

# **Identificación de microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos frecuentes en necrosis pulpaes**

TESIS para optar el Título de: CIRUJANO – DENTISTA  
AUTOR

**JOSÉ LUIS MUÑANTE CARDENAS**

ASESOR Mg. GILBERTO ALEJANRO MENDOZA ROJAS  
**LIMA – PERÚ 2005**

*A mis queridos padres Arístedes  
y Luanita, por su gran Amor y  
Esfuerzo para darme siempre lo  
mejor.*

*Mi eterno agradecimiento.*

*A mis Hermanos Juan Carlos y  
Miguel Angel, por su amistad y  
cariño.*

*A María Soria, persona entrañable,  
que estuvo conmigo desde mis  
primeros años y que estará por  
siempre a mi lado.*

*A Shiauha, por su amor, confianza  
y comprensión. Por su colaboración  
en todo momento.*

### **Profesor Asesor**

Mg. Gilberto Alejandro Mendoza Rojas

Profesor Asociado de la Cátedra de Microbiología General y Estomatológica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### **Profesores Consultores**

May. San. ODO. EP. Juan Carlos Barrenechea Montesinos

Departamento de Endodoncia. División de Estomatología del Hospital Militar Central.

Mg. Elfer Valdivia Paz- Soldán

Sección Microbiología, Departamento de Patología Clínica. Hospital Militar Central.

Ms. C. Erika Harth Chú.

Escuela de Postgrado Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile.

Doctorando en Ciencias Mención Microbiología FAC. CC. Universidad de Chile.

## **AGRADECIMIENTOS**

Debo agradecer por el apoyo en el desarrollo del presente trabajo al Departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central por las facilidades brindadas en lo referente a las instalaciones, equipo y todo el apoyo solicitado.

Agradecer además al Dr. Juan Carlos Barrenechea, por todo su apoyo y enseñanzas brindadas desde el primer momento y durante el desarrollo del presente trabajo.

Agradecer al Dr. Percy Reyes, por su ayuda diaria, consejos para un adecuado manejo del paciente y por su aporte desinteresado en todo momento. A la Srta. Rita, por su apoyo y colaboración en el consultorio así como por su paciencia.

Al Mg. Elfer Valdivia, por su tiempo, por brindarme las instalaciones del laboratorio y por colaborar en todo momento con su amplio conocimiento del tema. A todo el personal del laboratorio de Microbiología del Hospital Militar.

A la Dra. Erika Harth, por su apoyo incansable, por sus sugerencias y constante preocupación en el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Alejandro Mendoza, buen profesor y mejor persona, por el inmenso apoyo brindado desde el inicio, cuando este trabajo era solo una idea, por su valioso tiempo, por sus invalorable sugerencias y por sobre todo, su amistad.

## ÍNDICE

<b>I Titulo</b>	1
<b>Introducción</b>	2
<b>II Problema de Investigación</b>	4
2.1 Area problema	4
2.2 Delimitación	5
2.3 Formulación	5
2.4 Objetivos	5
- Objetivo General	5
- Objetivos específicos.	5
2.5 Justificación	6
2.6 Limitaciones	7
<b>III Marco Teórico</b>	7
<b>3.1 Antecedentes</b>	7
<b>3.2 Bases teóricas</b>	16
3.2.1 La Pulpa dental	16
3.2.2 Etapas del desarrollo pulpar	17
3.2.3 Estructura de la pulpa.	18
3.2.4 Vascularización de la pulpa	19
3.2.5 Inervación de la Pulpa	19
3.2.6 Microbiología e las infecciones pulpares y periapicales	20
3.2.7 Patología pulpar	29
3.2.8 El proceso inflamatorio	29

3.2.9 Respuesta inmunológica pulpar	30
3.2.10 Clasificación de las Enfermedades Pulpares	31
3.2.11 Pulpitis reversible	31
3.2.12 Pulpitis irreversible	31
3.2.13 Necrosis pulpar	33
3.2.14 Patología periapical	35
3.2.15 Alteraciones apicales agudas	35
3.2.16 Alteraciones apicales crónicas	37
3.2.17 El medio endodóntico	38
<b>3.3 Definición de términos</b>	41
<b>3.4 Hipótesis</b>	42
<b>3.5 Operacionalización de variables.</b>	43
<b>IV Metodología</b>	44
4.1 Tipo de Investigación	44
4.2 Población y muestra.	44
4.3 Procedimientos y técnicas.	45
4.4 Transporte y procesamiento de datos	47
<b>V Resultados</b>	52
<b>VI Discusión</b>	55
<b>VII Conclusiones</b>	60
<b>VIII Recomendaciones</b>	61
<b>IX Resumen</b>	62
<b>X Referencias Bibliografía</b>	64
<b>XI Anexos</b>	73

**I. Título:**

**Identificación de microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios  
estrictos frecuentes en necrosis pulpares**

## INTRODUCCION

La dinámica de las infecciones del sistema de conductos radiculares han sido bien estudiadas a lo largo del tiempo. A mediados de los años 60, los estudios realizados demostraban una mayor presencia de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos, pues para ese entonces no existían medios adecuados para la identificación y cultivo de microorganismos anaerobios. Recientemente, el desarrollo de nuevas técnicas de cultivo e identificación de microorganismos, principalmente anaerobios, han realizado considerables progresos en el esclarecimiento de la etiopatogénesis de las infecciones endodónticas, demostrando la naturaleza polimicrobiana de ésta, así como la prevalencia de microorganismos anaerobios.

La baja tensión de oxígeno presente en necrosis pulpares, la disponibilidad de nutrientes y las relaciones interbacterianas son determinantes en la posterior colonización del sistema de conductos por parte de los microorganismos.

Consecuentemente, la completa remoción de estos agentes biológicos representa un importante paso en el tratamiento endodóntico, el cual puede ser logrado por medio del uso de técnicas de instrumentación asociadas a irrigantes endodónticos, medicación intracanal y posterior obturación del mismo.

Sin embargo, cuando se evidencia diseminación de la infección hacia el periápice y persistencia de la misma, la terapia antibiótica puede ser indicada



como coadyuvante al tratamiento.

Considerando la importancia de estos microorganismos patógenos , nuestro estudio estuvo dirigido a determinar los diferentes géneros y especies frecuentemente asociadas a la infección del sistema de conductos, lo que nos permitirá tener un conocimiento preciso de la patología pulpar y periapical y esto será de gran ayuda al momento de elegir la mejor alternativa de tratamiento para nuestros pacientes.

## **II. Problema de investigación:**

### **2.1 Área del problema**

El desbridamiento completo del conducto radicular es esencial para el éxito del tratamiento endodóntico. La sola instrumentación quimiomecánica no es suficiente para la eliminación de los microorganismos y de sus subproductos tóxicos presentes en el conducto radicular y en la región periapical. Se tiene información además, de la presencia de grupos de microorganismos poseedores de resistencia a los agentes de desinfección locales. Por tal razón, la utilización de una terapia antibiótica puede ser necesaria a fin de eliminarlos y obtener una mejor desinfección del sistema de conductos.

La microflora de las necrosis pulpaes es de naturaleza mixta, con predominancia de las bacterias anaerobias estrictas. Con el adelanto de la tecnología, ahora es posible aislar con mayor facilidad gérmenes anaerobios y se ha podido determinar que éstos se presentan con mayor frecuencia en este tipo de infecciones de espacio cerrado.

Ante un proceso infeccioso como lo es la necrosis pulpar con compromiso periradicular, lo más importante es realizar el tratamiento endodóntico, procediendo a la eliminación de los restos pulpaes y a la desinfección del conducto radicular, así como de proveer un sellado adecuado.

La identificación de las bacterias frecuentemente implicadas en este tipo de infecciones nos permitirá tener un conocimiento preciso de

las mismas y esto será de gran ayuda al momento de elegir la mejor alternativa de tratamiento para nuestros pacientes.

## **2.2 Delimitación del problema**

El presente estudio se abocó en la identificación de las bacterias anaerobias estrictas y anaerobias facultativas frecuentemente relacionadas con las necrosis pulpares.

## **2.3 Formulación del problema**

¿Cuáles son las bacterias patógenas más frecuentes en necrosis pulpares sépticas asintomáticas abiertas en pacientes de 18 a 60 años tratados en el Departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central – Lima, de agosto a setiembre del 2005?

## **2.4. Objetivos**

### **2.4.1 Objetivo general:**

- Identificar las bacterias anaerobias estrictas y anaerobias facultativas frecuentes en necrosis pulpares sépticas asintomáticas abiertas.

### **2.4.2 Objetivo específicos:**

- Determinar las bacterias más frecuentes, según requerimientos de oxígeno, presentes en necrosis pulpares.
- Determinar el género bacteriano con mayor presencia en

necrosis pulpare sépticas asintomáticas abiertas.

- Determinar las especies más frecuentes en necrosis pulpare sépticas asintomáticas abiertas.
- Determinar el tipo de infección más frecuente en necrosis pulpare sépticas asintomáticas abiertas.
- Determinar las bacterias gram negativas y bacterias gram positivas anaerobias estrictas y facultativas presentes en necrosis pulpare sépticas asintomáticas abiertas.

## **2.5 Justificación**

Existe poca información acerca de los microorganismos frecuentes en necrosis pulpare en nuestro medio, siendo la gran mayoría de la información que manejamos de origen extranjero y por consiguiente de realidades diferentes. Durante la búsqueda bibliográfica realizada se pudo comprobar además, la diversa información existente sobre las bacterias más frecuentes en este tipo de infecciones, así como diversos resultados en cuanto a sus patrones de sensibilidad frente a diversos agentes antimicrobianos, tanto sistémicos como locales. Por lo que este estudio pretende aportar en el conocimiento microbiológico de estas infecciones, lo que será de gran ayuda a fin de establecer un adecuado manejo de las infecciones pulpare en nuestros pacientes.

