que está situado en un ambiente único ya que se encuentra encerrada en una cámara rígida de dentina mineralizada.

Ella produce, sustenta y es una parte integrante de la dentina que la rodea, debido a esta íntima relación entre la dentina y la pulpa, se les ha denominado el “complejo pulpodentinario”.

2.2.1.1 Desarrollo de la pulpa

El diente se origina a partir de la lámina dental, una franja de células epiteliales presente en los maxilares embrionarios. Los dientes se forman en última instancia a partir de una serie de invaginaciones de esta franja. La descripción de las diferentes fases de la formación de los dientes se basa en la forma de estas invaginaciones, o gérmenes dentales. En un primer momento, parecen capullos de flores en formación y se invaginan durante lo que se conoce inicialmente como la fase de casquete y que posteriormente, al crecer el germen dental y hacerse más profunda la invaginación, pasa a ser la fase de campana. En última instancia, el tejido del interior se convierte en pulpa dental, que recibe el nombre de papila dental durante las fases iniciales del desarrollo. La papila deriva de células que migran de la cresta neural y se mezclan con células mesenquimatosas locales. Durante la fase de campana, la capa interna de células del órgano del esmalte se diferencia en ameloblastos; seguidamente, la capa externa de células de la papila dental se diferencia en odontoblastos y empieza a depositar dentina. A partir de ese momento, el tejido se denomina ya pulpa dental.

Las células ectodérmicas del epitelio dental interno inician y controlan el proceso de diferenciación de los odontoblastos a partir de las células ectomesenquimatosas indiferenciadas. Las células ectodérmicas sintetizan factores de crecimiento y moléculas señalizadoras que pasan a la lámina basal del epitelio y de allí a las células que se están convirtiendo en odontoblastos. Las células situadas bajo los odontoblastos en formación persisten como células progenitoras indiferenciadas y conservan durante toda la vida la capacidad para diferenciarse en odontoblastos.

Una vez que se ha diferenciado la capa de odontoblastos, desaparece la lámina basal del epitelio dental interno que contenía las moléculas señalizadoras, y los odontoblastos empiezan a depositar la dentina. Una vez que comienza la formación de la dentina, las células del epitelio dental interno empiezan a depositar el esmalte. La diferenciación del control de la señalización de vaivén y el comienzo de la formación del tejido duro es un ejemplo de la interacción entre epitelio y mesénquima, un proceso fundamental dentro del desarrollo que ha sido estudiado

exhaustivamente en modelos de gérmenes dentales. El depósito de matriz dentinaria sin mineralizar comienza por el extremo de las cúspides dentales, y avanza en sentido cervical a un ritmo regular de 4,5 µm/día, por término medio. La forma de la corona está predeterminada genéticamente por el patrón de proliferación de las células del epitelio dental interno. La primera capa de dentina que se forma es muy delgada y recibe el nombre de dentina de cubierta o del manto. Las fibras de colágeno de la dentina del manto tienen una dirección y un tamaño diferentes a las de la dentina circumpulpar que se forma posteriormente. El patrón de formación y posterior mineralización de la matriz continúa durante todo el proceso de depósito de la dentina. Junto a la capa de odontoblastos persiste una capa de matriz dentinaria de 10-50 µm de espesor que nunca llega a mineralizarse y recibe el nombre de predentina.

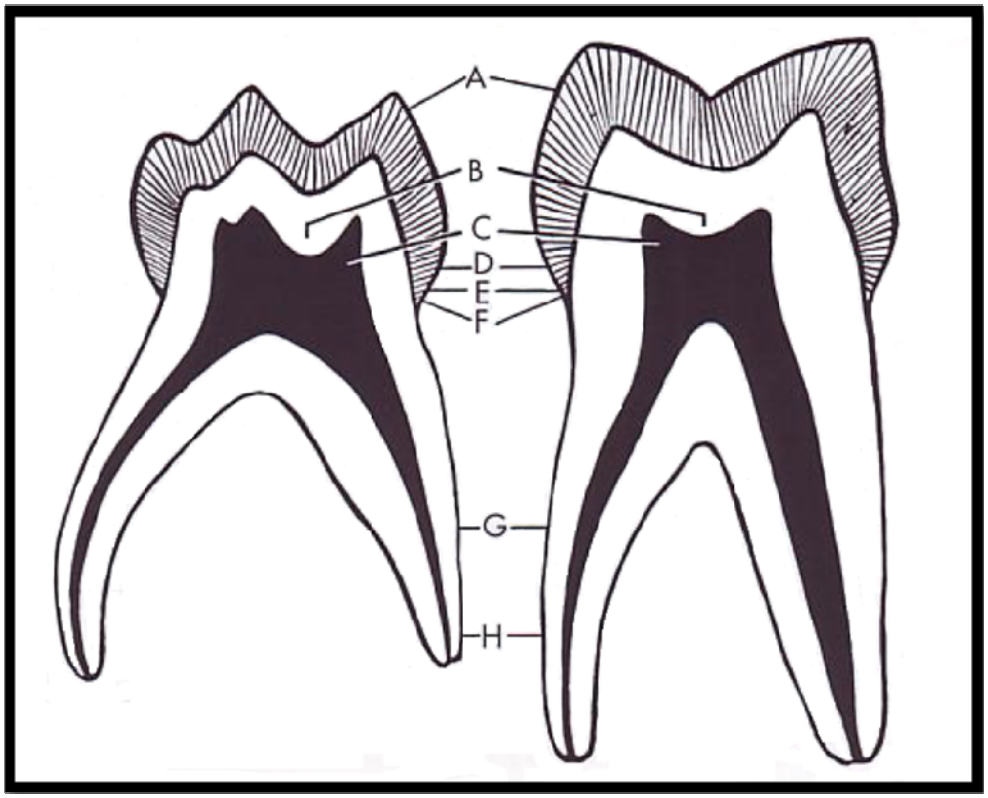
Mientras se forma la corona, elementos vasculares y neurales sensitivos empiezan a emigrar hacia la pulpa desde el futuro ápice radicular, en dirección coronal. Estos elementos se van ramificando y estrechando hacia la capa odontoblástica, y en una fase posterior forman sendos plexos bajo dicha capa.

2.2.1.1 Diferencias de la cámara pulpar y conductos radiculares entre la dentición temporal y permanente.

Diferencias según Ash [20]

A. La capa de esmalte del molar temporal es más delgada y tiene una profundidad más uniforme.
B. Comparativamente, el espesor de la dentina que hay sobre la cámara pulpar en la fosa oclusal es mayor en el molar temporal.
C. Los cuernos pulpares son más altos en los molares temporales, especialmente los cuernos mesiales, y las cámaras pulpares son proporcionalmente más grandes.

D. Las crestas cervicales están más pronunciadas, especialmente en la cara vestibular de los primeros molares temporales.
E. Los prismas del esmalte, en el cuello, se dirigen hacia arriba (oclusal) en vez de hacerlo gingivalmente, como en los dientes permanentes.
F. Los molares temporales son ostensiblemente más estrechos en el cuello, en comparación con los permanentes.
G. Las raíces de los temporales son más largas y delgadas comparadas con el tamaño de la corona, que las de los dientes permanentes.
H. Las raíces de los molares temporales se adelgazan más cerca del cuello que las de los molares permanentes.



(Ash, M; Nelson, S. Wheeler: Anatomía, fisiología y Oclusión Dental. 8va Edición España: Elsevier: 514p, 2003)

2.2.1.2 Irrigación de la pulpa dental

La pulpa es un tejido altamente vascularizado. Las arteriolas provenientes de las arterias alveolar inferior, alveolar posterosuperior o infraorbitaria penetran a nivel de los orificios apicales, recorren los conductos radiculares y en el centro de la cámara pulpar se ramifican para dar origen a una rica red capilar, la que a su vez converge hacia el centro de la cámara pulpar donde se originan las venas que realizan un recorrido inverso. Las arteriolas recorren los conductos radiculares en forma paralela al eje de éste sin ramificarse, aunque pueden efectuar algunas anastomosis entre ellas.

La estructura de las arteriolas es similar a la de otras regiones, dado que tienen sus tres capas características: una interna o endotelial, una media o muscular, y otra externa o adventicia; pero tienen la particularidad de que su capa muscular es muy delgada y la adventicia se confunde con el tejido conectivo perivascular, por lo que para algunos autores la adventicia está ausente.

Otra característica de los vasos pulpares es que poseen una luz amplia con relación al espesor de sus paredes, tanto en las arteriolas como en las vénulas. La explicación de esto se adjudica a que el tejido conectivo pulpar se encuentra rodeado de paredes rígidas y, por lo tanto, no es sometido a presiones de carácter mecánico.

Las vénulas tienen una luz más amplia que las arteriolas y paredes aún más delgadas; en cambio su número es mayor. Dada la delgadez de sus paredes parecen capilares muy amplios y su recorrido es paralelo al de las arteriolas. Las fibras nerviosas acompañan a los vasos, por lo que los tres elementos: arteriolas, vénulas y nervios forman un paquete envuelto en tejido conectivo. Como este paquete atraviesa el foramen apical sin dejar prácticamente espacio entre éste y las paredes mineralizadas, en los casos de congestión pulpar el drenaje se realiza con mucha dificultad. También explica la lentitud de la circulación pulpar.

Entre las arteriolas y las vénulas se han descrito anastomosis directas sin interposición de red capilar, que permiten importantes variaciones en el aporte sanguíneo al establecer un circuito rápido que relaciona una parte de la sangre circulante.

2.2.1.3. Inervación de la pulpa dental

Todos los impulsos aferentes de la pulpa originan dolor, cualquiera sea el estímulo que los causa. La percepción popular de este hecho determina que la pulpa sea llamada vulgarmente “nervio” del diente.

Los nervios de la pulpa entran al diente por el agujero apical, por las foraminas adicionales o por ambos, revestidos por células de Schwann.

La mayor parte de las fibras nerviosas pulpares son mielínicas, pero durante el período de papila dental solo se observan fibras amielínicas por hallarse en una etapa previa a la formación de mielina.

Las fibras de tipo C son amielínicas y se distribuyen por toda la pulpa. Como las fibras de tipo A delta tienen mayor velocidad de conducción y aparecen relativamente tarde después de la erupción, las pruebas de sensibilidad pulpar, como la eléctrica y la térmica, no son válidas en dientes jóvenes.

Desde el foramen apical los nervios se dirigen hacia la pulpa coronaria junto con los vasos sanguíneos.

En la región coronaria se despliegan bajo la zona rica en células y se ramifican extraordinariamente para formar un plexo de axones singulares: el plexo de Raschkow. En éste las fibras de tipo A delta revestidas solo por células de Schwann se ramifican en forma repetida para constituir el plexo subodontoblástico. Por último estos axones, ya desnudos, pasan entre los odontoblastos como terminaciones nerviosas libres. Algunas de estas fibras ingresan en los conductillos dentinarios junto a los procesos odontoblásticos y pueden extenderse hasta 150 nm dentro del conductillo. Se establece así una íntima relación de

contacto con el proceso odontoblástico y termina como un helicoide enrollado en torno de él, que serían las fibras intratubulares. Estas fibras intratubulares son más abundantes en los cuernos pulpares.

La relación funcional entre axones nerviosos y odontoblastos, que debería tener una configuración de sinapsis, no ha sido aún evidenciada.

Las arteriolas pulpares tienen una túnica muscular lisa, al igual que el resto del organismo. Está túnica es gobernada por fibras simpáticas provenientes en este caso del ganglio cervical superior. Estas fibras se hallan preferentemente en torno de los vasos, pero también en la capa de odontoblastos. La regulación del flujo sanguíneo depende del músculo liso, cuya constricción por efecto del estímulo nervioso y los neurotransmisores reduce el calibre vascular.

Los nervios pulpares son resistentes a la necrosis y la autolisis; esto explica por qué hay sensibilidad a la instrumentación en dientes aparentemente desvitalizados. Por otra parte, en la pulpa solo se encuentran los axones de las neuronas, cuyos cuerpos se sitúan en ganglios nerviosos o en el SNC y siguen vivos a pesar de la necrosis pulpar. [21]

2.2.1.4. Funciones de la pulpa

Según Gómez de Ferraris [22]

A) Función Inductora: esta función se lleva a cabo durante la amelogénesis, ya que es necesario el depósito de dentina para que se produzca la síntesis y el depósito del esmalte.

B) Función Formativa: una de sus principales funciones es formar la dentina, esta función es posible mientras la pulpa conserve su vitalidad. La elaboración de la dentina está a cargo de los odontoblastos y, debido al tiempo en que esta se produce es que se clasifican en: dentina primaria, dentina secundaria o adventicia y dentina terciaria o reparativa. Esta última es elaborada en reacción a estímulos irritantes.

C) Función Nutritiva: la pulpa nutre la dentina a través de las prolongaciones odontoblásticas y de los metabolitos que, desde el sistema vascular pulpar se difunden a través del licor dentinario.

D) Función Sensitiva: la pulpa responde a los diferentes estímulos o agresiones, con dolor dentinario o pulpar. En la sensibilidad de la pulpa y la dentina no interesa la naturaleza del agente estimulante, ya que la respuesta es siempre de tipo dolorosa. El dolor dentinal es agudo y de corta duración, mientras que el dolor pulpar es sordo y pulsátil, persistiendo durante cierto tiempo.

E) Función defensiva o reparadora: la función reparadora se da ya que la pulpa tiene la capacidad de formar dentina ante las agresiones. Las dos líneas de defensa son: 1) Formación de dentina peritubular, con estrechamiento de los conductos, para impedir la penetración de microorganismos hacia la pulpa. Esta esclerosis dentinaria representa la primera defensa pulpar frente al avance de una caries y 2) Formación de dentina terciaria, reparadora o de irritación. Esta dentina es elaborada por los nuevos odontoblastos que se originan de las células ectomesenquimáticas o células madre de la pulpa.

2.2.2. Reacción de la pulpa

A pesar de estar formado por tejido conectivo, la pulpa está encerrada por tejidos rígidos, lo que impide tener una gran capacidad de reacción ante agentes que perturben su fisiología normal. Entre los agentes capaces de provocar la mortificación pulpar se pueden señalar:

A. La acción de microorganismos que la invaden luego de atravesar la dentina en los procesos cariosos.
B. La fractura de corona o de la raíz del diente, que puede ser por daño físico a los tejidos de la pulpa o por exposición de tejidos de la pulpa a la infección bacteriana

por microorganismos patógenos de la flora oral[23], así igualmente puede ser por erosión, atrición y abrasión.