## 2.6 Limitaciones

- ✓ Disponibilidad de medios de cultivo y reactivos para la identificación de géneros y especies de bacterias anaerobias estrictas orales.
- ✓ Instrumentos y materiales de laboratorio necesario para trabajar con bacterias anaerobias exigentes nutricionalmente
- ✓ El elevado costo económico que representa procesar una mayor cantidad de cepas bacterianas anaerobias estrictas.

## III. Marco teórico

### 3.1 Antecedentes

Gomes (1994)<sup>38</sup> realizó un estudio con el propósito de determinar si algún grupo de bacterias estaba relacionada con dolor, inflamación o con cualquier otro síntoma endodóntico. De 30 canales radiculares examinados se aislaron un total de 57 especies bacterianas, de las cuales, el 60% fueron anaerobios estrictos. *Fusobacterium nucleatum* fue aislado y relacionado a todos los casos clínicos examinados pero no se determinó una asociación significativa con otros géneros bacterianos.

Debelian (1995)<sup>39</sup> realizó un estudio para determinar la presencia de bacterias en los conductos radiculares posterior a la instrumentación de piezas dentarias con diagnóstico de necrosis pulpar asociada a lesión periapical aguda. De un total de 26 piezas dentarias evaluadas, se determinó que todos los canales contenían microorganismos, en su mayor parte anaerobios estrictos, hallándose a *Fusobacterium nucleatum* en el 53% de los casos.

Brook et al (1996)<sup>59</sup> confirmó la afirmación según la cual las infecciones del sistema endodóntico eran causadas principalmente por anaerobios estrictos. Para el desarrollo de este estudio se analizó el contenido de secreción purulenta de cinco abscesos periapicales en el maxilar superior, todos ellos asociados a cuadros de sinusitis. En todos los casos, los autores encontraron anaerobios de los géneros *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus*.

Nisengard (1997)<sup>54</sup> realizó biopsias de lesiones periapicales para demostrar de manera indirecta que las infecciones pulpares eran polimicrobianas. Estas revelaron la presencia de anticuerpos específicos, principalmente para *Porphyromonas gingivalis*, *P. endodontalis*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros* y *Fusobacterium nucleatum*; además de prostaglandinas y de otros metabolitos de ácido araquidónico y de linfocinas implicados en la reabsorción ósea.

Vigil et al (1997)<sup>22</sup> sometió a diagnóstico histológico y microbiológico a 28 casos de endodoncias refractarias. Las bacterias aisladas de estas lesiones fueron aisladas e identificadas. Veintidós de los 28 casos mostraron crecimiento bacteriano positivo. Se recuperaron un total de 53 especies bacterianas de las cuales: 29 fueron anaerobias, 19 facultativas y 5 fueron especies aerobias. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus intermedius*, *Wolinella recta*, *Fusobacterium spp* y *Clostridium spp*.

Siqueira JF (1998)<sup>33</sup> estudió la patogenicidad de bacterias anaerobias estrictas y facultativas comúnmente encontradas en infecciones endodónticas usando ratones como modelo. La capacidad de inducir abscesos fue evaluado siete días después de inyectarles de manera subcutánea la bacteria en cultivo puro y en combinación con *Prevotella intermedia* o *Prevotella nigrescens*.

Como resultado se obtuvo que ninguna de las 50 muestras bacterianas estudiadas fueron patógenas en cultivo puro. Una diferencia, aunque no estadísticamente significativa, fue detectada entre muestras de cultivo puro y muestras en combinación. Se detectó un aparente sinergismo cuando se asoció *Porphyromonas gingivalis* con *Prevotella intermedia* o *Prevotella nigrescens*.

Bogen et al (1999)<sup>16</sup> estudió la frecuencia de *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *P. nigrescens* en 20 lesiones periapicales cerradas asociadas a cuadros endodónticos sintomáticos y asintomáticos. La identificación de las especies bacterianas fue realizada por medio de la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Los resultados obtenidos revelaron que *P. endodontalis* no estuvo presente en ninguna lesión periapical. *P. gingivalis* fue identificada en una lesión periapical y estuvo relacionada con un cuadro de dolor moderado.

*P. endodontalis*, *P. intermedia* o *P. nigrescens* no fueron identificadas en ninguna de las lesiones estudiadas por lo que el autor concluyó que éstos microorganismos al parecer eran infrecuentes en este

tipo de infecciones.

Kuriyama et al (2000)<sup>14</sup>, estudió la microflora bacteriana asociada a infecciones orofaciales odontológicas. Las muestras fueron tomadas de 163 pacientes que presentaban infecciones dentoalveolares, periodontitis y pericoronaritis. Aisló un total de 664 especies bacterianas, 200 de las cuales fueron aerobias. Los géneros bacterianos más frecuentemente aislados fueron: *Peptostreptococcus*, *Gemella* *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*. El autor refiere no haber encontrado diferencia significativa entre los datos bacteriológicos obtenidos y los tipos de infección.

También, en el 2000 Noda et al<sup>23</sup>, analizaron la sensibilidad antibiótica de bacterias aisladas del exudado de canales radiculares con lesión apical persistente. Doce especies bacterianas fueron recuperadas de 15 casos estudiados. Las especies bacterianas más comúnmente aisladas fueron *Streptococcus alfa* y *Enterococcus*.

Dalby (2000)<sup>35</sup> evaluó la sensibilidad antibiótica de las bacterias más prevalentes en abscesos dentoalveolares agudos en 30 muestras de secreción purulenta, las cuales fueron cultivadas en condiciones aerobias y anaerobias. Se identificaron 56 cepas bacterianas, de las cuales, el 62.5% correspondió a anaerobios estrictos; siendo los microorganismos más prevalentes *Streptococcus* (35%), *Peptostreptococcus* (25%), *Fusobacterium* (12.5%) y *Porphyromonas* (9%).

Arroyo (2000)<sup>34</sup> evaluó 30 muestras intraorales de pacientes atendidos en el Centro Médico Naval con el diagnóstico de absceso



dentoalveolar agudo, realizando la identificación microbiológica mediante el sistema Microscan. De un total de 56 especies bacterianas, el 62.5% estuvo representada por bacterias anaerobias estrictas y el 35.7% por bacterias anaerobias facultativas.

Las especies bacterianas de mayor prevalencia fueron: *Peptostreptococcus saccharolyticus* y *Streptococcus mitis*, con 18% y 14% respectivamente. Asimismo, determinó que la infección de tipo mixto fue la más frecuente (73%), pudiendo aislar de 1 a 4 microorganismos por muestra.

Lana et al<sup>4</sup> (2001), analizó 31 canales radiculares con diagnóstico de necrosis pulpar, antes y después de su manipulación o preparación biomecánica. Los géneros aislados que presentaron mayor frecuencia fueron: *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* y *Peptostreptococcus* para las bacterias, y *Candida* y *Saccharomyces* para las levaduras. El total de microorganismos anaerobios estrictos aislados fue de 54 especies. El 82% de los canales evaluados mostraron infección polimicrobiana. Las bacterias anaerobias estrictas fueron recuperadas en el 80% de los casos; las bacterias anaerobias facultativas en el 51% y las especies microaerófilas en un 18.5% de los casos. Fueron determinadas además fuertes asociaciones positivas, particularmente entre *Clostridium* con *Prevotella* y *Peptostreptococcus* con *Fusobacterium*.

Cheung (2001)<sup>8</sup>, en un estudio de la microflora asociada a lesión periapical asintomática en dientes tratados endodónticamente en una

población del Sur de China ,identificó un total de 22 especies bacterianas aislándose mayoritariamente *Streptococcus* , *Pseudomonas* y *Staphylococcus* coagulasa negativos, mas no identificó la presencia de enterococos.

Peters LB (2002)<sup>62</sup> Analizó 58 dientes con reabsorciones apicales, demostrando que todos los canales radiculares estaban infectados y que las especies anaerobias estrictas representaban el 87% de la microbiota cultivable. Fueron constatadas además, significativas asociaciones entre *Porphyromonas gingivalis* y *Peptostreptococcus* micros; entre *Prevotella intermedia* y *Prevotella oralis* y entre *Bifidobacterium* y *Veillonella*. Indicando de ésta manera que la presencia de patógenos en el canal radicular no ocurre de manera aleatoria sino siguiendo asociaciones específicas.

Siquiera (2002)<sup>64</sup> examinó 24 muestras de canales radiculares de pulpas necróticas con lesión periapical y de pus de abscesos endodónticos, utilizando para este estudio la técnica de PCR. Las especies bacterianas más frecuentemente aisladas fueron: *Streptococcus anginosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus* y *Actinomyces israelii*.

Khemaleelaku<sup>11</sup> (2002), analizó la composición de la flora microbiana en infecciones agudas en endodoncia y en abscesos/celulitis. Se aislaron un total de 127 especies diferentes de microorganismos, 80 de las cuales fueron anaerobios estrictos y microaerófilos, mientras que 47 muestras fueron de microorganismos aerobios. Algunos de los géneros aislados fueron: *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*; *Prevotella*,

*Porphyromonas*, *Actinomyces* y *Streptococcus*. El promedio del número de especies aisladas por canal fue de 7.5 y las bacterias anaerobias estrictas representaron la mayoría de la población bacteriana aislada en 14 de 17 casos; mientras que en los tres casos restantes predominaron las especies aerobias. La combinación de *Prevotella* y *Streptococcus* orales fue encontrada en el 65% de los casos, mientras que la asociación entre *Prevotella* con *Peptostreptococcus* fue encontrada en el 35% de los casos.

Jacinto et al<sup>6</sup> (2003), comparó hallazgos microbiológicos de dientes con necrosis pulpar asintomática (29 casos) con dientes con el mismo diagnóstico y que presentaban sintomatología clínica (19). Los canales radiculares de dientes con sintomatología presentaron mayor porcentaje de anaerobios estrictos y mayor número de especies bacterianas por canal en relación a los dientes asintomáticos. Los más comúnmente aislados fueron: *Fusobacterium necrophorum*, *Peptostreptococcus prevotti*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella*. El 39% del total de especies aisladas estuvo constituida por bacterias gram negativas y fueron relacionadas con sintomatología. La inflamación estuvo estadísticamente relacionada con el *Fusobacterium nucleatum*, mientras que el dolor a la percusión fue relacionado a *Bifidobacterium* y *Actinomyces*.

Pinheiro et al (2003)<sup>12</sup>, estudió la microflora bacteriana asociada a fracasos en endodoncia en 30 canales radiculares. Se aislaron un total de 55 especies bacterianas fueron aisladas pertenecientes a 29 géneros

diferentes, de las cuales, el 58% estuvo representada por microorganismos anaerobios facultativos y el 42% por anaerobios estrictos, predominando las especies gram positivas (80%). *Enterococcus faecalis* fue la especie aislada con más frecuencia, seguido por el *Peptostreptococcus* y *Actinomyces*.

Gomes et al<sup>5</sup> (2004), analizó 60 canales radiculares, 41 canales que presentaban necrosis pulpar y 19 que presentaban infección secundaria (así denominaron a casos que requerían de un retratamiento endodóntico). Según este estudio, el 70% de la microflora bacteriana presente en conductos radiculares estaría representada por anaerobias estrictos y microaerófilos, siendo los más frecuentemente aislados: *Peptostreptococcus micros* (35%), especies de *Fusobacterium* (35%) especies de *Prevotella* (23.4%) y especies de *Porphyromonas* (11.7%).

En dientes con necrosis pulpar sin tratamiento previo y con lesión periapical asociada, encontró una flora compuesta por bacterias gram negativas y gram positivas; microorganismos anaerobios en mayor proporción y conteniendo más de tres especies por canal. Mientras que en dientes que necesitaban de un retratamiento predominaron bacterias anaerobias facultativos y gram positivos conteniendo de 1 a 2 especies por canal.

Siquiera Jr. et al (2005)<sup>68</sup> realizó un estudio en dientes con diagnóstico de necrosis pulpar asintomáticos y con lesión periapical, comparando la prevalencia de patógenos endodónticos en muestras de infecciones primarias tomadas de pacientes en diferentes localizaciones

geográficas (Brasil y Corea del Sur) para lo cual utilizó la técnica de PCR.

Como resultado obtuvo que la especies prevalentes detectadas en Brasil fueron *Porphyromonas endodontalis* (79%), *Treponema denticola* (79%) y *Dialister pneumosistes*(76%), mientras que las especies encontradas en Corea fueron *Fusobacterium nucleatum*(38%), *Tannarella forsythia*(26%) y *Treponema malthophilum* (24%), Concluyendo que la prevalencia de algunas especies en infecciones endodónticas pueden ser significativamente diferentes de una localización geográfica a otra.

Chu et al (2005) <sup>71</sup> comparó en su estudio los microorganismos cultivables de canales radiculares que presentaban radiolucencia apical con exposición pulpar (grupo A) y sin exposición pulpar (grupo B), tomando 45 y 43 muestras bacterianas respectivamente, las mismas que fueron cultivadas en condiciones aerobias y anaerobias. Del grupo A se aislaron un total de 211 microorganismos, agrupados en 28 géneros y 55 especies y del grupo B 185 microorganismos, agrupados en 28 géneros y 54 especies. Concluyeron que no hubo diferencias significativas entre la prevalencia de *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* y *Campylobacter* entre ambos grupos. El género *Prevotella* fue el más común en ambos grupos y el *Fusobacterium nucleatum* fue el más común en el grupo B.

### **3.2 Base teórica**

Las bacterias son la principal causa de enfermedades pulpares y periapicales y se ha establecido que éstas y sus subproductos están directamente relacionadas en el desarrollo y mantenimiento de lesiones periapicales. De los más de 500 grupos bacterianos reconocidos como habitantes normales de la cavidad oral, sólo un pequeño grupo ha sido aislado y cultivado a partir de canales radiculares infectados, con un promedio de 5 a 7 diferentes especies en cada canal <sup>31,41,48,50,56</sup>. La baja tensión de oxígeno presente en las necrosis pulpares, la presencia de nutrientes y las relaciones interbacterianas, son determinantes ecológicos importantes que influyen en la colonización de los microorganismos, especialmente de bacterias anaerobias estrictas.

Muchas de las infecciones presentes en los canales radiculares pueden ser eliminadas mediante la instrumentación mecánica, asociada con el uso de soluciones irrigadoras de los conductos o con una medicación intracanal. Sin embargo, cuando se evidencia la diseminación sistémica de la infección, el tratamiento antibiótico puede ser indicado como coadyuvante al tratamiento.

Por lo tanto, la remoción de estos agentes biológicos representa un procedimiento importante en el tratamiento endodóntico.

### **3.2.1 La pulpa dental**

La pulpa es un tejido blando de origen mesenquimatoso con células especializadas, los odontoblastos, que se colocan periféricamente en contacto directo con la matriz dentinal.<sup>18</sup> En general, se considera a la pulpa como un tejido blando laxo especializado.<sup>37</sup>

La pulpa dental alberga un gran número de elementos tisulares, incluido los nervios, el tejido vascular, fibras de tejido conectivo, sustancia fundamental, líquido intersticial, los odontoblastos, los fibroblastos y otros componentes celulares menores.<sup>18</sup>

La principal misión de la pulpa es la de elaborar dentina, a la que aporta elementos nutritivos y sensibilidad.<sup>36</sup> Tras el desarrollo del diente, la pulpa conserva su capacidad para formar dentina a lo largo de toda la vida. Ello la capacita a compensar parcialmente la pérdida de esmalte y dentina causada por trauma mecánico o enfermedad<sup>18</sup>

### **3.2.2 Desarrollo pulpar.**

La pulpa se desarrolla durante la odontogénesis a partir de las células ectomesenquimatosas derivadas de la cresta neural craneal, las cuales emigran en dirección cefálica y ventral sobre el cerebro anterior e intestino anterior en desarrollo respectivamente, hasta ocupar sus lugares adecuados en los procesos faciales en desarrollo.<sup>37</sup>

Durante la sexta semana de vida embrionaria, la formación del diente comienza con una proliferación localizada del ectodermo asociada con los procesos maxilar y mandibular. Esta actividad proliferativa da lugar a la formación de dos estructuras en forma de herradura, una en cada proceso, que se denominan lámina dental principal, las cuales se dividirán en una lámina dental y otra vestibular.<sup>18</sup>

### **Etapas del desarrollo pulpar**

A pesar que la formación del diente es un proceso continuo, puede ser conveniente dividirlo en tres etapas:

- a) Brote.- Etapa inicial, en la cual las células epiteliales de la lámina dental proliferan y producen una proyección en forma de brote en el ectomesénquima adyacente.
- b) Cáliz.- Se alcanza cuando las células que proliferaron forman una concavidad con apariencia de cáliz.
- c) Campana.- Durante esta etapa, el ectomesénquima de la papila dental resulta parcialmente encerrado por la invaginación del epitelio. Los vasos sanguíneos llegan a establecerse durante esta etapa en la papila dental.<sup>18</sup>

### **3.2.3 Estructura de la pulpa.**

La pulpa está conformada por cuatro tipos principales de células: odontoblastos, células ectomesenquimatosas indiferenciadas, fibroblastos y macrófagos.<sup>37</sup>

Igual que cualquier otro tejido conectivo (laxo o denso), la pulpa también contiene fibras, aunque en pequeño número. El principal tipo de fibras son las colágenas, las cuales se encuentran formando haces en la porción apical de la pulpa. Los tipos I y III de colágenos son los que se encuentran presentes en la pulpa.<sup>18,37</sup>

Además, la pulpa contiene una sustancia fundamental amorfa, la



cual es semejante a la que se encuentra en el resto del tejido conectivo y esta formada por agua, glucoproteínas, glucosaminoglucanos y proteoglicanos. Esta sustancia es altamente difusible, permitiendo de esta manera que sustancias nutritivas se difundan entre vasos, células, nervios, etc.<sup>37</sup>

#### **3.2.4 Vascularización de la pulpa.**

La sangre de la arteria dental ingresa por las arteriolas, las cuales pasan por el foramen apical en compañía del paquete de nervios subiendo por la parte central de la pulpa, ramificándose y extendiéndose hacia la capa odontoblástica, por debajo de la cual se ramifica para formar un plexo capilar.<sup>18</sup>

La estructura de las arteriolas es similar a la de otras regiones dado que tiene sus tres capas características: interna o endotelial, media o vascular (muy delgada) y externa o adventicia, que se confunde con el tejido conectivo perivascular (por lo que para algunos autores está ausente)<sup>36</sup>

#### **3.2.5 Inervación de la pulpa.**

Los nervios de gran diámetro de la pulpa ingresan con los vasos aferentes por el foramen apical y de inmediato corren en dirección coronal en forma de fibras mielínicas. En la zona coronal experimentan una ramificación y arborización extensas en la zona libre de células para formar el plexo nervioso de Raschkow.<sup>37</sup>

El sistema sensitivo de la pulpa parece estar bien diseñado para señalar el posible daño de un diente. Éste se encuentra muy enervado por una gran cantidad de fibras nerviosas mielínicas y amielínicas.

Existen dos tipos de fibras nerviosas sensitivas en la pulpa: las mielínicas (fibras A) y las amielínicas (fibras C). Las fibras A incluyen las fibras A beta (A B) y las A delta (A ).<sup>18</sup>

Las fibras A delta son mielinizadas y sus terminaciones se localizan sobretodo en la región de la unión de la pulpa y la dentina. Su umbral de estimulación es relativamente bajo y las características del dolor que transmiten son dolor agudo y punzante.