C. Las maniobras realizadas durante la operatoria dental como:
    a. El calor generado por los elementos rotatorios utilizados para eliminar los tejidos infectados o para la preparación de cavidades destinadas a alojar a los materiales de obturación.
    b. La exposición de los cuernos pulpares durante la eliminación de tejidos infectados.
    c. La utilización de antisépticos que actúan como tóxicos para la pulpa.
    d. La deshidratación realizada durante la preparación de cavidades puede provocar el desplazamiento del odontoblasto al interior del conductillo y la muerte de la célula. En casos más intensos, puede afectar la vitalidad de la pulpa.
    e. La acción tóxica realizada por los materiales de obturación temporarios o permanentes, los metálicos como las amalgamas, las incrustaciones de oro u otros metales, las resinas acrílicas, composites.

2.2.3 Patología pulpar

La pulpa dentaria sufre alteraciones en sus funciones al recibir agresiones debido a caries, traumatismos-fracturas, abrasiones, atriciones; puede ser leve o severa, y según el tiempo y la intensidad del ataque y tiene como resultado inicial un proceso inflamatorio en el que los leucocitos neutrófilos son atraídos por quimiotaxis hacia el sitio afectado. Las bacterias o las células pulpares dañadas son fagocitadas y expuestas a estímulos letales, lo que causa la liberación de potentes enzimas lisosómicas. Estas enzimas pueden atacar el tejido normal circundante, lo que da por resultado un daño adicional.

La mayor parte de las afecciones pulpares patológicas comienzan con la alteración y/o eliminación de las barreras de protección de la dentina: el esmalte y el cemento. El resultado es la comunicación de los tejidos pulpares blandos con la cavidad bucal a través de los túbulos dentinarios.

2.2.3.1 Clasificación de los estados patológicos de la pulpa

Según Bordoni [24]

A) HIPEREMIA O PULPITIS REVERSIBLE

La hiperemia significa un aumento en el flujo sanguíneo. Aunque no todas las pulpitis presentan vasos congestionados o hiperémicos.

La hiperemia puede ser:

a. Funcional o reactiva: esta se da cuando ocurre un aumento del riego sanguíneo local en tejidos fisiológicamente normales que tienen una función mayor, lo que exige un mayor intercambio de metabolismo.
b. Activa: esta se da debido a los mediadores endógenos de la inflamación como histamina, prostaglandinas y bradicinina, estos producen vasodilatación e incrementan la permeabilidad capilar y dilatan la anastomosis arteriovenosas.
c. Pasiva: cuando ocurre una congestión venosa por el desarrollo de un trombo venoso causado por fuerzas ortodónticas excesivas. Hay mayor entrada que salida de sangre que se acumula en el tejido ocasionando un aumento de la presión del tejido pulpar.

B) PULPITIS AGUDA

Es una reacción pulpar inflamatoria que puede ser transitoria y revertir a la normalidad, si es tratada adecuadamente y a tiempo.

La pulpitis aguda es causada por una preparación cavitaria iatrogénica, traumatismos próximos a la pulpa, etc. Se manifiesta con dolor causada por estímulos de comida, temperaturas frías o calientes, roce con el cepillo, etc. Y desaparece cuando eliminamos la causa. No presenta alteraciones a la percusión y no presenta movilidad.

C) PULPITIS CRÓNICA

Esta reacción pulpar comprende varios estadios de deterioro pulpar, que involucra la degeneración pulpar y la extensión de la pulpa involucrada. Mayormente la afectación involucra en primer lugar la pulpa cameral extendiéndose a la radicular.

El dolor es el síntoma fundamental y suele ser agudo e intenso. Aparece espontáneamente o desencadenado por un estímulo que no cesa cuando este desaparece.

Puede encontrarse respuesta dolorosa a la percusión y movilidad aumentada.

Esta pulpitis crónica puede ser Pulpitis crónica parcial, a la que se le concede en algunos casos el carácter de reversible y Pulpitis crónica total, un estado así lleva a la muerte pulpar.

D) NECROSIS PULPAR

Significa la desaparición total de toda actividad metabólica de la pulpa con la muerte de ésta y degeneración del tejido pulpar. Puede existir dolor si es que hubiera una gangrena pulpar, pero mayormente en la necrosis no hay dolor.

El diente presenta cambio de color, esta oscuro, opaco y sin translucidez. Suele presentar movilidad aumentada. Cuando la lesión progresa, afecta la zona periapical.

Dependiendo de la causa de la muerte pulpar, la necrosis pulpar puede ser séptica si hubo invasión de microorganismos o aséptica, si no hay presencia de microorganismos.

2.2.4. Patología periapical

Los agentes físicos, químicos y principalmente bacterianos, pueden determinar diferentes formas de lesiones sobre el complejo pulpo dentinario, ocasionando las más variadas reacciones. [25]

Si no se instituye un tratamiento dentro un plazo conveniente, la persistencia de estos agentes llevará a que se instalen necrosis o gangrena. Los productos tóxicos de la descomposición pulpar, microorganismos, sus toxinas y enzimas, ejercen una acción irritante sobre los tejidos periapicales, originando variadas formas de reacción.

Algunas se producirán en corto tiempo y estarán acompañadas de signos y síntomas; otras se desarrollarán de forma lenta y progresiva y serán, en general, asintomáticas.

Podemos clasificar estas alteraciones periapicales en: Alteraciones Apicales Agudas y Alteraciones Apicales Crónicas.

2.2.4.1 Alteraciones Apicales Agudas

A. Periodontitis Apical Aguda

Es la primera extensión de la inflamación pulpar hacia los tejidos perirradiculares. Supone una inflamación aguda alrededor del ápice y es por lo general muy dolorosa.
Las causas son de las más diversas: mediadores inflamatorios de una pulpitis irreversible, toxinas bacterianas de las pulpas necróticas, químicos (como los irrigantes usados en endodoncia), invasión de los materiales de obturación o sobreinstrumentación de los conductos, así como restauraciones en hiperoclusión.
Aunque haya una periodontitis apical aguda, el ligamento periodontal radiográficamente puede parecer normal o ligeramente ensanchado, sin embargo,

el diente puede estar extremadamente doloroso a la masticación y a las pruebas de percusión.

Eliminado el agente etiológico, la inflamación desaparecerá gradualmente, por lo que, básicamente, el tratamiento consiste en eliminar el agente causal. Si la pieza dental fuera vital, un ajuste oclusal podría ser suficiente como tratamiento. Si se tratara de una pieza con necrosis pulpar que no recibiera tratamiento, podrían aparecer síntomas adicionales y la enfermedad avanzaría al siguiente estado: el absceso apical agudo.

B. Absceso Apical Agudo

Es una lesión localizada o difusa de licuefacción que destruye los tejidos perirradiculares y es una respuesta inflamatoria grave a los irritantes microbianos o no de la pulpa necrótica. Es la formación de una colección purulenta en el hueso alveolar, a nivel del foramen apical, coadyuvada por la inflamación aguda de los tejidos periapicales.

Aunque esta enfermedad puede ser muy seria, el ligamento periodontal puede estar en sus límites normales o quizá ligeramente engrosado. La radiografía periapical revela una lámina dura relativamente normal o ligeramente engrosada porque la infección fulminante se ha extendido con rapidez, más allá de los límites de la lámina cortical, antes que la desmineralización pueda notarse radiográficamente.

2.2.4.2 Alteraciones Apicales Crónicas

A. Absceso apical crónico

Es definido como un proceso inflamatorio infeccioso de poca intensidad y de larga duración, localizado a nivel de los tejidos periapicales del diente y caracterizado por la presencia de una acumulación purulenta.

Se produce como consecuencia de la muerte pulpar, seguida por la invasión de los tejidos periapicales por agentes de origen microbiano o por los productos tóxicos de la descomposición pulpar. También puede estar relacionado con un tratamiento de conductos deficiente, donde los conductos radiculares se mantienen infectados o son obturados de manera incompleta.

Estos procesos de poca intensidad y de larga duración son por lo general asintomáticos. Radiográficamente se puede observar una rarefacción ósea difusa. Puede haber o no presencia de trayecto fistuloso.

B. Granuloma Apical

El granuloma apical es la transformación progresiva del tejido periapical y del hueso alveolar en tejido de granulación, con el fin de promover una zona de contención biológica y de reparar las estructuras lesionadas. Puede definirse además como una masa localizada de tejido inflamatorio crónico que se forma en respuesta a la irritación proveniente del conducto radicular infectado.

Puede aparecer también como respuesta a tratamientos endodónticos mal realizados, con conductos que se mantienen contaminados u obturados de manera incompleta.

2.2.5 Microbiología de la infección pulpar y periapical

Los microorganismos son capaces de producir daños a nivel pulpar pero también pueden producir lesiones a nivel periapical.

Estos microorganismos llegan a la cámara pulpar por diferentes vías: 1) Puede ser a través de una cavidad abierta debido a la propagación de una lesión cariosa, por fractura del tejido dentario o por procedimientos odontológicos, 2) Debido a los túbulos dentinarios expuestos debido a caries, microfracturas coronarias y radiculares, erosión o atrición, 3) Otra vía es través del ligamento periodontal cuando esta ha producido una lesión a nivel de foramen apical, 4) También

mediante fijación de microorganismos provenientes de la circulación sanguínea, a esto se le llama anacoresis, que es un transporte por vía de vasos sanguíneos o linfáticos a una zona de inflamación donde pueden producir infección.

Antes de que la invasión bacteriana de la pulpa se produzca, se puede ver una acumulación del infiltrado inflamatorio que corresponde a los productos tóxicos provenientes del frente invasor de bacterias y de la descomposición odontoblástica. Esta etapa de la afección pulpar es transitoria y puede ser reversible si se detiene el avance del frente carioso. El ingreso de bacterias a la pulpa produce una reacción inflamatoria infecciosa que lleva a la formación de abscesos pulpares caracterizados por la acumulación de neutrófilos polimorfonucleares y necrosis licuefactiva de los tejidos.

En la cavidad bucal humana se encuentran más de 400 géneros y especies microbianas.

Aunque la microbiota del conducto es mucho menos compleja que la microbiota subgingival, se produce una serie de relaciones ecológicas parecidas entre las bacterias. Inicialmente las especies *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* eran tan frecuentes como los anaerobios, ahora la proporción relativa de especies anaerobias aumentó mientras que la proporción de las especies facultativas disminuyó.

La proporción de anaerobios, en especial los bacilos gramnegativos, aumento con el tiempo. Se encontró mayor proporción en la región apical que en el conducto principal.

La microbiota del conducto radicular de dientes cariados con pulpa necrótica y enfermedad periapical está dada casi en su totalidad por anaerobios estrictos como son el *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Eubacterium* y *Peptostreptococcus.* [26]

En la composición microbiana apical y periapical de los conductos radiculares de los dientes con caries coronarias hay una cantidad mucho menor de anaerobios estrictos. [26]

En los conductos radiculares necróticos se han identificado espiroquetas. [26]

2.2.6 Principales Géneros y Especies aislados en infecciones pulpares y periapicales. [1, 18, 23, 26, 27, 28, 29]

	GÉNERO	ESPECIES COMUNES
BACTERIAS ANAEROBIAS ESTRICTAS		
Bacilos gramnegativos	*Porphyromonas*	*P. gingivalis, P. endodontalis*
	Prevotella	*P. oralis, P. oris, P. buccae, P. intermedia, P. melaninogenica*
	Mitsuokella	
	Fusobacterium	*F. nucleatum. F. necrophorum*
	Selenomonas	*S. sputigena*
	Treponema	
	Campylobacter	
Bacilos grampositivos	*Eubacterium*	*E. alactolyticum, E. lentum*
	Actynomyces	*A. israelli.*
	Propionibacterium	*P. acnes*
Cocos gramnegativos	*Veillonella*	*V. parvula*
Cocos grampositivos	*Peptostreptococcus*	*P. anaerobius, P. micros, P. prevotii, P. asaccharolyticus, P. magnus.*
BACTERIAS ANAEROBIAS FACULTATIVAS		
Cocos grampositivos	*Streptococcus*	*S. mitis, S. anginosus, S. oralis, S.intermedius*
	Enterococcus	*E. faecalis, E. faecium*
	Campylobacter	

2.2.6.1 *Fusobacterium nucleatum*

Las fusobacterias son bacilos gramnegativos anaerobios obligados que no forman esporas, no son móviles, muy pleomórficos, que adoptan un aspecto fusiforme como redondeado o fino y con extremos romos. [27]

Su metabolismo se da mediante el uso de azucares simples como la glucosa, galactosa y glicerol y de aminoácidos como glutamina, glutamato, histidina, lisina y serina. Una de las mayores diferencias con los otros *Fusobacterium*, es que produce ácido butírico a partir de la fermentación de la glucosa y peptona.

El potencial patógeno de *Fusobacterium nucleatum* y su importancia en el desarrollo de enfermedades periodontales, así como en las infecciones en otros órganos, es muy importante por varias razones.

En primer lugar, esta bacteria tiene una posibilidad muy alta de patogenicidad debido a su alta frecuencia en lesiones periodontales, su producción de sustancias irritantes que afectan el tejido produciendo cambios físicos-químicos en el surco gingival, permitiendo que sus sucesores patógenos puedan establecerse y proliferar, su capacidad para coagregarse y formar sinergismos con otras bacterias en infecciones mixtas, y su capacidad para formar agregados con muchas bacterias de la placa sugiere que este sirve como un puente microbiológico entre los primeros y tardíos colonizadores de las superficies dentales. En segundo lugar, *F. nucleatum* es muy común en infecciones clínicas de otros sitios del cuerpo. En tercer lugar, las nuevas técnicas recientes han hecho posible obtener más información acerca de *F. nucleatum* en el nivel genético, con lo que también se puede obtener un mejor conocimiento de la estructura y funciones de las proteínas de membrana externa (OMP), que son de gran interés con respecto a la coagregación, la nutrición celular y la sensibilidad a los antibióticos.

2.2.7 Soluciones Irrigadoras

Las soluciones irrigadoras en la práctica endodóntica cumplen una función esencial debido a sus propiedades físico-químicas particulares limpian y/o desinfectan las paredes del canal radicular, y originan la disolución de los tejidos

2.2.7.1 Propiedades de las soluciones irrigantes

Según Walton y Torabinejad. [30]

a. Ser solvente de tejidos o desechos, para permitir su retiro donde los instrumentos no puedan llegar.
b. Ser biocompatible: O al menos tener baja toxicidad para no provocar reacciones adversas en los tejidos perirradiculares.
c. Poseer baja tensión superficial: Esto alienta su flujo hacia zonas inaccesibles permitiendo una mayor difusión, humectación y limpieza.
d. Ser antiséptica: Para la eliminación de los microorganismos alojados en el canal radicular.
e. Eliminar la capa superficial de desechos: Así favorecer la acción del medicamento intraconducto y la retención mecánica del agente obturador.
f. Ser lubricante: Todos los líquidos tienen esta propiedad.
g. No ser fácilmente neutralizable: Para conservar su eficacia dentro del canal radicular.

2.2.7.2 Hipoclorito de sodio

El hipoclorito de sodio es una sal del ácido hipocloroso del que se deriva por sustitución de un hidrógeno, es una sal oxisal. Las sales oxisales son compuestos

ternarios que resultan de la reacción entre un ácido oxácido con un hidróxido o base, de modo que presentan oxígeno en su composición.