Las fibras C son amielínicas y están distribuidas probablemente por toda la pulpa; su umbral de estimulación es relativamente alto y está asociado por lo general con lesiones en el tejido. La característica del dolor que transmite es un dolor intenso y quebrante.<sup>18</sup>

### **3.2.6 Microbiología de las infecciones pulpares y periapicales**

Muchos de nuestros órganos corporales, a excepción de la piel, no se encuentran expuestos al medio ambiente. Se encuentran protegidos por barreras epiteliales musculares (cavidad abdominal) e incluso óseas (médula espinal). Sin embargo, eventualmente estas barreras pueden ser superadas y estos órganos son blancos fáciles para los microorganismos. Una especial atención merece la pulpa

dental. Una estructura que aparece “superprotegida” del medio externo por paredes “inexpugnables” por murallas duras, y mineralizadas. En términos de protección, probablemente estemos hablando de una de las estructuras más protegidas del cuerpo humano.<sup>1</sup>

Con este tipo de protección, naturalmente, una pulpa es aséptica y libre de gérmenes. La presencia de éstos implica el deterioro de las barreras protectoras.

La causa más frecuente de patología pulpar la representa, sin lugar a dudas la caries dental. Una característica fundamental y que hay que tener muy en cuenta, es el hecho de que las bacterias cariogénicas son intensamente acidogénicas, lo que provoca la rápida desmineralización de los túbulos dentinarios. En una lesión profunda de caries dental existe un amplio predominio de bacterias sacarolíticas, anaerobias facultativas y gram positivas, tales como: *Actinomyces spp*, *Lactobacillus spp*, *Propionibacterium spp*, principalmente *Streptococcus del grupo mutans* y otras especies de *Streptococcus*<sup>58</sup>. Por tanto, podemos concluir que éstas bacterias son las responsables de la lesión inicial de la pulpa como resultado de la progresión de caries dental<sup>1</sup>.

**Principales Géneros y especies conocidos de la Microbiota Bucal<sup>1</sup>**

<b>Géneros</b>		<b>Principales especies</b>
<b>Cocos Gram-positivos</b>		
AnF	<i>Stomacoccus</i> <i>Gemella</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>	<i>S.mucilaginosus</i> <i>G. haemolysans, G.morbilorum</i> <i>S.aureus, S.epidermidis</i> <i>S.salivarius, S.anginosus</i> <i>S.intermedius, S. oralis,</i> <i>S.mutans</i> <i>S.sobrinus, S.milleri, S.sanguinis</i>
AnE	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P.micros, P.magnus</i>
<b>Bacilos Gram-positivos</b>		
AnF	<i>Lactobacillus</i>	<i>L.casei, L.paracasei, L.uli, L.oris</i> <i>L.acidophilus, L.gasseri</i> <i>L.salivarius, L.buchneri</i>
	<i>Actinomyces</i>	<i>A.naeslundii, A.israelii, A.meyri</i> <i>A.odontolyticus.</i>
	<i>Rothia</i>	<i>R.dentocariosa</i>
	<i>Corynebacterium</i>	<i>C.matruchoitii, C.xerosis</i>
AnE	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.dentium, B.inopinatum</i> <i>B.denticolens</i>
	<i>Eubacterium</i>	<i>E.timidum, E.bra</i>
	<i>Propionibacterium</i>	<i>P.acnes, P.avidum, P.granulosun</i>
<b>Cocos Gram-negativos</b>		
Ae	<i>Neisseria</i>	<i>N.sicca, N.mucosa</i>
AnE	<i>Veillonella</i>	<i>V.parvula, V.atypica, V.dispar</i>

<b>Bacilos Gram-negativos</b>		
AnF	<i>Haemophilus</i>	<i>H.parainfluenzae, H.aphropilus</i> <i>H.parahaemolyticus</i>
	<i>Actinobacillus</i>	<i>A.actinomycetemcomitans</i>
	<i>Cardiobacterium</i>	<i>C.hominis</i>
	<i>Capnocytophaga</i>	<i>C.ochraceae , C.gingivalis</i>
	<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
MA	<i>Campylobacter</i>	<i>C.rectus, C.curva, C.gracilis</i> <i>C.sputorum</i>
AnE	<i>Porphyromonas</i>	<i>P.gingivalis, P.endodontalis</i>
	<i>Prevotella</i>	<i>P.denticola, P.intermedia,</i> <i>P.oris, P.veroralis, P.buccalis</i> <i>P.melanninogenica</i>
	<i>Bacteroides</i>	<i>B.forsythus, B.oulorum</i>
	<i>Mitsuokella</i>	<i>M.dentalis</i>
	<i>Fusobacterium</i>	<i>F.nucleatum, F.alocis,</i> <i>F.periodonticum,</i> <i>F.sulci</i> <i>F.necrophorum</i>
	<i>Leptotrihia</i>	<i>L.buccalis</i>
	<i>Selenomonas</i>	<i>S.noxia, S.infelix, S.diane</i> <i>S.sputigena, S.flueggei</i>
	<i>Centipeda</i>	<i>C.periodontii</i>
	<i>Treponema</i>	<i>T.denticola, T.vincentii,</i> <i>T.socranskii</i>

**Ae:** Aerobio; **AnE:** Anaerobio estricto; **AnF:** Anaerobio facultativo; **MA:** microaerófilo.

Tenemos entonces una infección polimicrobiana con una intensa actividad proteolítica y de desmineralización, lo cual le permite “ganar terreno” en desmedro de la estructura dental, tanto en profundidad como en lateralidad.

Las bacterias sacarolíticas utilizan los glúcidos obtenidos del suero para su nutrición, liberándose en este proceso ácido láctico y ácido fórmico como productos de su metabolismo. Conforme va avanzando la inflamación se da la hidrólisis de las proteínas tisulares, posibilitándose entonces el metabolismo de péptidos y aminoácidos por parte de las bacterias anaerobias. Una vez agotados los glúcidos, la única fuente nutritiva disponible la constituyen los aminoácidos que, posteriormente, serán utilizados por bacterias anaerobias<sup>32,55</sup>. Es así como se va dando la transformación de una flora básicamente aerobia y anaerobia facultativa a una flora de tipo anaerobia estricta<sup>31,48</sup>.

### **Vías de Acceso a la Pulpa Dental**

El acceso de microorganismos a la estructura pulpar se puede dar básicamente por el acceso vía túbulos dentinarios y a través de vías periodontal y hematógenas.

### **Acceso mediante túbulos dentinarios**

Como consecuencia de la pérdida del esmalte o del cemento, los túbulos dentinarios quedan expuestos a los microorganismos presentes en

la cavidad oral. Esta exposición puede estar mediada por caries profundas o por fractura próximas a la cámara pulpar. En ambas situaciones, los túbulos quedan expuestos a una gran variedad de microorganismos del medio bucal. El diámetro tubular dentinario es de 1-5 micrómetros, diámetro suficiente para que los microorganismos o sus toxinas injurien a la pulpa.<sup>1,39,40,45,50,51,58.</sup>

Pero también hay otras maneras de exponer a los túbulos dentinarios: mediante procedimientos de tallado para restauraciones protésicas o mediante la preparación de una cavidad para recibir un material restaurador. Además, la penetración es mayor si se acciona la jeringa triple.<sup>1</sup>

### **Acceso Vía Periodontal y Hematógena**

Muchas veces tenemos una injuria y/o compromiso pulpar en dientes con ausencia de caries (coronas íntegras) y con presencia de restauraciones. Las piezas dentarias comprometidas periodontalmente, suelen sufrir una invasión microbiana proveniente de microorganismos presentes en las bolsas periodontales y que tiene acceso a la pulpa mediante los conductos laterales, conductos accesorios y a través del delta apical<sup>1,2</sup>. Existen múltiples anastomosis entre vasos sanguíneos y linfáticos de la pulpa y del periodonto, lo que facilita el pasaje de los microorganismos<sup>2</sup>.

Adriaens<sup>19</sup> examinó la presencia de bacterias en la dentina de dientes con complicaciones periodontales y las comparó con la dentina de dientes sanos, encontrando más microorganismos en la dentina y pulpa

de los dientes con compromiso periodontal. La eliminación del cemento durante un tratamiento periodontal puede exponer numerosos túbulos dentinarios a la flora oral, permitiendo que los microorganismos penetren hasta la pulpa.

La infección vía hematológica es rara. Esta vía de infección está dada por el fenómeno de la anacoresis, que se define como la atracción positiva de los microorganismos presentes en la circulación sanguínea hacia los tejidos inflamados o necróticos durante una bacteremia<sup>18</sup>. Se considera así pues, que para que se dé una instalación de bacterias circulantes en el torrente sanguíneo, generalmente se requiere una inflamación o necrosis previa de la pulpa. La detección de microorganismos que no pertenecen a la microbiota normal de la cavidad oral, nos sugiere una infección por esta vía. Otra manera de que la pulpa se infecte es la presencia de un foco infeccioso adyacente<sup>19</sup>.

Cuando la pulpa se infecta a través de cualquiera de los mecanismos explicados, el mal estado de ésta es pre-requisito para que se produzca dicha infección. Cuando tienen lugar infecciones retrógradas, generalmente están involucradas pocas especies bacterianas<sup>2</sup>.

En los casos de necrosis asépticas (que se puede producir por la supresión de la irrigación sanguínea) motivada por un traumatismo, el tejido necrótico se mantendrá libre de bacterias hasta su posterior infección, la cual se puede dar por cualquiera de las vías antes ya expuestas<sup>19</sup>.

Independientemente de las vías de entrada, una vez que han penetrado en el tejido pulpar, las bacterias colonizan, se multiplican y



contaminan todo el sistema radicular. Dependiendo del nivel de la concentración de oxígeno y de la presencia o ausencia de los nutrientes esenciales en el sistema radicular, existen grupos específicos de bacterias que sobreviven y forman la flora de los canales radiculares infectados<sup>19</sup>. Las bacterias anaerobias producen ácidos grasos de cadena corta, como el ácido propiónico, butírico e isobutírico. Estos son factores de virulencia que afectan la quimiotaxis de los neutrófilos y la fagocitosis<sup>52,55,58</sup>.

Estas bacterias están en un estado dinámico influido por la interacción entre las bacterias y el hospedero. Aunque esta microbiota es menos compleja que la microbiota subgingival, se produce una serie de relaciones ecológicas interbacterianas<sup>2</sup>.

### **Actividad enzimática bacteriana.**

Hoy en día se asume que la microbiota endodóntica está representada, principalmente, por microorganismos gramnegativos, los cuales viven, se multiplican y eventualmente mueren en el conducto radicular infectado, liberando en este proceso endotoxinas. La actividad endotóxica está fuertemente relacionada con la presencia y el número de bacterias gramnegativas en el canal radicular<sup>69,28</sup>. Estas, en un determinado momento, pueden superar el foramen apical e iniciar una lesión a ese nivel<sup>39,41,55</sup>.

Las endotoxinas contenidas en la pared celular de las bacterias gramnegativas, son las sustancias responsables de los mecanismos

inflamatorios que se desencadenan a nivel pulpar. Son liberadas al medio después de la desintegración de la bacteria, lo que produce diversos efectos biológicos, como fiebre o estimulación de la actividad linfocítica<sup>44,55,60</sup>.

Las endotoxinas están presentes en altas concentraciones en conductos radiculares de dientes con necrosis pulpar sintomática<sup>72</sup> y son antígenos no específicos que pueden desencadenar reacciones inflamatorias específicas e inespecíficas, donde intervendrán células fagocitarias de defensa (linfocitos, macrófagos y neutrófilos), las cuales liberarán diferentes sustancias químicas que actuarán como potenciadores, mediadores o inhibidores de la patología pulpar y periapical<sup>25,44</sup>.

Algunos microorganismos anaerobios producen enzimas extracelulares como colagenasas y proteasas que al parecer estimulan la invasión bacteriana de los tejidos<sup>39</sup>. Se cree que hay cierta relación entre éstos y la presencia de sintomatología clínica específica, como dolor, aumento de volumen, edema, etc.

Estudios realizados por Gomes et al<sup>5,9</sup> y Sundqvist<sup>70</sup> encontraron asociaciones significativas entre especies bacterianas y ciertos cuadros específicos en piezas con necrosis pulpar sintomática:

Dolor : *P. Micros, P. intermedia* y *Eubacterium*.

Dolor a la percusión: *Porphyromonas spp* y *Fusobacterium spp*.

Edema: *Peptostreptococcus spp*, *Porphyromonas spp* y *Enterococcus*.

Canal húmedo: *Porphyromonas spp* y *Fusobacterium spp*.

Exudado purulento: *Porphyromonas spp*, *Peptostreptococcus spp*  
*Fusobacterium spp*

Mientras que Baumgartner<sup>(78)</sup> no encontró relación estadísticamente significativa entre la presencia de bacterias formadoras de pigmento negro (*P. Intermedia*, *Porphyromonas*) con signos y síntomas clínicos específicos.

### **3.2.7 Patología Pulpar**

Frente a la diversidad de irritantes infligidos, la pulpa reacciona ante éstos como lo hace cualquier tejido conectivo<sup>58</sup>

La lesión pulpar produce muerte celular y ésta causa inflamación, la cual será proporcional a la intensidad y gravedad del daño tisular. Las caries profundas, procedimientos restaurativos extensos y los irritantes persistentes casi siempre producen cambios inflamatorios graves. La respuesta pulpar ante estos estímulos va desde una inflamación transitoria (pulpitis reversible) a una pulpitis irreversible, pasando después a una necrosis total.<sup>58</sup>

### **3.2.8 Proceso Inflamatorio**

La lesión pulpar significa daño celular y muerte, seguidos por liberación de mediadores no específicos de la inflamación, como la histamina, bradiquinina, ácido araquidónico y sus metabolitos. Los mastocitos se consideran la fuente principal de histamina y se encuentran

también en la pulpa inflamada. Las quininas, que producen muchos signos y síntomas de la inflamación aguda, se producen cuando las calicreínas del plasma o tejido entran en contacto con los quininógenos. Como resultado del daño celular, la fosfolipasa A2 libera ácido araquidónico desde las membranas celulares<sup>18,58</sup> y su metabolismo, sea por la vía de la ciclooxigenasa o por la vía de la lipooxigenasa, produce la formación de varias prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos<sup>18</sup>. Estos metabolitos se identificaron en pulpitis inducidas experimentalmente<sup>18,58</sup> y sus concentraciones se reducen de forma significativa con el uso de antiinflamatorios no esteroideos<sup>18</sup>.

### **3.2.9 Respuesta inmunológica**

Las reacciones inmunológicas específicas también pueden iniciar y perpetuar la enfermedad pulpar. Se han identificado diferentes clases de inmunoglobulinas en la pulpa dental inflamada y una interacción entre éstas y sus antígenos, como las bacterias y sus productos presentes en la caries dental, pueden provocar respuestas mediadas por anticuerpos<sup>18,58</sup>.

La presencia de antígenos, la identificación de células inmunocompetentes como los leucotrienos, los polimorfonucleares, macrófagos, linfocitos, células plásmáticas y mastocitos en una pulpa inflamada, así como anticuerpos y bacterias específicas, indica que los mediadores de las reacciones inmunológicas participan en la regulación de la patogénesis pulpar<sup>58</sup>.

### **3.2.10 Clasificación de las Enfermedades Pulpares**

Las enfermedades pulpares incluyen: pulpitis reversible , pulpitis irreversible, pulpitis hiperplásica y necrosis pulpar<sup>18</sup>.

#### **3.2.11 Pulpitis Reversible.**

La pulpitis reversible es la inflamación pulpar transitoria. Si el agente o estímulo causante se remueve, la inflamación se revierte y la pulpa vuelve a su estado de normalidad<sup>58</sup>. Estímulos como líquidos fríos (en ocasiones calientes) y aire producen dolor transitorio agudo.

Cualquier irritante que pueda afectar a la pulpa causará una pulpitis reversible, incluyendo la caries temprana, raspado periodontal y las restauraciones sin base cavitaria<sup>18</sup>.

La pulpitis reversible no es una enfermedad, es un síntoma. Si el irritante permanece, los síntomas pueden permanecer indefinidamente o pueden extenderse desembocando en una pulpitis irreversible<sup>18</sup>.

#### **3.2.12 Pulpitis Irreversible**

La pulpitis irreversible puede ser aguda, sub aguda o crónica; puede ser a su vez, parcial o total<sup>18</sup>. Es una inflamación pulpar grave que no se resuelve incluso aunque se elimine la causa o agente que la provoca. La pulpa progresa de manera lenta o rápida hacia la necrosis<sup>58</sup>. Los cambios dinámicos en la pulpa inflamada

irreversiblemente son continuos: puede pasar de un estado de reposo en su forma crónica a un estado de agudización en cuestión de horas<sup>18</sup>.

La Pulpitis irreversible asintomática es poco frecuente. Puede ser la conversión de una pulpitis irreversible sintomática a un estado de reposo, siendo la caries y traumatismos las causas más comunes.

La Pulpitis hiperplásica es una variante de la pulpitis irreversible asintomática<sup>18</sup>. Se define como un aumento de volumen del tejido pulpar por proliferación celular del conectivo, debido a la inflamación crónica de la pulpa expuesta<sup>83</sup>. Esta naturaleza proliferativa es atribuida a una irritación crónica de bajo grado y a una generosa vascularización, sobre todo propia de gente joven<sup>18</sup>. Casi siempre es asintomática, apareciendo como un sobrecrecimiento rojizo en forma de coliflor de tejido conectivo dentro de la caries que produjo una exposición oclusal grande. Sin embargo, en ocasiones está asociada con signos clínicos de pulpitis irreversibles, como dolor espontáneo y reacciona positivamente ante el calor y el frío<sup>58</sup> pudiendo causar además dolor transitorio durante la masticación<sup>18</sup>.

La Pulpitis irreversible sintomática se caracteriza por un dolor espontáneo, intermitente o continuo. Los cambios de temperatura (como el frío) provocan episodios prolongados de dolor<sup>18,58</sup>. El dolor generalmente es de moderado a grave; punzante o apagado; localizado o referido<sup>18</sup> y puede durar desde sólo unos minutos hasta incluso horas<sup>58</sup>.

Es importante para su correcto diagnóstico la información que se obtenga de la historia dental, un adecuado examen clínico y una radiografía, así como cuidadosas pruebas térmicas.

El cuadro inflamatorio en pulpitis irreversibles sintomáticas puede ser severo y, eventualmente, evolucionar hasta una necrosis pulpar<sup>18</sup>.

### **3.2.13 Necrosis Pulpar**

Es la muerte pulpar, donde terminan todos los procesos metabólicos de este órgano, con pérdida de su estructura y de sus defensas naturales como consecuencia final de un proceso patológico inflamatorio en el cual la pulpa no pudo reintegrarse a la normalidad<sup>30,83</sup>. Resulta de una pulpitis irreversible no tratada, trauma o cualquier suceso que cause una interrupción prolongada del aporte sanguíneo a la pulpa. La necrosis pulpar puede ser total o parcial<sup>18</sup>. En casos de caries profundas con cercanía a la cámara pulpar, se admite que ciertos microorganismos, al igual que sus productos tóxicos, logran injuriar a la pulpa. En muchos casos, el número de bacterias que llega a su superficie no es muy grande y si la pulpa está saludable, sus fagocitos consiguen eliminarlas<sup>1</sup>. Pero cuando se produce su exposición al medio bucal, la pulpa entra en contacto con un número muy grande de microorganismos y es ahí donde la infección se instala de manera consistente, llevando a un proceso inflamatorio intenso e irreversible. Este hecho posee una importancia vital, toda vez que la pulpa está contenida por paredes inextensibles de dentina y además no posee circulación sanguínea colateral. Consecuentemente,

un mínimo de infiltrado y de edema ya consiguen causar un considerable daño tecidual. El aumento de la presión interna lleva a un colapso de la irrigación sanguínea, lo cual resulta en una necrosis pulpar por licuefacción<sup>58</sup>. Por tanto, la agresión bacteriana genera inflamación y aumento de la presión interna, conduciendo ambas a una necrosis pulpar y a una lesión periapical<sup>1,18</sup>. Es casi siempre asintomática, pero puede estar asociada con episodios de dolor espontáneo o a la presión. Se cree que el dolor provocado por la aplicación de calor está relacionado con la expansión térmica del gas presente en el conducto radicular. El frío y la electricidad no producen ningún tipo de respuesta<sup>83</sup>.