Fue desarrollado por el francés Berthollet en 1787 para blanquear telas. Luego, a fines del siglo XIX, Luis Pasteur comprobó su poder de desinfección, extendiendo su uso a la defensa de la salud contra gérmenes y bacterias.

Su amplia utilización en endodoncia se debe a su capacidad para disolver tejidos y a su acción antibacteriana.

2.2.7.2.1 Mecanismo de acción del Hipoclorito de Sodio.

Según Estrela y cols. [31] las acciones del hipoclorito de sodio operan mediante tres mecanismos.

a. Saponificación, donde actúa como un solvente orgánico que degrada los ácidos grasos hacia sales ácidas grasosas (jabón) y glicerol (alcohol), reduce la tensión superficial de la solución remanente.
b. Neutralización, donde el hipoclorito de sodio neutraliza aminoácidos formando agua y sal.
c. Cloraminación. La reacción entre el cloro y el grupo amino forma cloraminas que interfieren en el metabolismo celular. El cloro posee una acción antimicrobiana inhibiendo enzimas esenciales de las bacterias por medio de oxidación.

La acción bactericida y de disolución de tejidos del hipoclorito de sodio puede ser modificada por tres factores: concentración, temperatura y pH de la solución.

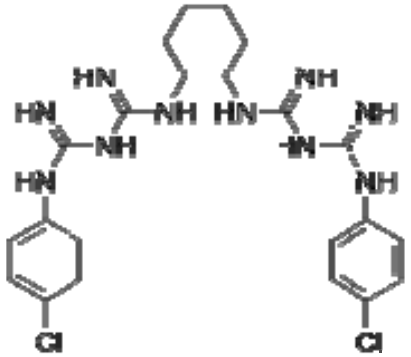
2.2.7.2.2 Concentraciones del Hipoclorito de Sodio.

Ha habido mucha controversia sobre la concentración de las soluciones de hipoclorito para ser utilizados en endodoncia. Originalmente la solución de hipoclorito de Dakin al 0,5% fue diseñado para tratar heridas abiertas, se supuso que en el espacio cerrado de un sistema de conductos radiculares se deberían usar concentraciones más elevadas, ya que sería más eficiente que la solución de Dakin.[32] La eficacia antibacteriana y la capacidad de disolver tejidos del hipoclorito acuoso es una función de su concentración, pero también lo es su toxicidad. Al parecer la mayor parte de los odontólogos en América usan el hipoclorito de sodio al 5,25%[33], ya que es la que venden en forma de lejía. Sin embargo, se han informado irritaciones severas cuando tales soluciones concentradas fueron inadvertidamente ingresando a los tejidos periapicales durante el riego o debido a una filtración a través del dique de goma. Además, una solución de 5,25% disminuye significativamente el módulo elástico y resistencia a la flexión de la dentina humana en comparación a la solución salina fisiológica, mientras que una solución al 0,5% no lo hace.[34] Es muy probable que sea debido a la acción proteolítica del hipoclorito concentrado en la matriz de colágeno de la dentina. Por otra parte, la reducción de la microbiota intracanal, no es mayor cuando se usa como irrigante al hipoclorito de sodio al 5% en comparación con el de 0,5%. [35, 36, 37]

A partir de observaciones in vitro, parece que una solución de NaClO al 1% debe ser suficiente para disolver el tejido de la pulpa entera en el curso de una sesión de tratamiento de endodoncia. Debe tenerse en cuenta que durante la irrigación el hipoclorito llega al sistema de canales, y la concentración de la solución no desempeña un papel decisivo. Áreas sucias puede ser el resultado de la incapacidad de las soluciones para alcanzar físicamente estas áreas en lugar de que sea debido a su concentración. Por lo tanto, basado en la actual evidencia disponible, no hay ninguna justificación para el uso de soluciones de hipoclorito a concentraciones superiores al 1% en peso / vol.[33]

2.2.7.3. Clorhexidina

La clorhexidina pertenece a un grupo de compuestos sintéticos denominados biguanidas. Mejor dicho es una bisbiguanida por estar formado por la unión de dos grupos biguanida, y cada uno de estos unidos a su vez a un grupo fenilclorado y están conectados entre sí por una cadena central de hexametileno.



Fue desarrollada en la década de 1940 en Inglaterra y se comercializó en 1954 como antiséptico para heridas de piel. Más adelante, el antiséptico empezó a utilizarse más ampliamente en medicina y cirugía, incluidas las ramas de obstetricia, ginecología, urología y preparación pre-quirúrgica de la piel, tanto para el paciente como para el cirujano. La clorhexidina en odontología inicialmente se empleó para desinfectar la boca, a partir de 1970, gracias a los estudios realizados por Loe y Schiott, se popularizó como enjuague bucal, capaz de inhibir la neoformación de placa y el desarrollo de la gingivitis. En 1975, Baker y Cols. [38] ya consideraban viable el uso de la clorhexidina como irrigante en endodoncia. En 1982, Delany y Cols.[39] concluyeron que la clorhexidina es un agente antibacteriano efectivo al utilizarse como irrigante durante la terapia endodóntica.

2.2.7.3.1 Mecanismo de acción de la Clorhexidina.

Su acción es el resultado de la absorción de clorhexidina dentro de la pared celular de los microorganismos produciendo filtración de los componentes intracelulares; también daña las barreras de permeabilidad en la pared celular, originando trastornos metabólicos de las bacterias. La clorhexidina es una molécula cargada positivamente hidrófoba y lipófila que interactúa con fosfolípidos y lipopolisacáridos de la membrana celular de las bacterias y entra en la célula a través de algún tipo de mecanismo de transporte activo o pasivo. Su eficacia se debe a la interacción de la carga positiva de la molécula con los grupos fosfato cargados negativamente en las paredes celulares microbianas, que altera el equilibrio osmótico de las células; esto aumenta la permeabilidad de la pared celular, lo que permite que la molécula de clorhexidina pueda penetrar en la bacteria. El daño a esta delicada membrana que es seguido por la fuga de los componentes intracelulares, en particular de entidades de fosfato tales como trifosfato de adenosina y los ácidos nucleicos. Como consecuencia de ello, el citoplasma se congela, con la reducción resultante en fuga, por lo que hay un efecto bifásico sobre la permeabilidad de la membrana.

La cantidad de absorción de la clorhexidina depende de la concentración utilizada; otra de sus acciones consiste en la precipitación proteica en el citoplasma bacteriano, inactivando sus procesos reproductivos y vitales.

Debido a las propiedades catiónicas de la clorhexidina, esta se une a la hidroxiapatita del esmalte dental, a la película de la superficie de diente, a proteínas salivares, a bacterias y a polisacáridos extracelulares de origen bacteriano. La clorhexidina absorbida gradualmente es liberada durante más de 24 horas, por eso se cree que reduce la colonización bacteriana en la superficie de los dientes.

2.2.7.3.2 Concentraciones de la Clorhexidina.

La clorhexidina es un antiséptico potente, que es ampliamente utilizado para control químico de la placa en la cavidad oral. Las soluciones acuosas de 0,1 a 0,2% se recomiendan para este propósito, mientras que la clorhexidina al 2% es la concentración más usada para la irrigación de los conductos radiculares en endodoncia.[40] Suele afirmarse que la clorhexidina sería menos cáustica que el hipoclorito de sodio[41]; sin embargo, no es necesariamente cierto. Una solución de clorhexidina al 2% es irritante para la piel como con el hipoclorito de sodio, el calentamiento de una clorhexidina de menor concentración podría aumentar su eficacia local en el sistema de conductos de la raíz mientras se mantiene la toxicidad sistémica bajo.[42]

A pesar de su utilidad como irrigante final, la clorhexidina no puede ser definido como el irrigante principal en los casos de endodoncia estándar, debido a que: a) La clorhexidina es incapaz de disolver los restos de tejido necrótico y b) La clorhexidina es menos eficaz sobre bacterias Gram-negativo que en bacterias Gram-positivas. [43,44]

2.2.8 Definición de términos

- Bacterias aerobias.
  Bacterias que se caracterizan por sobrevivir y desarrollarse solamente en presencia de aire atmosférico, que contiene aproximadamente 21% de oxígeno. Presentan metabolismo exclusivamente respiratorio.

- Bacterias anaerobias estrictas
  Bacterias que no sobreviven y no se desarrollan en ambientes que contienen oxigeno molecular, pues les resulta tóxico. Presentan respiración anaerobia que produce poca energía, por lo que se ven en la necesidad de obtener energía adicional por la degradación de proteínas y aminoácidos.

- Bacterias anaerobias facultativas.
  Bacterias que se caracterizan por una peculiar versatilidad en el aspecto respiratorio, pues se desarrollan tanto en presencia como en ausencia de oxigeno atmosférico

- Cepa bacteriana
  Todos los organismos descendientes de un cultivo puro, por tanto, con fenotipo y genotipo definidos.

- API 20: Es un sistema de identificación de bacterias anaerobias, permite estudiar 21 caracteres destinados a la identificación bioquímica de las bacterias anaerobias.

2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.3.1 Área Problema

Los principales microorganismos presentes dentro de los conductos radiculares en dentición primaria y el desarrollo de las patologías pulpares y periapicales tienen mucha importancia debido a que estos son los causantes de la reacción inflamatoria y por ende de los síntomas y signos que esto origina, por eso es importante comprender la infección y discriminar que medicamentos para la irrigación y obturación de estos conductos serán usados, además nos servirá para poder comprender las infecciones recurrentes en el accionar clínico.

El presente proyecto se realizara en la Clínica Odontológica de la Facultad De Odontología de la UNMSN, en la especialidad de Odontopediatría.

2.3.2 Delimitación

Cualquier lesión de la pulpa puede desencadenar una respuesta inflamatoria de la misma. Si bien los irritantes pueden ser de naturaleza física, térmica o química, los microorganismos son considerados el principal agente etiológico. Las patologías pulpares y periapicales suelen ser un resultado directo o indirecto de la presencia de bacterias y otros microorganismos en el medio bucal.

El presente estudio identificará al *Fusobacterium nucleatum* de conductos radiculares con diagnóstico de necrosis pulpar y lesiones periapicales de dientes deciduos, este microorganismo forma parte del grupo de bacterias

anaerobias estrictas y está relacionada con las necrosis pulpares, y se analizará la susceptibilidad que estas presentan a las soluciones irrigadoras como la clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de Sodio al 1% y al 5%.

2.3.3 Formulación del Problema

¿Está presente el *Fusobacterium nucleatum* en los conductos radiculares de dientes deciduos que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales en pacientes de entre 3-10 años y cuál es la susceptibilidad que este presenta a la clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de Sodio al 1%y al 5%?

2.4 JUSTIFICACIÓN

Dado que los microorganismos desempeñan un papel primordial en la patogénesis de las lesiones pulpares y perirradiculares es preciso manejar los fundamentos de la microbiología endodóntica para entender el papel que desempeñan en estas afecciones, las vías de difusión de la infección pulpar y periapical, las respuestas de los tejidos ante estos agresores y los métodos utilizados para controlar y erradicar las infecciones del sistema de conductos radiculares.

Actualmente en nuestro país no se encuentra mucha información sobre los microrganismos presentes en necrosis pulpares y su susceptibilidad a las diferentes sustancias irrigadoras y menos información aun en relación a dentición primaria con necrosis pulpar. Al buscar información para este estudio se pudo apreciar que la información encontrada es de origen extranjero por lo tanto de realidades diferentes. Al mismo tiempo en nuestro país, en las clínicas de las universidades son usados diferentes irrigantes y muchas veces se elige al que se tiene más acceso o simplemente más costumbre de usar, y no siempre resulta siendo el más efectivo.

2.5 OBJETIVOS

2.5.1 Objetivo General

- Identificar al *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares en dentición primaria que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales y analizar la susceptibilidad que presenta a las sustancias irrigadoras más comúnmente usadas en odontopediatría.

2.5.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia del *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares en dentición primaria que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales
- Analizar la susceptibilidad del *Fusobacterium nucleatum* a la clorhexidina al 0,12%.
- Analizar la susceptibilidad del *Fusobacterium nucleatum* a la clorhexidina al 2%.
- Analizar la susceptibilidad del *Fusobacterium nucleatum* al hipoclorito de Sodio al 1%.
- Analizar la susceptibilidad del *Fusobacterium nucleatum* al hipoclorito de Sodio al 5%.
- Comparar la efectividad de la clorhexidina al 0,12%, 2% y el hipoclorito de sodio al 1% y al 5%.

2.6 HIPÓTESIS

Está presente el microrganismo anaerobio estricto, *Fusobacterium nucleatum* en los conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales y este es susceptible a la clorhexidina al 0,12, ya al 2% y al hipoclorito de sodio al 5%.

La clorhexidina al 2% presenta más efecto inhibitorio que el hipoclorito de Sodio al 5 %, que a su vez presenta más efecto inhibitorio que la Clorhexidina al 0,12%, y el que presenta menor efecto inhibitorio es el Hipoclorito de Sodio al 1%.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental ya que se aisló al *Fusobacterium nucleatum* de conductos necróticos de dientes deciduos y se evaluó la susceptibilidad de este frente a los irrigantes.

Es prospectivo porque se van registrando los datos a medida que se van obteniendo.

Y es de tipo transversal porque las variables involucradas son evaluadas en un momento determinado.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 Población

Los pacientes que colaboraron con este estudio fueron seleccionados de la Clínica Odontológica de la Facultad De Odontología de la UNMSN, de la especialidad de Odontopediatría. Pacientes entre 3-10 años con el diagnóstico de necrosis pulpar en dientes deciduos determinado clínicamente así como por la observación de una imagen radiolúcida perirradicular en la radiografía periapical correspondiente. En todos los casos se obtuvo la firma del correspondiente consentimiento informado según formato aprobado.

3.2.2 Muestra

La muestra está constituida por 32 piezas dentales temporales que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales.

3.3 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

3.3.1 VARIABLE INDEPENDIENTE

VARIABLE INDEPENDIENTE: SOLUCIONES IRRIGADORAS				
DEFINICION	**DIMENSION**	**INDICADORES**	**ESCALA**	**CATEGORIA**
Soluciones o diluciones que en razón de sus propiedades físico-químicas particulares limpian y/o desinfectan las paredes del canal radicular, y originan la disolución de los tejidos.	Clorhexidina al 0,12%	Presencia o Ausencia del irrigante.	Nominal	SI NO
	Clorhexidina al 2%			
	Hipoclorito de Sodio al 1%			
	Hipoclorito de Sodio al 5%			

3.3.2. VARIABLES DEPENDIENTES

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA	CATEGORIA
Presencia del *Fusobacterium nucleatum*	Presencia en Conductos con Necrosis y lesiones periapicales. .	Pruebas bioquímicas específicas determinadas por el Sistema API 20A. Ureasa (-) Catalasa (-) Gelatina (-) Glucosa (-) Indol (+)	Nominal	SI NO
Susceptibilidad	Clorhexidina al 0,12%	Tamaño del halo de inhibición	Razón	mm
	Clorhexidina al 2%			
	Hipoclorito de Sodio al 1%			
	Hipoclorito de Sodio al 5%			

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Procedimientos y técnicas

3.4.1.1 Selección del paciente.

Este estudio se realizó considerando solamente a las piezas dentarias que cumplen con los criterios de inclusión establecidos.