En el caso de necrosis pulpares asépticas (provocadas por traumatismos) el tejido necrótico puede permanecer estéril y no parece afectar por sí mismo a los tejidos periapicales mientras esté en ese estado. Sin embargo, si éste se infecta, la inflamación y las lesiones apicales son un hecho<sup>1,18,76</sup>.

Cuando ocurre una necrosis pulpar, el número de bacterias presentes aumenta y esto debido principalmente a que los restos celulares desintegrados sirven de nutrientes a las bacterias. Además, los mecanismos de defensa teciduales y sanguíneos desaparecen del canal radicular. Por lo tanto, este hecho implica que existe un excelente ambiente para el desarrollo de los microorganismos<sup>2</sup>.



### **3.2.14 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.

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.

### **3.2.15 Alteraciones Apicales Agudas**

#### **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<sup>18,30,58</sup>.

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<sup>18,30,58,83</sup> .

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<sup>30</sup> . 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.

### **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<sup>58</sup> .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<sup>30,83</sup> .

Aunque esta enfermedad puede ser muy seria, el ligamento periodontal puede estar en sus límites normales o quizá ligeramente engrosado<sup>18</sup> 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.

### **3.2.16 Alteraciones Apicales Crónicas**

#### **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<sup>30</sup>.

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.

#### **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<sup>30</sup>.

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

### **3.2.17 EL MEDIO ENDODÓNTICO**

El medio endodóntico es un sistema complejo y dinámico. Complejo, pues tenemos el conducto radicular, con sus características particulares en cuanto a forma y a distribución (conductos amplios, atrésicos, curvos, rectos, bifurcados, conductos accesorios, conductos laterales, deltas apicales) conforman una red amplia de “microambientes” de difícil acceso y que favorecen -por contener tejido necrótico como fuente de nutrientes- el crecimiento de microorganismos.

Dinámico, pues los microorganismos implicados en una lesión inicial de la pulpa no serán los mismos que se encuentren en una necrosis pulpar, en la que se forma un ecosistema radicalmente diferente.

En este medio ambiente particular, que es el endodóntico, cobra importancia el concepto de sucesión microbiana.

La sucesión microbiana es el proceso mediante el cual se produce una variación o un cambio de microorganismos condicionado por alteraciones en el hábitat. Es lógico, por tanto, esperar un cambio en cuanto a la composición de la flora bacteriana, pues se produce una alteración radical del medio ambiente endodóntico.<sup>2</sup>

De pulpas recientemente infectadas, son aisladas mayores proporciones de bacterias gram positivas, anaerobias facultativas y sacarolíticas, tales como *Lactobacillus* y *Actinomyces spp.*

Con la evolución del proceso infeccioso, estas bacterias van consumiendo gradualmente el oxígeno presente en el medio y las condiciones en el interior del conducto se van paulatinamente alterando, favoreciendo el desarrollo de bacterias anaerobios estrictas; siendo la mayoría de éstas gram negativas y proteolíticas.<sup>1,31,52</sup>

La particularidad de estas bacterias, tales como: *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*, es su ubicación inicial en el periápice, región de la cual pueden obtener fácilmente el exudado rico en contenido protéico y en donde las condiciones de anaerobiosis son las más propicias. Con el desarrollo de la necrosis, éste exudado pasa a todo el canal, aportando el contenido protéico y permitiendo el predominio de estas bacterias a lo largo de todo el sistema endodóntico<sup>1,52</sup>.

Toda infección endodóntica es de carácter polimicrobiana<sup>54,59</sup>. Los anaerobios no son encontrados en cultivos puros porque su naturaleza sinérgica requiere de nutrientes específicos para su crecimiento, los mismos que son aportados por otro tipo de microorganismos<sup>38,46,47,48,59</sup>. Sin embargo, existen casos documentados en los cuales se ha aislado una cepa pura en canales radiculares infectados<sup>1,4,5</sup>.

Una revisión de los diferentes estudios en infecciones endodónticas de las dos últimas décadas, nos permite afirmar la naturaleza mixta de estas infecciones, donde los anaerobios superan en el doble a las

bacterias aerobias. Diversos estudios incluso han ido aumentando esta proporción, reportando la presencia de anaerobios estrictos en cerca del 90%<sup>62</sup> de los casos de dientes tratados con diagnóstico de necrosis pulpar y presencia de lesión periapical, donde el porcentaje de bacteroides pigmentados alcanza el 30% y del *Fusobacterium nucleatum* es de hasta 48%<sup>39,40,45,46, 59,60,63</sup>.

Pero, ¿Qué microorganismos podemos encontrar?

Como ya mencionamos, en este sistema van a prevalecer las bacterias anaerobias estrictas, gram negativas y proteolíticas. Los géneros y especies, así como su frecuencia de asociación y de prevalencia tanto como su relación con sintomatología dentaria, variará dependiendo de las técnicas de aislamiento y de identificación que los diferentes autores apliquen en sus estudios.

Autores como De Lorenzo<sup>1</sup> cita a los siguientes géneros bacterianos: *Prevotella* y *Porphyromonas* (en muy alta frecuencia), *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp*, *Veillonella párvula*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces spp*, *Enterococcus* y *Fusobacterium*.

Para Sato y col<sup>20</sup> los de mayor prevalencia son *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus spp.* y *Veillonella*

### **3.3 Definición de términos**

#### **Anacoresis.**

Se define como la atracción positiva de los microorganismos presentes en la circulación sanguínea hacia los tejidos inflamados o necróticos durante una bacteremia <sup>(18, 2, 14)</sup>

#### **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 oxígeno 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 oxígeno atmosférico

### **Cepa bacteriana**

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

### **3.4 Hipótesis**

Los microorganismos frecuentes en necrosis pulpaes son *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus prevotti*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis* .



### 3.5 Operacionalización de Variables

**Variable:** Bacterias patógenas, según género y especie, más frecuentes en el conducto radicular con necrosis pulpar.

**Concepto:** Entiéndase por bacterias patógenas más frecuentes en el canal radicular, a aquellos géneros y especies bacterianas, anaerobias facultativas y anaerobias estrictas cuya proliferación y producción de enzimas y toxinas mantienen y exacerban los cuadros infecciosos en necrosis pulpares.

Dimensiones	Indicador	Escala	
<i>Peptostreptococcus micros</i>	Pruebas bioquímicas específicas determinadas por el Sistema API 20A. Ureasa( - )      Catalasa(+ ) gelatina( - ) Glucosa(- ) Indol( - )	SI	NO
<i>Porphyromonas gingivales</i>	Pruebas bioquímicas específicas determinadas por el Sistema API 20A. Ureasa( - )      Catalasa(- ) gelatina( - ) Glucosa(+) Indol( - )	SI	NO
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Pruebas bioquímicas específicas determinadas por el Sistema API 20A. Ureasa( - )      Catalasa(+ ) gelatina( - ) Glucosa(- ) Indol( + )	SI	NO
<i>Prevotella Intermedia</i>	Pruebas bioquímicas específicas determinadas por el Sistema API 20A. Ureasa( - )      Catalasa(- ) gelatina( - + ) Glucosa(-+) Indol( ++)	SI	NO

## **IV. Metodología**

### **4.1 Tipo de Investigación**

El Estudio fue de tipo descriptivo, prospectivo y transversal. Se considera descriptivo porque se pretendió describir cuáles eran las bacterias más frecuentes dentro de la microbiología de las necrosis pulpares. Se considera prospectivo porque se registraron los datos según fueron ocurriendo, y transversal porque se evaluó un fenómeno en un momento determinado.

### **4.2 Población y Muestra**

La población estuvo integrada por todos los pacientes de 18 a 60 años con diagnóstico de necrosis pulpar séptica asintomática en una pieza dental uniradicular y con evidente lesión periapical observable radiográficamente que iniciaron su tratamiento en el Departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central - Lima.

#### **Tamaño de la muestra**

La muestra estuvo conformada por 18 pacientes que acudieron al Departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central, con diagnóstico clínico y radiográfico de necrosis pulpar séptica asintomática en una pieza dentaria.

### **Tipo de muestreo**

El tipo de muestreo seleccionado fue no probabilístico y los pacientes fueron elegidos tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

### **Unidad de Muestreo**

Constituida por piezas dentarias uniradiculares con diagnóstico de necrosis pulpar séptica asintomática con lesión periradicular.

### **Unidad de Análisis**

La unidad de análisis estuvo conformada por el canal radicular de la pieza dentaria con diagnóstico de necrosis pulpar séptica asintomática abierta.

## **4.3. Procedimientos y técnicas**

### **1) Selección del Paciente**

#### **Criterios de inclusión**

- Los pacientes que participaron del presente estudio fueron seleccionados tomando un criterio primario de inclusión el cual fue una lesión apical crónica radiográficamente demostrable sobre un diente uniradicular con pulpa necrótica.
- Paciente en buen estado de salud general; lo cual se concluirá luego de la entrevista previa al tratamiento.
- Pieza dentaria a tratarse debe presentar conductos rectos.

### **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). Para la obtención de estos datos se confeccionó una ficha odontológica la cual fue rellenada por el paciente.
- Se excluyó además a aquellas piezas dentales que no presentaban las condiciones para un adecuado aislamiento y las que presenten un conducto de trayecto sinuoso.

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes que participaron en este estudio.

### **2) Procedimiento para la recolección de muestras**

El presente estudio se realizó considerando solamente a las piezas dentarias que cumplían con los criterios de inclusión establecidos.

### **Método para la recolección de datos.**

Los pacientes que colaboraron con este estudio fueron seleccionados en el Departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central, los cuales presentaron diagnóstico de necrosis pulpar, determinada clínicamente por la observación de la lesión cariosa profunda, cambio de color de la pieza dental, falta de respuesta a los cambios térmicos, así como por la observación de una imagen radiolúcida

periradicular en la radiografía periapical correspondiente.