3.4.1.1.1 Criterios de inclusión

- Los pacientes que participaron del presente estudio fueron seleccionados tomando un criterio de inclusión, el cual fue una lesión apical crónica radiográficamente demostrable sobre un diente deciduo con pulpa necrótica.
- Paciente en buen estado de salud general; lo cual se concluyó luego de la entrevista previa al tratamiento.
- Pieza dentaria a tratarse debió presentar conductos rectos.
- Presentar el consentimiento informado firmado por los padres o apoderados de los pacientes que participaron en este estudio.

3.4.1.1.2 Criterios de exclusión

- Fueron excluidos de este estudio los pacientes que estuvieron con medicación antibiótica 2 semanas previas al tratamiento.
- Pacientes que hayan recibido algún tipo de atención odontológica de urgencia (aperturas, medicación intracanal).
- Se excluyó además a aquellas piezas dentales que no presenten las condiciones para un adecuado aislamiento y las que presenten un conducto de trayecto sinuoso.

3.4.2.2 Toma de muestra de los dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales

a. Una vez realizado el diagnóstico, se procedió a realizar el aislamiento absoluto de la pieza dental

b. Luego se procedió a la desinfección de la misma, mediante la acción bactericida de la Clorhexidina 0.12%.

c. Después de realizar el acceso cameral, se aisló con una torunda pequeña de algodón estéril la entrada del conducto radicular y se desinfectó la parte cameral interna mediante la acción bactericida de la Clorhexidina 0.12%.

d. Una vez expuesto el conducto, se insertó conos de papel de endodoncia estéril en el interior del mismo, y se dejó ahí por espacio de 30 segundos para que absorba toda la exudación posible.

e. Luego se procedió a extraer el cono de papel utilizando para ello una pinza estéril para algodón, y en menos de 30 minutos posteriores se procedió a su siembra para cultivo en el laboratorio

3.4.2.3. Transporte y procesamiento de muestras

La muestra fue transportada al laboratorio en el caldo Tioglicolato y se procesó dentro de los 30 minutos.

3.4.2.3.1. Siembra y Aislamiento

Se realizó la siembra por el método de la estría en las placas del agar Schaedler.

Medio de cultivo para bacterias anaerobias estrictas

El agar Schaedler más el 5 % de sangre de cordero es un medio para la recuperación de bacterias anaerobias estrictas y facultativas.

El agente reductor (L-cistina) y la elevada concentración de dextrosa en el medio favorecen el crecimiento de especies anaerobias.

También presenta factores de crecimiento como el extracto de levadura, la hemina y la vitamina K3.

También fueron añadidos eritromicina y cristal violeta como agentes inhibidores selectivos en concentraciones de 4 y 5 microgramos / ml, respectivamente.

Las placas sembradas se incubaron en una jarra de anaerobiosis conteniendo un sobre generador de anaerobiosis por 7 días a 37°C.

3.4.2.3.2. Lectura e interpretación del crecimiento bacteriano

La identificación de las colonias de *Fusobacterium* se hizo en base a sus características culturales en el medio de cultivo.

El análisis morfológico de las células que conforman la colonia se realizó mediante frotis y tinción de Gram. Observadas al microscopio, con lente de inmersión, las células de *Fusobacterium* aparecieron como bacilos rectos Gram negativos.

Una vez identificadas las colonias se procedió a realizar una resiembra en agar Schaedler y luego se procedió a la preparación del inóculo para la identificación bioquímica.

3.4.2.3.3. Identificación con Pruebas Bioquímicas.

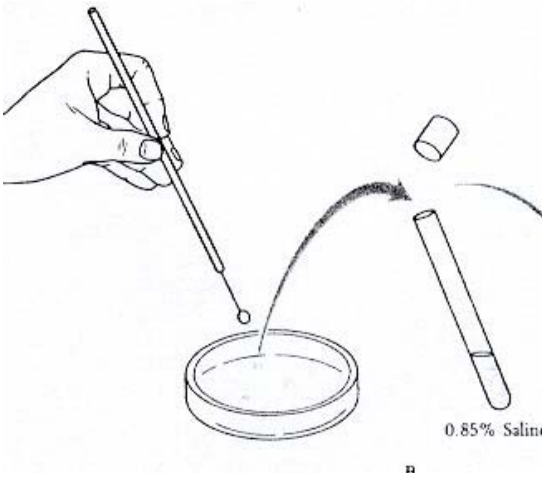
Preparación del inóculo

A partir de las colonias identificadas morfológicamente, se suspendieron 3-5 de ellas hasta obtener la concentración número 3 de turbidez de la escala de Mc Farland.

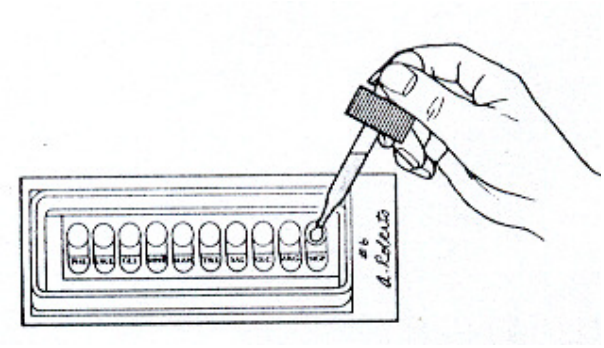
La identificación se hizo utilizando el kit de API 20 A. La prueba está compuesta por 20 microtubos que contienen substratos deshidratados. Estos se inoculan con una suspensión bacteriana que reconstituye los substratos. Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen en cambios de color, espontáneos o provocados mediante la adición de reactivos que se obtiene siguiendo las indicaciones correspondientes.

Procedimiento

a. Preparación del inóculo, suspensión bacteriana



b. Llenado con la suspensión bacteriana cada celda o tubitos que contiene los sustratos correspondientes mediante la pipeta



c. Incubación en condiciones de anaerobiosis por 7 días a 37°C.
d. Realización de la lectura e interpretación según las instrucciones del fabricante

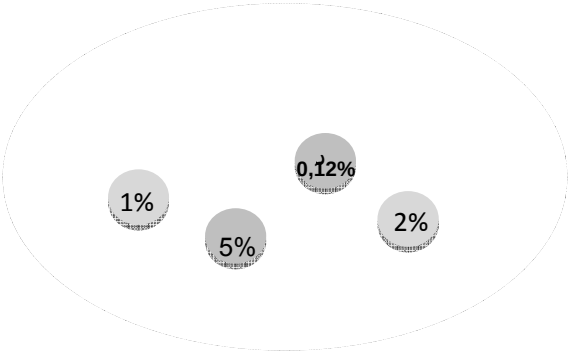
Una vez identificada el microorganismo se procedió a replicar en placas del agar Schaedler. Para de esta manera realizar la prueba de susceptibilidad.

3.4.2.3.4. Prueba de Susceptibilidad.

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en discos.

Una vez sembrado el *Fusobacterium Nucleatum* por diseminación en las placas de agar Schaedler se procedió a colocar los discos embebidos con 10µl de clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de sodio al 1% al y al 5%

respectivamente, y también con el agua destilada que vendría a ser el control, estos discos estarán debidamente marcados.



Finalmente con un calibrador milimetrado se procedió a tomar las medidas de los halos de inhibición y los resultados se anotaron en la ficha de recolección de datos.

3.4.2.4 Materiales

A. Materiales de vidrio

- Tubos de ensayo con tapa rosca.
- Lámina cubre y portaobjetos.
- Mechero de vidrio.
- Placas Petri.

B. Materiales de laboratorio

- Agar Schaedler enriquecido.
- Reactivos para Coloración Gram.
- Sistema de Diagnóstico microbiológico API 20 A
- Caldo tioglicolato.
- Clorhexidina al 0,12% y 2%
- Hipoclorito de Sodio al 1% y 5%

C. Equipos de laboratorio
   - Estufa de incubación.
   - Jarra de anaerobiosis.
   - Asa de siembra.

D. Materiales de clínica
   - Materiales de diagnóstico odontológico.
   - Jeringas descartables 20cc y agujas descartables.
   - Jeringa de tuberculina
   - Conos de papel estériles
   - Gasas y algodón estériles
   - Dique de Goma.
   - Lima para endodoncia tipo K No 15 o 20 Maillefer.

E. Otros
   - Cámara fotográfica
   - Fichas de recolección de datos
   - Lapiceros y lápices.
   - Regla milimetrada
   - Computadora.
   - Programa estadístico SPSS.

3.4.2. Recolección de datos.

La recolección de datos se realizó de forma manual, para lo cual se realizaron dos fichas de datos:

- Consentimiento Informado

Todos los procedimientos del presente estudio tratan de preservar la integridad y los derechos fundamentales de los pacientes sujetos a investigación, de acuerdo con los lineamientos de las buenas prácticas clínicas y de ética en investigación biomédica. Se garantiza la confidencialidad de los datos obtenidos.

Debido a esto en la ficha se explicó al padre o apoderado el objetivo de este estudio, los procedimientos a realizar si accede a formar parte de él, en esta ficha también se colocaron los datos del niño y del padre o apoderado que dio la autorización.

- Ficha de Recolección de datos

Se elaboró una ficha de datos en el cual se anotaron los resultados obtenidos de la identificación del *Fusobacterium nucleatum* y resultados de las pruebas de susceptibilidad a los irrigantes. Para la medición de los halos se empleó una regla correctamente calibrada. Se verifico cada una de las fichas para evitar errores u omisiones en los datos que pudieran perjudicar la investigación.

IV. RESULTADOS

En este estudio se analizaron 32 muestras de exudado tomadas de conductos con diagnóstico de necrosis pulpar en dientes deciduos determinado clínicamente así como por la observación de una imagen radiolúcida perirradicular en la radiografía periapical correspondiente.

Todos los pacientes que participaron en este estudio fueron niños entre 3-10 años que acudieron a la clínica de odontología de la UNMSM al área de odontopediatría, y contaron con un consentimiento informado firmado por el padre o apoderado.

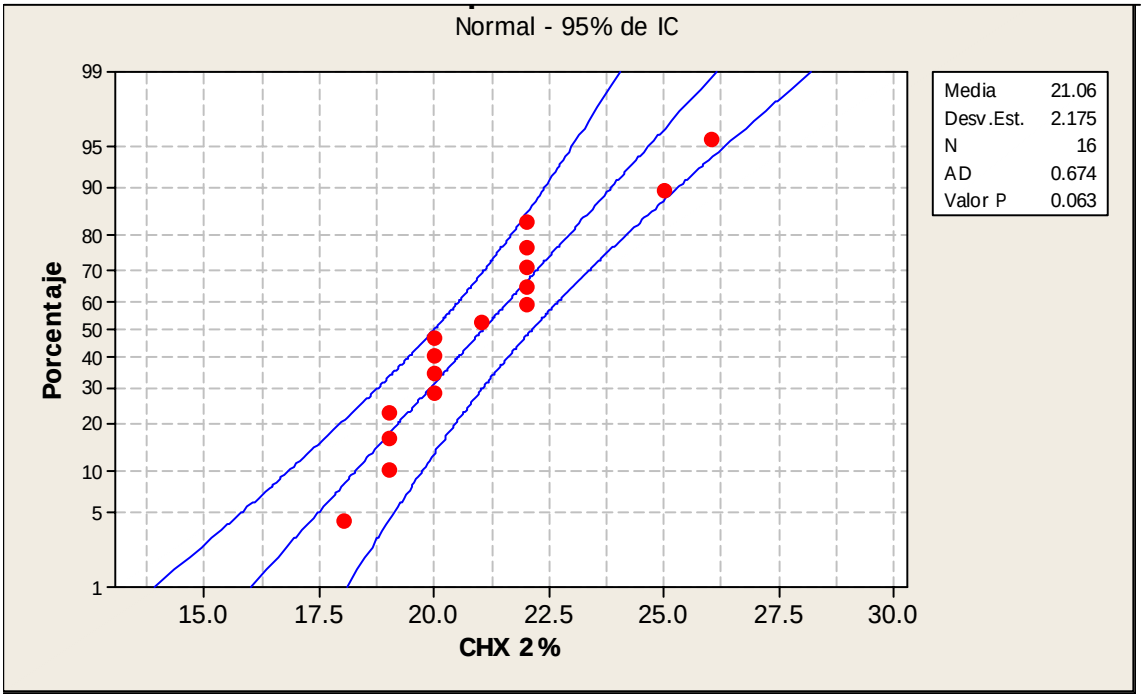
De estas muestras tomadas se pudo realizar 16 pruebas de susceptibilidad con el *Fusobacterium nucleatum* aislado, se realizaron pruebas con cada uno de los irrigantes: A) Clorhexidina al 2%, B) Clorhexidina al 0,12%, C) Hipoclorito de Sodio al 1% e D) Hipoclorito de Sodio al 5%.

Una vez tenido las medidas de los halos de inhibición se pensó en aplicar la prueba *t-student* para contraste de medias. Pero para aplicar esta prueba se requirió probar que ambas muestras se aproximaran a una distribución normal y se evaluó la homogeneidad de varianzas y esto se realizó con la prueba de *Anderson-Darling*. En caso no siguieran una distribución normal, se aplicó la prueba de *Mann-Whitney*, la cual es una prueba no paramétrica que tiene como requisito único que las muestras sean de datos de nivel ordinal por lo menos.

Para todas las pruebas se utilizó un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

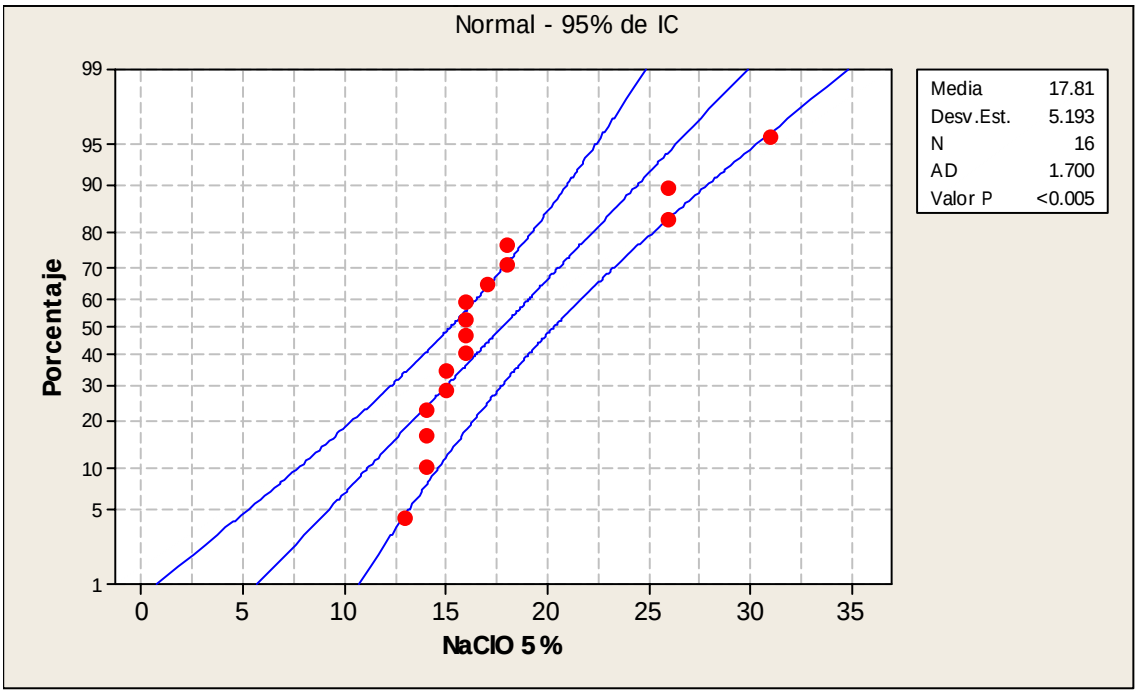
Pruebas de Normalidad: Anderson-Darling

GRAFICA 1: GRAFICA DE PROBABILIDAD DE LA CLORHEXIDINA AL 2%.



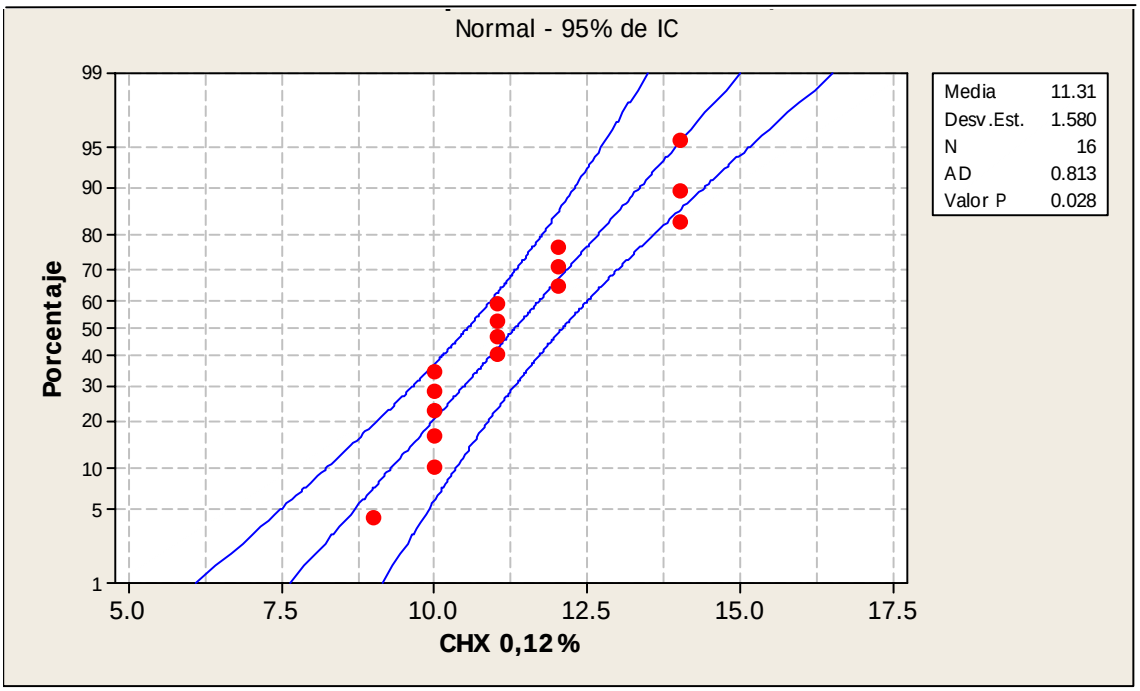
GRAFICA 1: Como el p-valor = 0.063 > α = 0.05, se corroboró que la distribución seguía una distribución normal.

GRAFICA 2: GRAFICA DE PROBABILIDAD DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 5%.



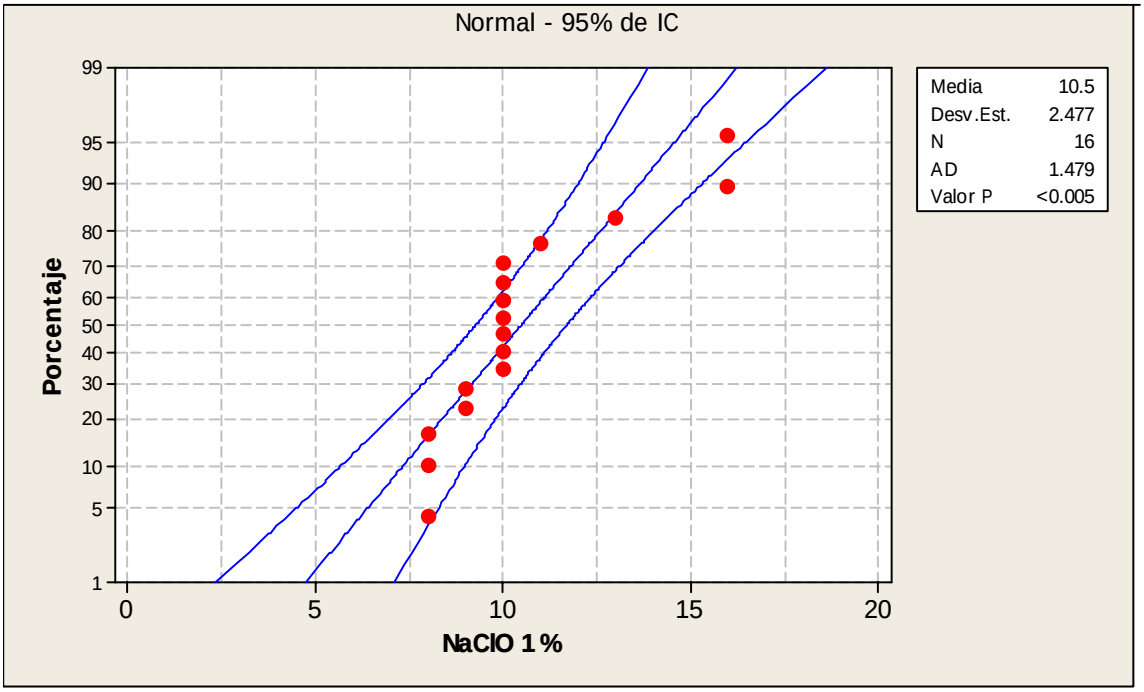
GRAFICA 2: Como el p-valor < 0.005 < α = 0.05, se pudo afirmar que la distribución no seguía una distribución normal, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 3: GRAFICA DE PROBABILIDAD DE LA CLORHEXIDINA AL 0,12%



GRAFICA 3: Como el p-valor = 0.028 < α = 0.05, se pudo afirmar que la distribución no seguía una distribución normal, con un 95% de confiabilidad.

GRAFICA 4: GRAFICA DE PROBABILIDAD DEL HIPOCLORITO DE SODIO AL 1%.



GRAFICA 4: el p-valor < 0.005 < α = 0.05, se pudo afirmar que la distribución no seguía una distribución normal, con un 95% de confiabilidad.

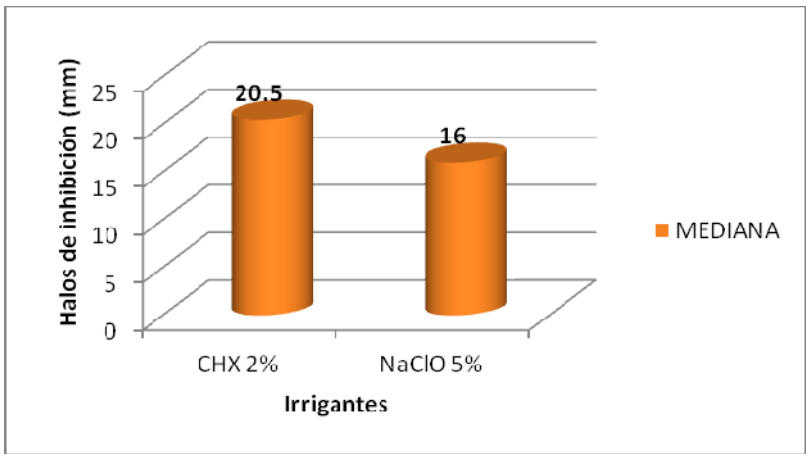
En resumen se obtuvo lo siguiente:

TABLA 1: RESUMEN DE LAS NORMALIDADES DE CADA IRRIGANTE

COMPUESTO	NORMALIDAD
1. Clorhexidina al 2%	Sí
2. Hipoclorito de Sodio al 5%	No
3. Clorhexidina al 0,12%	No
4. Hipoclorito de Sodio al 1%	No

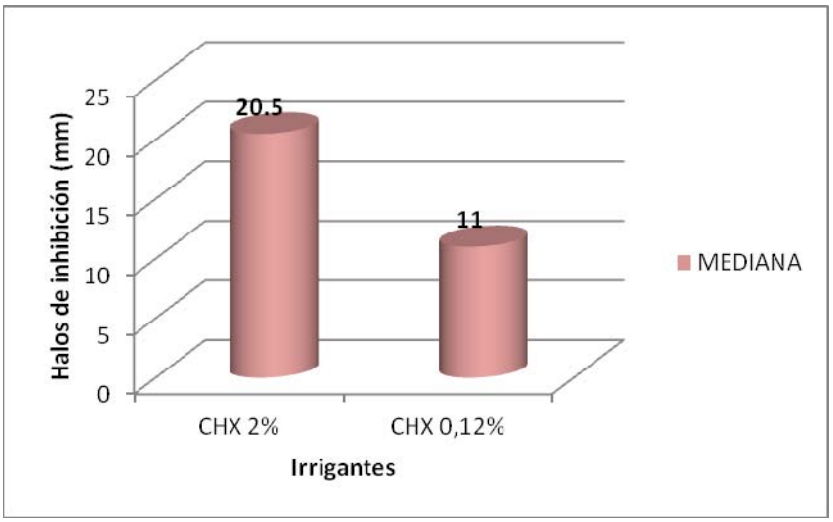
TABLA 1: Se observó que sólo la Clorhexidina al 2% seguía una distribución normal. Debido a esto, no se pudo aplicar la prueba *t-student*, y se procedió a aplicar la prueba de *Mann-Whitney*.

GRÁFICA 5: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* A LA CHX 2% Y AL NaClO 5%



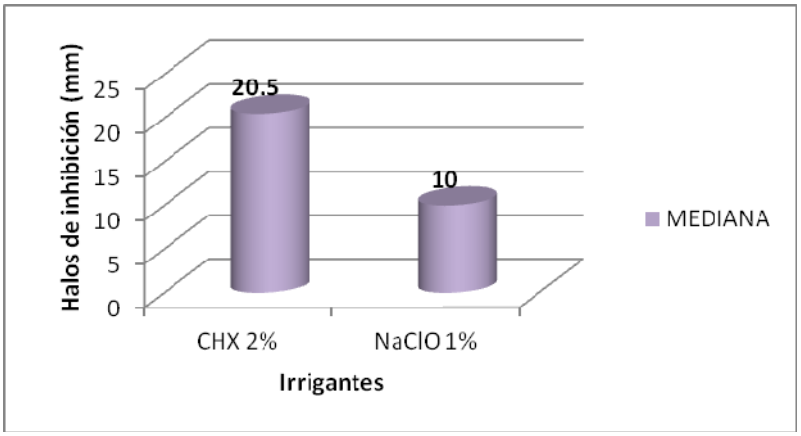
GRÁFICA 5: **Se puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* a la Clorhexidina al 2% es mayor que al Hipoclorito de Sodio al 5%.** Como p-valor = 0.0013 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce la Clorhexidina al 2% es mayor al halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 5%, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 6: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* A LA CHX 2% Y A LA CHX 0,12%



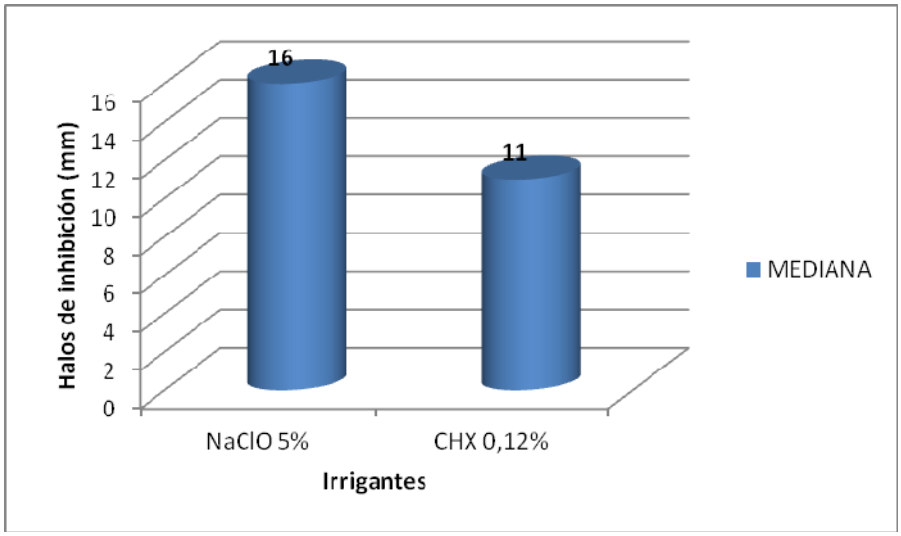
GRÁFICA 6: **Se puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* a la Clorhexidina al 2% es mayor que a la Clorhexidina al 0,12%.** Como p-valor = 0.0000 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce la Clorhexidina al 2% es mayor al halo (mm) que produce Clorhexidina al 0,12%, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 7: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* A LA CHX 2% Y AL NaClO 1%