Una vez realizado el diagnóstico, se procedió a el aislamiento absoluto de la pieza dental y a la desinfección de la misma, mediante la acción bactericida de la Clorhexidina 0.12%(Perio Aid). 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%(Perio Aid).

#### **Toma de muestra**

Aislada y desinfectada la pieza dental, se introdujo agua destilada en el interior del conducto con una jeringa de tuberculina. Con la ayuda de la radiografía de diagnóstico obtuvimos la longitud aproximada del conducto. Luego se procedió a realizar un ligero desbridamiento de aproximadamente 30 seg. con una lima N° 15 o 20 estéril, tratando de conseguir una máxima suspensión bacteriana en el medio. Posteriormente, con un cono de papel estéril, se secó el canal radicular y se llevó el mismo inmediatamente al medio tioglicolato de transporte. Y de ahí, en menos de 30 minutos posteriores a la toma de muestra se procedió a su siembra para cultivo en el laboratorio.

#### **4.4. Transporte y procesamiento de muestras.**

##### **Procesamiento de Laboratorio.**

##### **Para bacterias Anaerobias estrictas.**

1. Una cantidad suficiente de muestra se trasladó en caldo tioglicolato suplementado y se sembró en un tiempo no mayor de 30 min. posterior a la toma de la misma.

2. Siembra mediante asa de Kohle en medio Agar *Brucella* (Himedia Laboratories)<sup>84</sup> suplementado, especial para el cultivo de microorganismos anaerobios exigentes<sup>11,13,25</sup>.

3. Preparación del sistema generador de anaerobiosis Anaerocult C Mini (Merck SA, Alemania)<sup>79</sup> según especificaciones del fabricante y traslado inmediato de la placa sembrada a incubación a 37 grados centígrados por 14 días, para permitir el crecimiento y la detección de formación de colonias bacterianas de crecimiento muy lento<sup>5,11,12,74,75</sup>

4. Si se registraba crecimiento se realizaba una clasificación preeliminar de las especies bacterianas basándonos en las características macroscópicas de las colonias (como por ejemplo color, altura, bordes, superficie, textura, consistencia y hemólisis) y se realizaba una coloración gram. Las colonias coloreadas se clasificaron de acuerdo a sus características morfológicas microscópicas en: cocos gram positivos, cocos gram negativos, bacilos gram positivos y bacilos gramnegativos. Luego se procedió a resembrar las colonias más representativas de cada placa de Petri en agar *Brucella* y en caldo tioglicolato suplementados por 14 días más, en condiciones de anaerobiosis, a fin de obtener cultivos puros y de mantener viable la cepa bacteriana respectivamente.

Una vez concluido el periodo de incubación, se realizó nuevamente la

coloración gram para corroborar la pureza de la cepa. Si no se obtenía una cepa pura, se procedía a una nueva resiembra, del modo y en las condiciones ya citadas.

5. Las bacterias aisladas y finalmente purificadas fueron identificadas utilizando las galerías del sistema API 20A, (BioMérieux SA, Francia)<sup>80</sup> siguiendo las recomendaciones del fabricante. Las galerías fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis por 48 horas<sup>80</sup>, utilizando el sistema generador de anaerobiosis GENbox (BioMérieux SA, Francia)<sup>21</sup> y la GENbox jarra de anaerobiosis de 7.5 litros (BioMérieux SA, Francia)

<sup>21</sup>.

## **Preparación de medios de transporte y de cultivo**

### **Medio Tioglicolato suplementado para el transporte y cultivo de microorganismos anaerobios<sup>73</sup>**

Se preparó 100 ml de caldo tioglicolato el cual se hirvió hasta alcanzar una solución homogénea y transparente; se dejó reposar por 15 minutos para luego esterilizarlo en autoclave por 15 minutos a 125 grados. Se dejó enfriar a temperatura ambiente por unos 5 minutos y se le agregó 50 ug de hemina y 50 ug de menadiona. Luego, el caldo se trasladó a 20 tubos estériles con tapa rosca de 5ml cada uno, los mismos que fueron llenados al ras, cerrados vigorosamente y almacenados en una estufa a 37 grados por 24 horas para el control de esterilidad respectivo. Si al cabo de ese tiempo se observaba turbidez, crecimiento o cualquier alteración en el caldo, éste se descartaba por

contaminación. Los medios de transporte fueron preparados en la Sección de Medios de Cultivo, Área de Microbiología del Hospital Militar Central y almacenados por un periodo no superior a 10 días, luego del cual eran descartados.

### **Agar *Brucella*-sangre suplementado para el cultivo de microorganismos anaerobios estrictos exigentes<sup>11,13,25</sup>**

Se preparó 500 ml de agar *Brucella* base (Himedia Laboratories SA, India)<sup>84</sup> al cual se hirvió hasta alcanzar una solución homogénea y transparente; se dejó reposar por 15 minutos para luego esterilizarlo en autoclave por 15 minutos a 125 grados. Se dejó enfriar a temperatura ambiente por unos 5 min. y se le agregó 25 ml de sangre desfibrinada de carnero (procesada en el Instituto Nacional de Salud), 0.5 ml de hemina (Himedia Laboratories SA. India)<sup>35</sup> y 1ml de menadiona diluidas. Luego el agar, aún en su estado líquido, se trasladó a 25 placas de Petri estériles, depositando 20 ml en cada una, donde finalmente el agar se gelificó. El porcentaje final alcanzado por placa de Petri fue de 5% sangre, 0.0005 % hemina y 0.00001% menadiona. Las placas fueron incubadas en una estufa a 37 grados por 24 horas para el control de esterilidad respectivo. Si al cabo de ese tiempo se observaba crecimiento bacteriano o cualquier alteración en el agar, éste se descartaba por contaminación. Las placas fueron preparadas en la Sección de Medios de Cultivo, Área de Microbiología del Hospital Militar Central y



almacenadas en refrigeración por un periodo no superior a 10 días, luego del cual eran descartadas.

### **Material e instrumental de Laboratorio.**

- Espejos bucales
- Jeringas descartables 20cc y agujas descartables 21.
- Jeringa de tuberculina
- Gasas y algodón estériles
- Dique de Goma.
- Caldo tioglicolato.
- Lima para endodoncia tipo K N° 15 o 20 Maillefer.
- Agar *Brucella* - sangre.
- Sistema generador de anaerobiosis: Anaerocult C mini.
- Sistema generador de anaerobiosis Gen box anaer.
- Jarra de anaerobiosis.
- Tubos de ensayo con tapa rosca.
- Lámina cubre y portaobjetos.
- Asa de siembra.
- Reactivos para Coloración Gram.
- Sistema de Diagnóstico microbiológico API 20 A
- Cámara fotográfica

## RESULTADOS

Es el presente estudio se analizaron 18 muestras bacterias provenientes de dientes uniradiculares con diagnóstico de necrosis pulpar séptica asintomática abierta.

Todos los pacientes que participaron en el estudio fueron varones con edades entre 18 y 60 años que acudieron al departamento de Endodoncia del Hospital Militar Central para su tratamiento respectivo. Todos los pacientes evaluados fueron del sexo masculino.

Se aislaron un total de 29 cepas bacterianas (Tabla 1), lográndose identificar 11 géneros bacterianos (Figs. 3 y 4), de los cuales, 8 fueron anaerobios estrictos y 3 fueron anaerobios facultativos. Diecisiete fueron las diferentes especies recuperadas, de éstas, 14 (77%) fueron anaerobias estrictas y 3 (23%) (Figs. 1 y 2) fueron anaerobias facultativas.

Los géneros bacterianos más frecuentemente aislados fueron *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*.

Las especies bacterianas frecuentemente aisladas fueron *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Veillonella parvula*, cada una de ellas con 3 aislamientos.

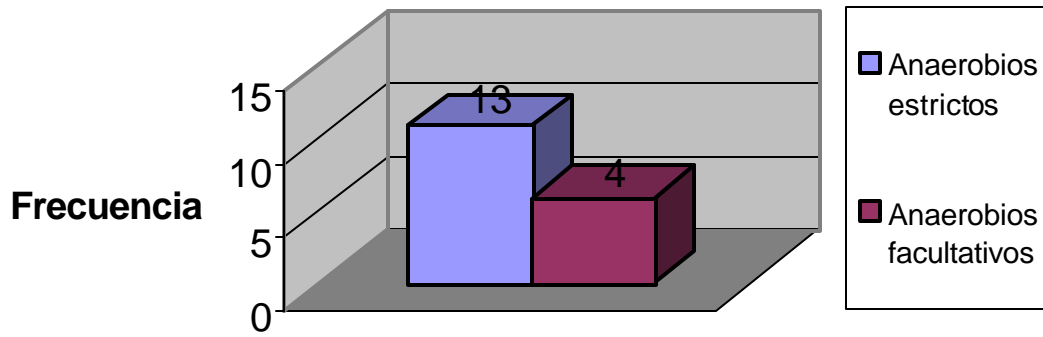
De los 18 canales evaluados, 1 canal no registró crecimiento bacteriano; solo un canal registró 4 cepas bacterianas (*A. israelii*, *F. necrophorum*, *P. asaccharolytica* y *P. melaninogenica*); 1 Canal registró 3 cepas (*Propionibacterium acnes*, *P. asaccharolytica* y *L. acidophilus*); 7 canales registraron 2 cepas (*B. Spp1* y *F. nucleatum*; *F. nucleatum* y *E. lentum*; *B. spp1* y *P. oris*; *A. naeslundii* y *B. spp2*; *A. naeslundii* y *P. acnes*; *V. parvula* y *P. buccae*, *S. Intermedios* y *P. micros*) y 8 canales registraron una sola cepa (*F. nucleatum*, *L. acidophilus* en dos ocasiones, *E. lentum*, *V. parvula* en dos ocasiones, *A. meyeri*, y *P. micros*) (Figs. 7 y 8).

Las bacterias gram negativas representaron el 41% (12) de las cepas recuperadas y las gram positivas representaron el 59% (17) (Figs. 9 y 10). De éstas, 14 cepas fueron identificadas como bacilos gram positivos, 9 como bacilos gram negativos, 3 como cocos gram positivos y 3 como cocos gram negativos.