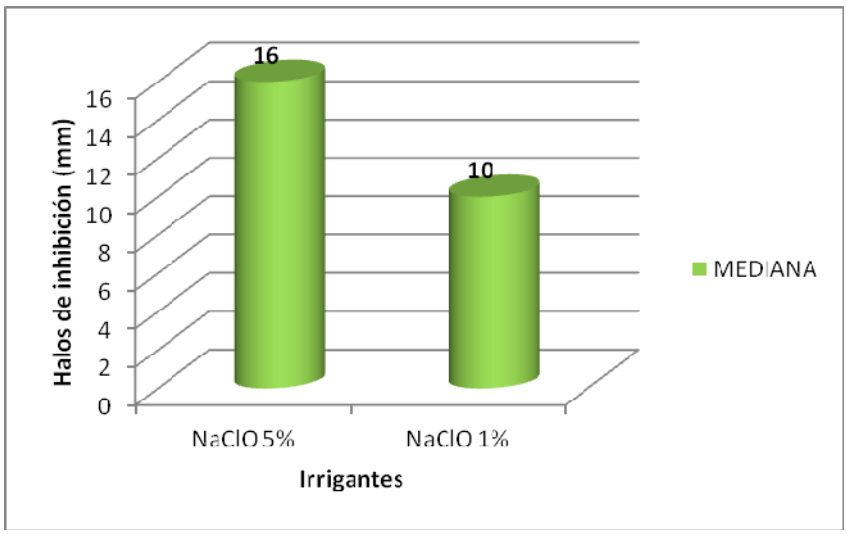
GRÁFICA 7: S**e puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* a la Clorhexidina al 2% es mayor que al Hipoclorito de Sodio al 1%.** Como p-valor = 0.0000 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce la Clorhexidina al 2% es mayor al halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 1%, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 8: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* AL NaClO 5% Y A LA CHX 0,12%



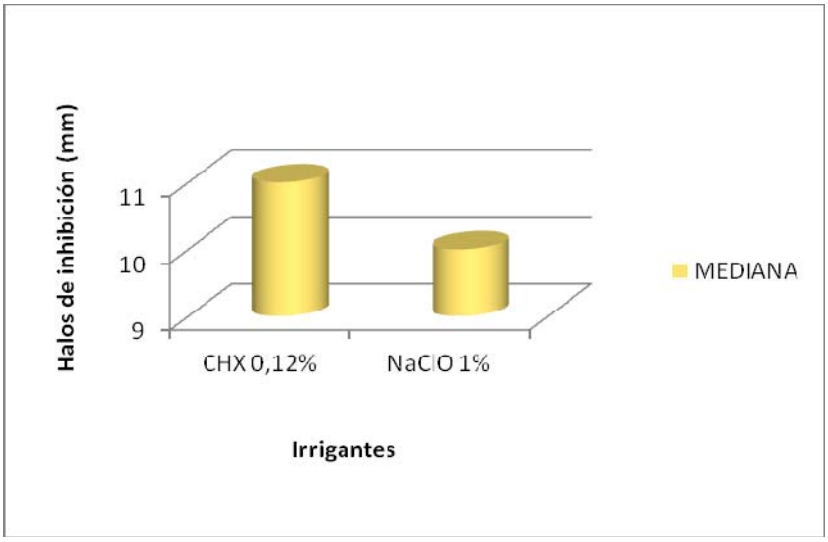
GRÁFICA 8: **Se puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* al Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor que a la Clorhexidina al 0,12%.** Como p-valor = 0.0000 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor al halo (mm) que produce la Clorhexidina al 0,12%, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 9: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* AL NaClO 5% Y AL NaClO 1%



GRÁFICA 9**: Se puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* al Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor que al Hipoclorito de Sodio al 1%.** Como p-valor = 0.0000 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 5% es mayor al halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 1%, con un 95% de confiabilidad.

GRÁFICA 10: COMPARACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL *F. nucleatum* A LA CHX 0,12% Y AL NaClO 1%



GRÁFICA 10: **Se puede afirmar que la susceptibilidad de la bacteria *Fusobacterium nucleatum* a la Clorhexidina al 0,12% es mayor que al Hipoclorito de Sodio al 1%.** Como p-valor = 0.0285 < α = 0.05, se pudo corroborar que el halo (mm) que produce la Clorhexidina al 0,12% es mayor al halo (mm) que produce el Hipoclorito de Sodio al 1%, con un 95% de confiabilidad.

En resumen, se corroboró estadísticamente a un nivel de significancia de 5% lo siguiente:

TABLA 2: RESUMEN DE EFECTO BACTERICIDA POR COMPUESTO FRENTE A LA BACTERIA *Fusobacterium nucleatum*

EFECTO BACTERICIDA POR COMPUESTO FRENTE A LA BACTERIA *Fusobacterium nucleatum*			
COMPUESTO		**COMPUESTO**	**p-VALOR**
1. Clorhexidina al 2%	>	2. Hipoclorito de Sodio al 5%	0.0013
1. Clorhexidina al 2%	>	3. Clorhexidina al 0,12%	0.0000
1. Clorhexidina al 2%	>	4. Hipoclorito de Sodio al 1%	0.0000
2. Hipoclorito de Sodio al 5%	>	3. Clorhexidina al 0,12%	0.0000
2. Hipoclorito de Sodio al 5%	>	4. Hipoclorito de Sodio al 1%	0.0000
3. Clorhexidina al 0,12%	>	4. Hipoclorito de Sodio al 1%	0.0285

TABLA 3: COMPARACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm). MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CADA IRRIGANTE FRENTE AL *Fusobacterium nucleatum*

HALOS DE INHIBICIÓN (mm). MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR				
ESTADÍSTICO	**CHX 2%**	**NaClO 5%**	**CHX 0,12%**	**NaClO 1%**
Media	21.06	17.81	11.31	10.50
Desviación Estándar	2.17	5.19	1.58	2.48

GRAFICA 11: COMPARACIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm). MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CADA IRRIGANTE FRENTE AL *Fusobacterium nucleatum*

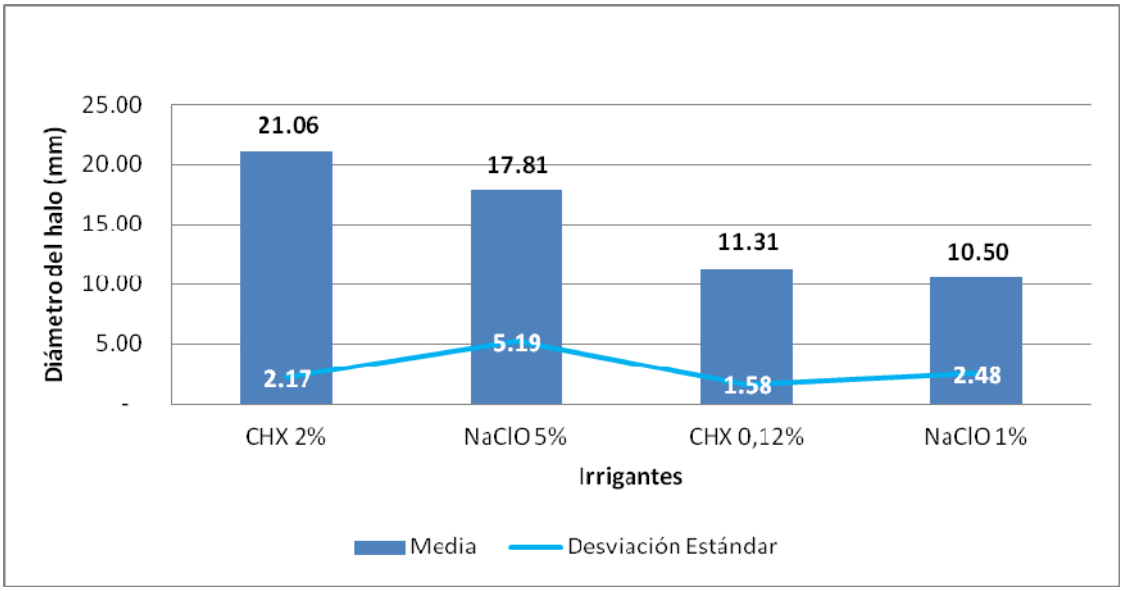


TABLA 3 y GRÁFICA11**:** Estas Ilustran las medias de los halos de inhibición obtenidos luego de realizar la prueba de susceptibilidad al *Fusobacterium nucleatum* con cada uno de los irrigantes utilizados en este estudio. La clorhexidina al 2% fue el irrigante más efectivo de los cuatro probados, seguida en efectividad por el Hipoclorito de Sodio al 5%, seguida por la clorhexidina al 0,12% y por último de los cuatro irrigantes probados en este estudio el de menor efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum* lo tuvo el Hipoclorito de Sodio al 1%.

V. DISCUSIÓN

Los conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales, son originadas por infecciones microbianas, estas infecciones están constituidas por un gran número de variedades de microorganismos predominantemente por microrganismos anaerobios como lo descrito por Cunha (2003)[5], el cual encontró bacterias anaerobias en un 96,7% de su muestra y Sato (1993)[1] encontró que un 91% eran bacterias anaerobias estrictas.

Dentro de esta amplia gama de bacterias anaerobias, está una especie muy importante que es la bacteria anaerobia estricta llamada *Fusobacterium nucleatum*, de la cual no se encuentran muchas investigaciones similares en nuestro país, en este trabajo este microorganismo fue aislado y pudo llevarse a cabo las 16 pruebas de susceptibilidad presentadas, este *F. nucleatum* contiene endotoxinas, las cuales son el principal factor de patogenicidad y ejerce su efecto en la exacerbación de las reacciones inflamatorias, es capaz de inducir respuestas inflamatorias a nivel periapical aun en pequeñas cantidades, además se encuentra en una alta prevalencia en los conductos con necrosis pulpar en dientes deciduos como lo señala Sato (1993)[1], de los anaerobios estrictos que aisló el 13% era *Fusobacterium nucleatum*, Sassone (2007)[14] encontró al *Fusobacterium nucleatum* en un 85,7% de su muestra, así mismo Tavares (2011)[18] utilizando la prueba de hibridación Checkerboard ADN-ADN analizo 32 muestras en las cuales identificó al *Fusobacterium nucleatum* en un 50%, así como Gomes (2012)[19] el cual analizó 15 muestras encontrando a nivel de cámara pulpar al *Fusobacterium nucleatum* en un 80% y a nivel de conductos radiculares en un 93.3%.

La muestras fueron tomadas de dientes deciduos con diagnóstico de necrosis de niños entre 3-10 años, y se aisló el *Fusobacterium nucleatum* para la prueba de susceptibilidad, a diferencia de los estudios de Spratt (2001)[3], Ferreira (2002)[4], Estrela (2003)[6], Sassone (2003)[7], Sena (2006)[13], los cuales adquirieron las cepas del *F. nucleatum* y estas fueron activadas en el laboratorio. Así mismo una vez aislado el *F. nucleatum* las pruebas de susceptibilidad fueron realizadas in vitro, a

diferencia de los estudios de Ercan (2004)[9], Tanomaru (2006)[12] y Rôças (2011)[17] que realizaron la prueba de susceptibilidad in vivo, tomando muestras de los conductos necróticos antes y después de utilizados los irrigantes.

La prueba de susceptibilidad se realizó utilizando el método de difusión en discos, esta técnica también fue utilizada por Estrela (2003)[6] a diferencia de los estudios de Ferreira (2002)[4], Vianna (2004)[8], Carson (2005)[11] que utilizaron el método de dilución en agar.

En la presente investigación fueron probados 4 irrigantes: Clorhexidina al 0,12% y 2% y el Hipoclorito de Sodio al 1% y al 5% y se utilizó como control el agua destilada. De estos cuatro irrigantes se pudo determinar que todos tienen un efecto antimicrobiano frente al *F. nucleatum*, como lo afirmado por Sassone (2003)[7] y Sassone (2008)[14] el cual evaluó la clorhexidina al 0,12% 0,5% y al 1% y el Hipoclorito de Sodio al 1% y 5% por medio de prueba de contacto en diferentes intervalos de tiempo y concluyo que todos poseen un efecto antimicrobiano, pero es recomendable para lograr una mejor eliminación utilizar la clorhexidina en una concentración mayor a 0,12%, de la misma manera Sena (2006)[13] el cual evaluó el efecto antimicrobiano del Hipoclorito de Sodio al 2,5% y al 5,25% y el gel y solución de Clorhexidina al 2% frente al *F. nucleatum* y concluyó que este fue eliminado en 30 segundos por todos los irrigantes, y así como se pudo comprobar en este estudio la Clorhexidina al 2% y el Hipoclorito de Sodio al 5% son los que presentan un mayor efecto inhibitorio, igual este afirma que los más eficaces fueron el Hipoclorito al 5,25% y la Clorhexidina al 2%, al igual Rôças (2011)[17] evaluó la actividad antimicrobiana de la Clorhexidina al 0,12% y el Hipoclorito de Sodio al 2,5% y concluyó que ambas sustancias fueron significativamente eficaces en la reducción de niveles bacterianos.

En este trabajo también se comparó la eficacia de los irrigantes mediante la medición de los halos de inhibición de cada irrigante evaluado, aunque todos presentan un efecto antimicrobiano cada uno de los irrigantes tuvo un nivel de eficacia diferente frente al microrganismo estudiado, el *F. nucleatum*, y se pudo llegar a la conclusión, concordando con la hipótesis planteada al inicio de este trabajo, que la clorhexidina al 2% fue el irrigante más efectivo de los cuatro probados, lo cual también es afirmado por Ohara (1993)[2] y Tanomaru (2006)[12], los

cuales concluyen que la clorhexidina es el antibacteriano más eficaz de los irrigantes que evaluaron en su estudio y entre estos también se encontraba el Hipoclorito de Sodio, así mismo Estrela (2003)[6] definió a la clorhexidina como el irrigante con mayor eficacia utilizando la prueba de difusión en agar; el segundo irrigante con mayor eficacia inhibitoria es el Hipoclorito de Sodio al 5%, seguida por la clorhexidina al 0,12% y por último de los cuatro irrigantes probados en este estudio el de menor efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum* lo tuvo el Hipoclorito de Sodio al 1%, concordando con Tanomaru (2005)[10] y (2006)[12] que estudio la actividad antimicrobiana del Hipoclorito de Sodio al 1%, 2,5% y 5,25% y de la Clorhexidina al 1% y al 2% en solución y en gel al 2%, y el orden de eficacia encontrado fue: clorhexidina soluciones y gel, luego Hipoclorito de Sodio al 5,25%, seguida de las concentraciones al 2,5% y 1%.

Los resultados de esta investigación han demostrado que tanto la Clorhexidina al 0,12% y el hipoclorito de Sodio al 1% presentan un halo de inhibición muy parecido entre ellos y se evidencia una marcada diferencia con la Clorhexidina al 2% y el Hipoclorito al 5%.

Al contrario de lo hallado en este trabajo Estrela (2003)[6] utilizando una técnica diferente a la usada en este trabajo, que es la prueba de exposición directa, encontró que el Hipoclorito de Sodio es el más eficaz como antimicrobiano, los mismos resultados fueron encontrados por Carson (2005)[11] que utilizando la prueba de difusión en agar concluye que la eficacia mayor lo tiene el Hipoclorito de Sodio al 6%, seguido por el Hipoclorito de Sodio al 3%, seguido por la Clorhexidina al 2% y el de menor eficacia es la clorhexidina al 0,12%.

VI. CONCLUSIONES

- Se identificó al *Fusobacterium nucleatum* en los conductos radiculares de dientes deciduos que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales.

- La Clorhexidina al 0,12% presenta efecto inhibitoria frente al *Fusobacterium nucleatum.*

- La Clorhexidina al 2% presenta efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum.*

- El Hipoclorito de Sodio al 1% presenta efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum.*

- El Hipoclorito de Sodio al 5% presenta efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum.*

- La Clorhexidina al 2% es el irrigante con mayor efectividad inhibitoria, seguida por el Hipoclorito de Sodio al 5%, a continuación y con una marcada diferencia la clorhexidina al 0,12% y por último de los cuatro irrigantes probados en este estudio el de menor efecto inhibitorio frente al *Fusobacterium nucleatum* lo tuvo el Hipoclorito de Sodio al 1%

VII. RECOMENDACIONES

- De acuerdo a lo encontrado en este estudio el irrigante que debe ser usado por su mayor actividad antimicrobiana es la Clorhexidina al 2% para poder asegurar una más eficiente eliminación del *Fusobacterium nucleatum* en los conductos de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales y así poder eliminar las reacciones inflamatorias.

- Realizar investigaciones similares empleando otros métodos microbiológicos, como lo son las técnicas moleculares para poder tener una mayor eficiencia en la identificación de las especies bacterianas y también poder obtener una mayor variedad de microorganismos para evaluar.
- Realizar estudios de este tipo, donde se realice la prueba de susceptibilidad a los irrigantes in vivo para poder evaluar el nivel de eficiencia durante la irrigación de los conductos necróticos.

- Realizar estudios comparando la Clorhexidina y el Hipoclorito de Sodio en otras concentraciones que también sean usadas comúnmente.

- Realizar estudios donde se pruebe la susceptibilidad a irrigantes de otros microorganismos anaerobios estrictos con alta prevalencia en conductos con necrosis y lesiones periapicales.

- Realizar estudios donde se pruebe la susceptibilidad a irrigantes de otros microorganismos con alta prevalencia en conductos con necrosis y lesiones periapicales.

RESUMEN

Existe un alto índice de niños que padecen de caries dental y de estas un gran número de piezas dentarias ya presentan lesiones pulpares, una de ella es la necrosis pulpar, por esto identificamos a uno de los principales causantes de esta, que es el *Fusobacterium nucleatum* y la sensibilidad que este presenta a algunos de los irrigantes más usados en la práctica odontológica, esto nos ayudará a poder planear un eficaz tratamiento, evitando la perdida de estas piezas dentarias.

OBJETIVO: Identificar al *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares en dentición primaria que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales y analizar la susceptibilidad que presenta a las sustancias irrigadoras más comúnmente usadas en odontopediatría.

MATERIALES Y MÉTODOS: La muestra está constituida por 32 piezas dentales temporales, tomadas de pacientes de entre 3-10 años con el diagnóstico clínico y radiográfico de necrosis pulpar, que fueron a atenderse en el área de Odontopediatría de la Facultad De Odontología de la UNMSM.

Se realizó la toma de muestra y esta fue procesada y analizada en condiciones de anaerobiosis. Se realizó una resiembra para obtener cultivos más puros y así poder realizar la identificación de las colonias de *F. nucleatum* mediante pruebas bioquímicas, para lo cual fue usado el sistema de identificación de anaerobios, API 20A. Una vez identificado al *F. nucleatum*, se procedió a realizar las pruebas de susceptibilidad de este a la Clorhexidina al 0,12%, 2% y al hipoclorito de Sodio al 1% y al 5%, por el método de difusión en discos. Y se realizó lectura de los resultados mediante la medición de los halos de inhibición de cada irrigante.

RESULTADOS: Se identificó al *Fusobacterium nucleatum* en los conductos radiculares de dientes deciduos que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales. De las muestras tomadas se realizaron 16 pruebas de susceptibilidad con el *F. nucleatum* aislado. Todos los irrigantes evaluados presentan un efecto inhibitorio. La clorhexidina al 2% fue el irrigante más efectivo de los cuatro probados, seguida en efectividad por el Hipoclorito de Sodio al 5%, seguida por la clorhexidina al 0,12% y por último el de menor efecto inhibitorio frente al *F. nucleatum* lo tuvo el Hipoclorito de Sodio al 1%.

PALABRAS CLAVE: *Fusobacterium nucleatum*, Necrosis pulpar, Dientes deciduos, Clorhexidina, Hipoclorito de Sodio, Soluciones irrigantes. Susceptibilidad.

ABSTRACT

There is a high rate of children with dental caries and of these a large number present pulp injuries, one of them is pulp necrosis, so we identify one of the main causes of this, which is the *Fusobacterium nucleatum* and the sensitivity that this has a some of the irrigants more used in dental practice, this will help us to plan an effective treatment, avoiding the loss of these teeth.

PURPOSE: Identify the *Fusobacterium nucleatum* in the root canals of primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions and analyze the susceptibility that has to the irrigants commonly used in dentistry.

MATERIALS AND METHODS: The sample consists of 32 temporary teeth, taken from patients between 3-10 years with clinical and radiographic diagnosis of pulp necrosis, which came to the area of Pediatric Dentistry, the Faculty of Dentistry of the UNMSM.

Sampling was performed and this was processed and analyzed under anaerobic conditions. Reseeding is performed to obtain more pure cultures and can perform the identification of colonies of *F. nucleatum* by biochemical tests, for which was used the system API 20A for identification of anaerobic. Once identified the *F. nucleatum*, we proceeded to perform susceptibility testing of this with the chlorhexidine 0.12%, 2% and sodium hypochlorite 1% and 5% by disc diffusion method. And the reading of the results was performed by measuring the inhibition halos of each irrigant.

RESULTS: *Fusobacterium nucleatum* was identified in the root canals of deciduous teeth with necrotic pulp and periapical lesions. Of the samples taken, 16 susceptibility tests were performed with the *F. nucleatum* isolated. All irrigants evaluated have an inhibitory effect. The 2% chlorhexidine was the most effective of the four tested irrigant, followed in effectiveness by Sodium Hypochlorite 5%, followed by 0.12% chlorhexidine and finally the lower inhibitory effect against *F. nucleatum* was from Sodium Hypochlorite 1%.

KEYWORDS: Fusobacterium nucleatum, Necrotic pulp ne, Deciduous teeth, Chlorhexidine, Sodium hypochlorite, Irrigating solutions, Susceptibility.

BIBLIOGRAFIA

1. Sato, T; Hoshino, E; Uematsu, H; Noda, T. Predominant Obligate Anaerobes in Necrotic Pulps of Human Deciduous Teeth. Microbial ecology in health and disease vol. 6: 269-275, 1 993.

2. Ohara P; Torabinejad M; Kettering JD. Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dent Traumatol; 9(3): 95-100, 1993.

3. Spratt DA; Pratten J; Wilson M; Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. Int Endod J; 34(4): 300-7, Junio 2001.

4. Ferreira, CM; Rosa, OP; Torres, SA; Ferreira, FB; Bemardinelli, N. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. Braz Dent J; 13(2): 118-122, 2002.

5. Cunha Pazelli, Luciana y col. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. Pesqui Odontol Bras; 17(4):367-71, 2003.

6. Estrela, C; Ribeiro, RG; Estrela CR; Pécora, JD; Sousa-Neto, MD. Antimicrobial effect of 2 percent sodium hypochlorite and 2 percent chlorhexidine tested by different methods. Braz Dent J; 14(1): 58-62, Jun. 2003.

7. Sassone LM; Fidel RA; Fidel SR; Dias M; Hirata RJ. Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. Braz Dent J; 14(2): 99-102, 2003.

8. Vianna ME; Gomes BP; Berber VB; Zaia AA; Ferraz CC; de Souza-Filho FJ. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine and sodium hypochlorite. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod; 97(1): 79-84, Ene. 2004.

9. Ercan E; Ozekinci T; Atakul F; Gül K. Antibacterial activity of 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite in infected root canal: in vivo study. J Endod; 30(2): 84-7, Feb. 2004.

10. Tanomaru, JM; Rodrigues, VM; Tanomaru M; Spolidorio, DM, Ito, I Y. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de soluções irrigadoras empregadas em endodontia. Rev Paul Odontol; 27(1): 38-40. 2005.

11. Carson KR; Goodell GG y McClanahan SB. Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. J Endod; 31(6): 471-3, Junio 2005.

12. Tanomaru, FM; Yamashita, JC; Leonardo, MR; Silva, LA; Tanomaru, JM y Ito, IY. In vivo microbiological evaluation of the effect of biomechanical preparation of root canals using different irrigating solutions. J. appl. oral sci; 14(2): 105-110. Abril 2006.

13. Sena NT; Gomes BP; Vianna ME; Berber VB; Zaia AA; Ferraz CC; Souza-Filho FJ. In vitro antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. Int Endod J; 39(11): 878-85, 2006 Nov.

14. Sassone L; Fidel R; Figueiredo L; Fidel S; Faveri M; Feres M. Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA-DNA hybridization. Oral Microbiol Immunol. 22(6): 390-7, 2007.

15. Stringhini, E; Oliveira, AC; Watanabe, ZL; Marques, B; Imparato, JC; Pinheiro, SL. Antimicrobial ability of clorexidine and sodium hypochlorite in the primary teeth endodontic. Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent; 62(2): 120-126, 2008.

16. Sassone LM; Fidel RA; Murad CF; Fidel SR; Hirata R. Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests. Aust Endod J; 34(1): 19-24, 2008.

17. Rôças IN; Siqueira JF. Comparison of the in vivo antimicrobial effectiveness of sodium hypochlorite and chlorhexidine used as root canal irrigants: a molecular microbiology study. J Endod; 37(2): 143-50, 2011.

18. Tavares WLF; Neves de Brito LC; Massara MLA; Ribeiro AP; Haffajee AD; Socransky SS; Teles FR. Microbiota of deciduous endodontic infections analyzed by MDA and Checkerboard DNA-DNA hybridization. Int, Endod J; 44(3): 225-235. Mar. 2011.

19. Gomes GM; Sarkis-Onofre R; Menezes ML; Etges A; Castilho R. An investigation of the presence of specific anaerobic species in necrotic primary teeth. Braz Oral Res; 27(2):149-55. Mar- Abr. 2013.

20. Ash, M; Nelson, S. Wheeler: Anatomía, fisiología y Oclusión Dental. 8va Edición España: Elsevier: 514p, 2003

21. Barrancos, J; Barrancos, P. Operatoria Dental: Integración Clínica. 4ta Edición. Argentina; Médica Panamericana: 1134p; 2006

22. Gómez de Ferraris, ME; Campos Muñoz, A. Histología y Embriología e ingeniería tisular. 3ra Edición. México: Médica Panamericana; 468p; 2009.

23. Burnett, GW; Scherp, HW; Schuster, GS. Microbiología y Enfermedades infecciosas de la boca. México: Limusa; 942p. 1986

24. Bordoni, N; Escobar Rojas, A; Castillo Mercado, R. Odontología Pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual. 1ra Ed. Edit. Médica Panamericana, 2010.

25. Leonardo, MB; Leal, ML. Endodoncia. Tratamiento de los conductos radiculares. 2da. Edición, Brasil: Editorial Médica Panamericana; 1994.

26. Negroni, Marta. Microbiologia Estomatológica. 2ª Edición. Argentina: Panamericana 1999.

27. Liebana Ureña, J. Microbiología Oral. 1ra Edición. España: McGraw Hill; 1995.

28. Nolte. WA. Microbiología Odontológica. 3ra Edición. México; Panamericana; 1985.

29. Vivek, R; Manzour, S; Pandey, A. Bacteriology of Infected Deciduous Root Canal. People's Journal of Scientific Research. 2(2): 45-48, 2009.

30. Walton R, Torabinejad, M. Endodoncia: principios y práctica clínica. 1ra Edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México-1991.

31. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, Spano JC, Marchesan M, Pecora JD. Mechanism of action of sodium hypochlorite. Braz dent J.2002;13(2):113-117.

32. Grossman LI. Irrigation of root canals. J Am Dent Assoc 1943; 30:1915–7.

33. Zehnder, M. Root canal irrigants. J.Endod.: 32(5), May 2006; 389-398.

34. Sim TP, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. Int Endod J. 2001; 34:120 –32.

35. Siqueira J, Rocas I, Favieri A. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%,2.5% and 5.25% sodium hypochlorite. J Endod. 2000; 26(6):331-34.

36. Cvek M, Nord CE, Hollender L. Antimicrobial effect of root canal debridement in teeth with immature root. A Clinical and Microbiologic Study. Odontol Rev.1976; 27:1–10.

37. Byström A, Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of Endodontic Therapy. Int. Endod J. 1985; 18:35– 40.

38. Baker NA, Eleazer PD, Averbach RE, Seltzer S. Scanning Electron Microscopic Study of the Efficacy of various Irrigating Solutions. J. Endodon 1975; 1: 127-135.Flora of Freshly Extracted Necrotic Teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982; 53(5): 518-523.

39. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW. The Effect of Chlorhexidine Gluconate Irrigation on the Root Canal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982 May;53(5):518-23

40. Zamany A, Safavi K, Spångberg LS. The Effect of Chlorhexidine as an Endodontic Disinfectant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003; 96:578–81.

41. Jeansonne MJ, White RR. A Comparison of 2.0% Chlorhexidine Gluconate and 5.25% Sodium Hypochlorite as Antimicrobial Endodontic Irrigants. J. Endod.1994; 20:276–8.

42. Evanov C, Liewehr F, Buxton TB, Joyce AP. Antibacterial Efficacy of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine Gluconate Irrigants at 37 Degrees C and 46 degrees C. J Endod.2004;30:653–7.

43. Hennessey TS. Some Antibacterial Properties of Chlorhexidine. J. Periodontal Res. Suppl.1973; 12:61–7.

44. Emilson CG. Susceptibility of Various Microorganisms to Chlorhexidine. Scand J. Dent. Res. 1977; 85:255– 65.

45. Saito, D; de Toledo Leonardo, R; Mazza, JL. Siu Mui Tsai, Höfling, J; Gonçalves, R. Identification of bacteria in endodontic infections by sequence analysis of 16S rDNA clone libraries. Journal of Medical Microbiology 55, 101–107, 2006

46. da Silva, L; Nelson-Filho, P; Faria, G; Souza-Gugelmin, MC; Ito, I. Bacterial Profile in Primary Teeth with Necrotic Pulp and Periapical Lesions. Braz Dent J 17(2): 144-148, 2006.

47. Le Goff, A; Bunetel, L; Mouton, C; Bonnaure-Mallet, M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. Oral Microbiol Immunol. 12(5):318-2, 2007.

48. Cogulu, D; Uzel, A; Oncaga, O; Aksoy, S; Eronat, C. Detection of Enterococcus faecalis in Necrotic Teeth Root Canals by Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. European Journal of Dentistry. Vol. 1: 216-21, 2007

49. Gomes BP; Montagner F; Jacinto RC; Zaia AA; Ferraz CC; Souza-Filho FJ. Polymerase chain reaction of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in primary endodontic infections. J. Endod; 33(9): 1049-52, 2007.

50. Ruviére DB; Leonardo MR; da Silva LA; Ito IY; Nelson-Filho P. Assessment of the microbiota in root canals of human primary teeth by checkerboard DNA-DNA hybridization. J Dent Child (Chic); 74(2): 118-23, 2007

51. Wang DM; Gao XJ; Shen S. Comparison of antimicrobial efficacy of four endodontic irrigants using an in vitro model infected by *Enterococcus faecalis*. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi; 42(4): 223-4, 2007.

52. Sassone LM; Fidel RA; Faveri M; Guerra R; Figueiredo L; Fidel SR; Feres M. A microbiological profile of symptomatic teeth with primary endodontic infections. J Endod; 34(5): 541-5, 2008.

53. Hubertus J.M. Van Waes; Stöckli P.W. Atlas de Odontología Pediátrica. Ed. Masson; 2002.

54. Cameron A.C.; Widmer R.P. Manual de Odontología Pediátrica. España: Horcourt Brace; 1998.

55. Bhaskar S.N. Histología y Embriología Bucal De Orban. 9na Edición. Argentina: El Ateneo; 1986.

56. Ríos Jáuregui, R. Manual de Microbiología Bucal. 1ra Edición. Perú: Universidad Inca Garcilaso De la Vega.

57. Barbería Leache, L; Boj Quesada, JR; Catalá Pizarro, M; García Ballesta, C; Mendoza Mendoza, A. Odontopediatría. 2da Edición. España: Masson; 2002.

58. Bezerra de Silva, LA. Tratado de Odontopediatría-Tomo 1. 1ra Edición. Colombia: Amolca; 2008.

59. Bezerra de Silva, LA. Tratado de Odontopediatría-Tomo 2. 1ra Edición. Colombia: Amolca; 2008.

60. Ross, PW; Holbrook, WP. Microbiología Bucal y Clínica. México: Científica; 1987

ANEXOS

ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Este formulario de consentimiento informado es para padres de niños entre las edades de 3 a 10 años que son atendidos en la Clínica Odontológica de la Facultad De Odontología de la UNMSN, de la especialidad de Odontopediatría.

Estimado Padre/ Madre o apoderado:

Soy Bachiller de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y estoy realizando un trabajo de investigación sobre la Identificación del "*Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales, y su susceptibilidad a la clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de sodio al 1% y al 5%", como requisito para obtener mi título de Cirujano Dentista. El objetivo del estudio es Identificar al *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares en dentición primaria que presentan necrosis pulpar y lesiones periapicales y analizar la susceptibilidad que esta presenta a las sustancias irrigadoras.

Su hijo(a) ha sido seleccionado para este estudio. El estudio consiste en tomar una muestra del exudado del conducto radicular de la pieza(s) que presentan necrosis antes de que le realicen el tratamiento respectivo. El estudio no conlleva ningún riesgo ni recibe ningún beneficio. No recibirá ninguna compensación por participar.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Voluntariamente doy mi consentimiento para que mi hijo(a) _____ participe en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.

Nombre de la Madre/Padre o Apoderado _____

Firma de la Madre/Padre o Apoderado_____

DNI_____

Fecha _____

Día/mes/año

ANEXO 2: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

ESTUDIO: Identificación del *Fusobacterium nucleatum* en conductos radiculares de dientes deciduos con necrosis pulpar y lesiones periapicales, y su susceptibilidad a la clorhexidina al 0,12%, al 2% e hipoclorito de sodio al 1% y al 5%.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Carola Maria Ariza Villanueva

I. DATOS GENERALES:
   a. Edad; _____
   b. Sexo: _____

II. FUSOBACTERIUM NUCLEATUM
   a. Muestra N° _____
   b. Pieza N° _____
   c. Fecha de Toma de Muestra: _____
   d. Hora de Toma de Muestra: _____
   e. Fecha de recepción de muestra en el laboratorio: _____
   f. Fecha de siembra de la muestra: _____
   g. Resultados de la identificación del *Fusobacterium nucleatum*:

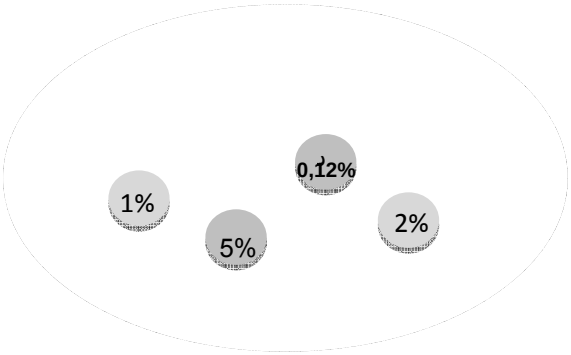
      Positivo ☐ Negativo ☐

III. SUSCEPTIBILIDAD

Fecha de replicación del *Fusobacterium nucleatum*: _____

Fecha de colocación de los discos embebidos con las soluciones irrigadoras: _____

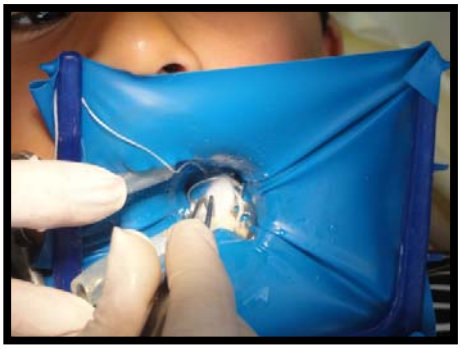
IV. RESULTADOS: Medición de los halos de inhibición



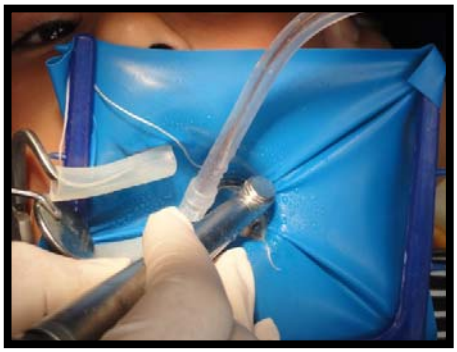
MEDICION DE HALOS DE CADA SOLUCION IRRIGADORA	
CHX 0,12%	: _____ mm
CHX 2%	: _____ mm
NaClO 1%	: _____ mm
NaClO 5%	: _____ mm

ANEXO 3: FOTOGRAFIAS DE LA TOMA DE MUESTRAS, PROCESAMIENTO Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD.

TOMA DE MUESTRA



Aislamiento y desinfección de la pieza dentaria.



Acceso cameral y radicular de la pieza dentaria.

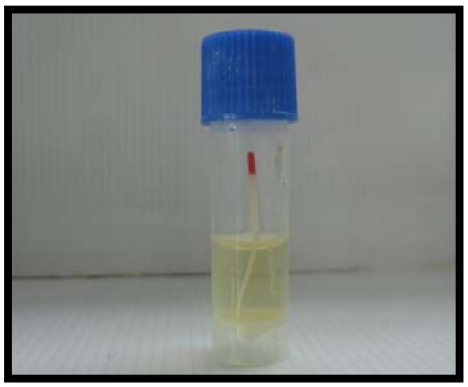


Colocación del cono de papel estéril en el conducto.



Se deja el cono por 30 seg. Y luego se pasa al retiro de este.

TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS



El medio de transporte utilizado fue el Tioglicolato.

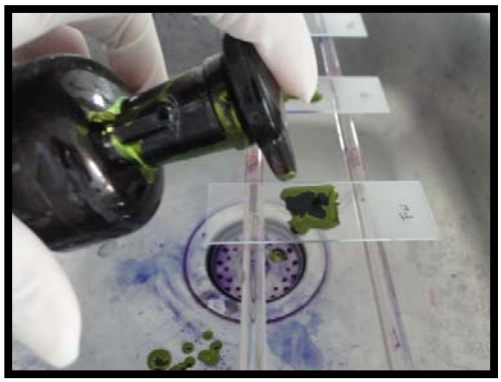


La muestra fue procesada dentro de los 30 min.



Las placas de agar Schaedler se incubaron en una jarra de anaerobiosis conteniendo un sobre generador de anaerobiosis.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO



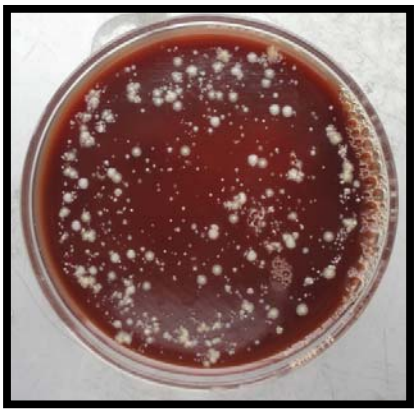
Se realizó la coloración Gram.



Se procedió a la identificación de las colonias con ayuda del microscopio



Se identificó las colonias como bacilos rectos Gram negativos.



Colonias de *Fusobacterium nucleatum*.

IDENTIFICACIÓN CON PRUEBAS BIOQUÍMICAS.



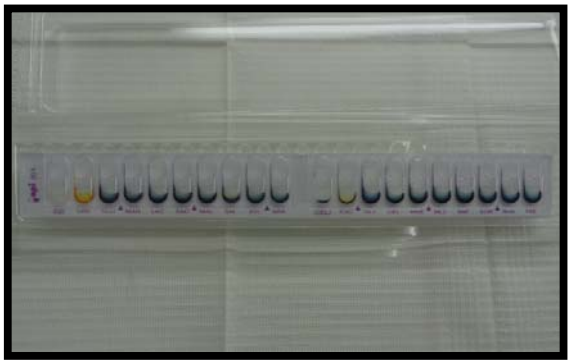


Se toman las colonia
preparación del i

Preparación del inóculo.

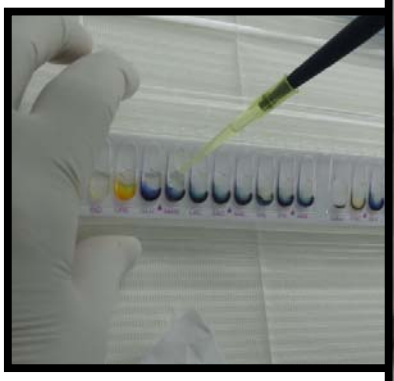


Concentración número 3 de turbidez de la escala de Mc Farland.





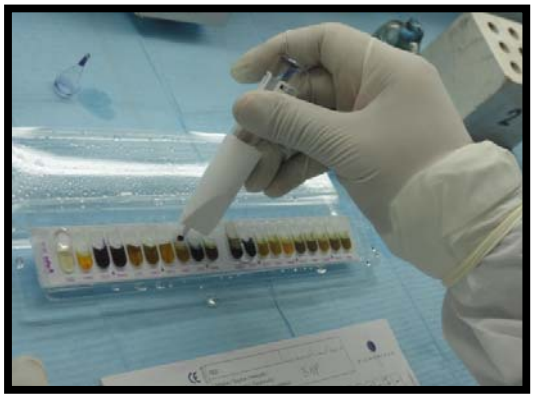
Sistema de identificación de anaerobios API 20A.





Llenado de cada celda con la suspensión bacteriana con la ayuda de una micropipeta.

Incubación en condiciones de anaerobiosis por 7 días a 37°C.



Colocación de reactivos para la identificación.



Lectura de las reacciones de cada celda.

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD



Una vez identificado al *F. nucleatum* se procede a hacer la resiembra para la prueba de susceptibilidad.



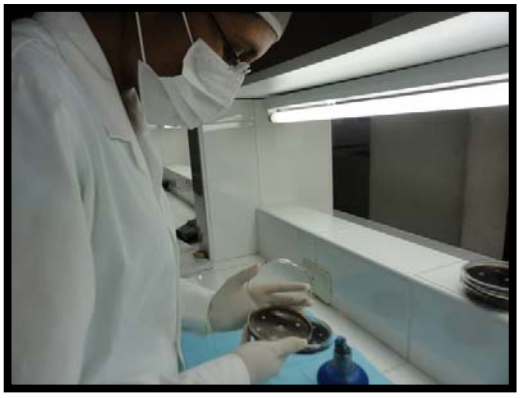
Se embeben los discos con 10µl de cada irrigante

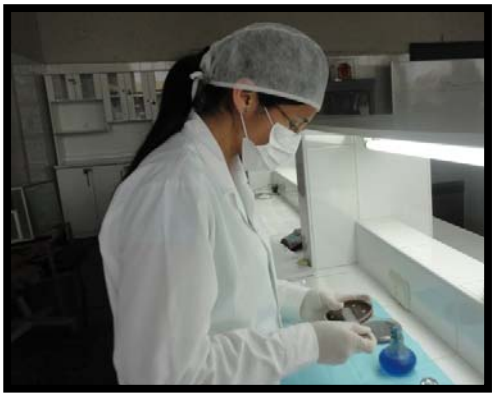


Se colocan los discos en el medio.

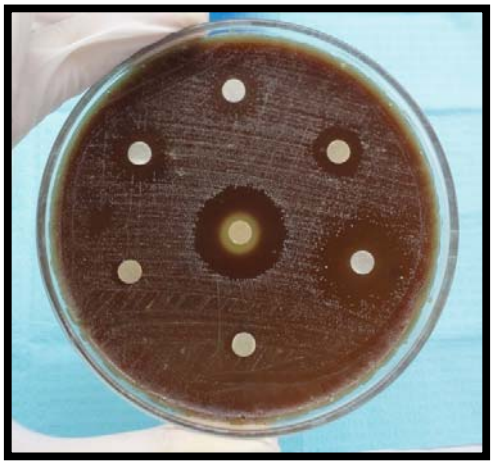


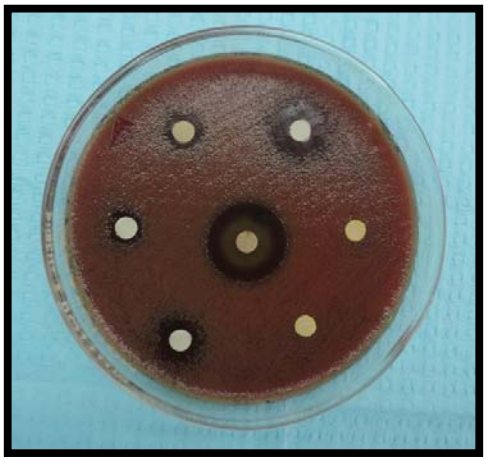
Se rotulan los discos de acuerdo a cada irrigante colocado





Se procede hacer la medición de los halos de inhibición de cada irrigante.





Halos de inhibición de los irrigantes frente al *Fusobacterium nucleatum*.