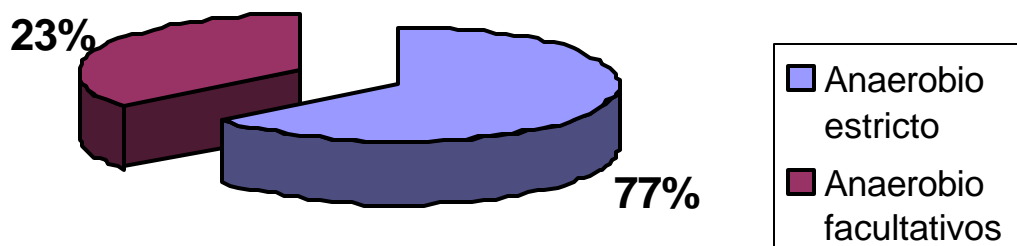
**Cuadro No 1.**  
**Géneros y especies bacterianas identificadas en necrosis pulpares**  
**sépticas asintomáticas**

Género	Especies	Cepas Bact.
<i>Actinomyces</i>	<i>meyri</i>	1
	<i>Israellii</i>	1
	<i>naeslundii</i>	2
<i>Fusobacterium</i>	<i>necrophorum</i>	1
	<i>nucleatum</i>	3
<i>Prevotella</i>	<i>melaninogónica</i>	1
	<i>oris</i>	1
	<i>buccae</i>	1
<i>Porphyromonas</i>	<i>asaccharolytica</i>	2
<i>Bifidobacterium</i>	<i>bifidobacterium spp1</i>	2
	<i>bifidobacterium spp2</i>	1
<i>Veillonella</i>	<i>parvula</i>	3
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>micros</i>	2
<i>Eubacterium</i>	<i>lentun</i>	2
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	3
<i>Propionibacterium</i>	<i>acnes</i>	2
<i>Streptococcus</i>	<i>intermedius</i>	1
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>29</b>

**Figura 1**  
**Requerimiento de Oxigeno según especie**



**Figura**  
**Porcentaje de especies según requerimiento de Oxigeno**



En la figura Nº 1 podemos apreciar la frecuencia de aislamientos de bacterias según su requerimiento de oxígeno y en la figura Nº 2 los resultados expresados en porcentajes. Los resultados demuestran la elevada presencia de bacterias anaerobias estrictas en este tipo de infecciones.

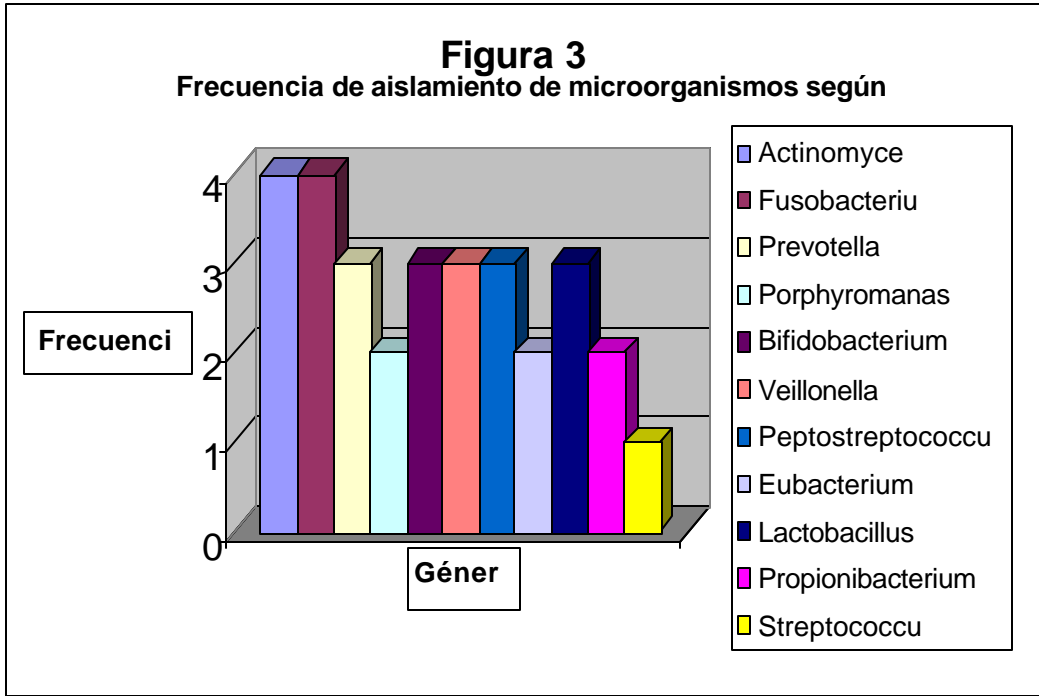
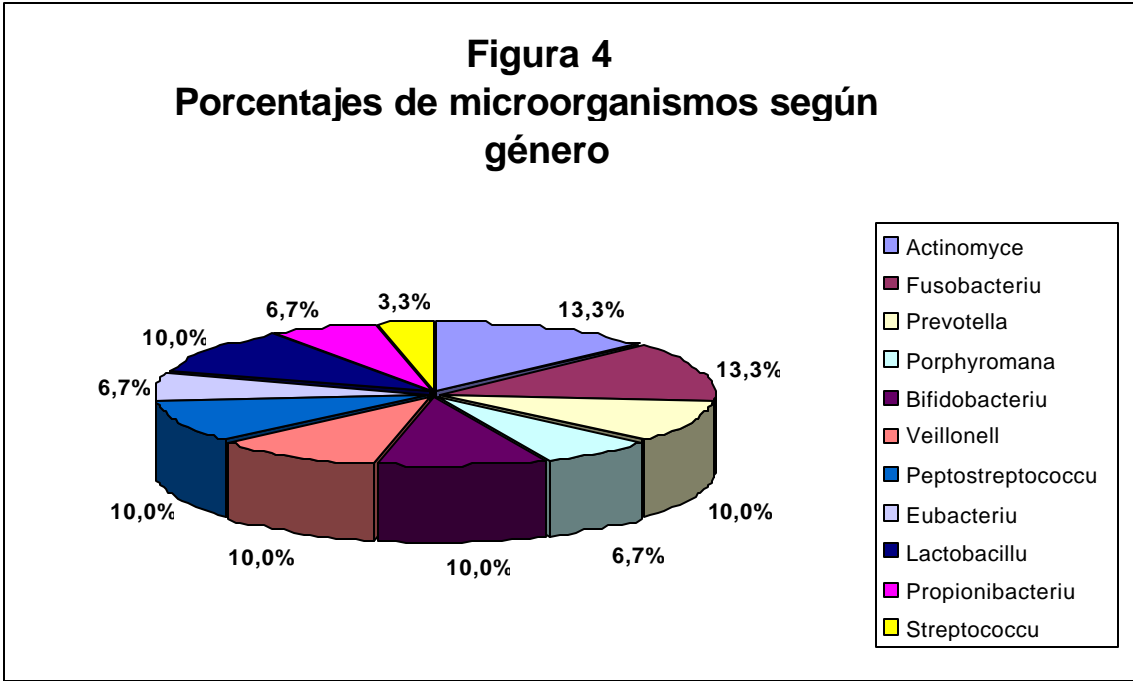


Figura N° 3. Aquí se puede observar que los géneros bacterianos frecuentemente aislados fueron *Actinomyces* y *Fusobacterium* (Ambos con 4 aislamientos) , seguidos por *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*, con tres aislamientos respectivamente.



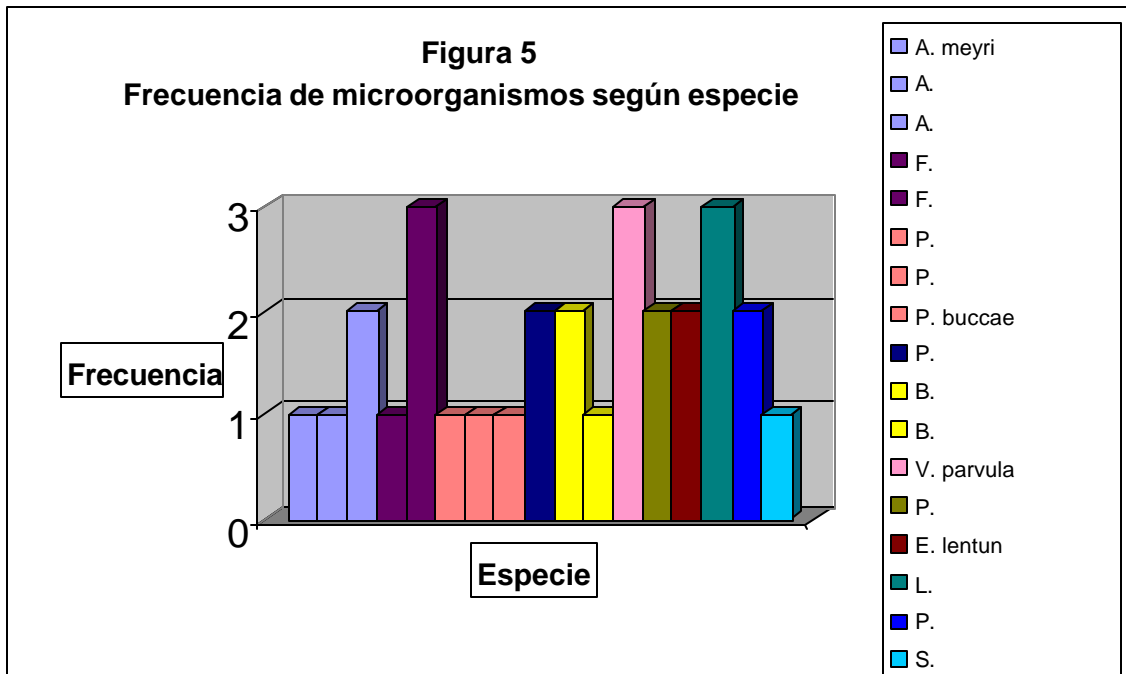
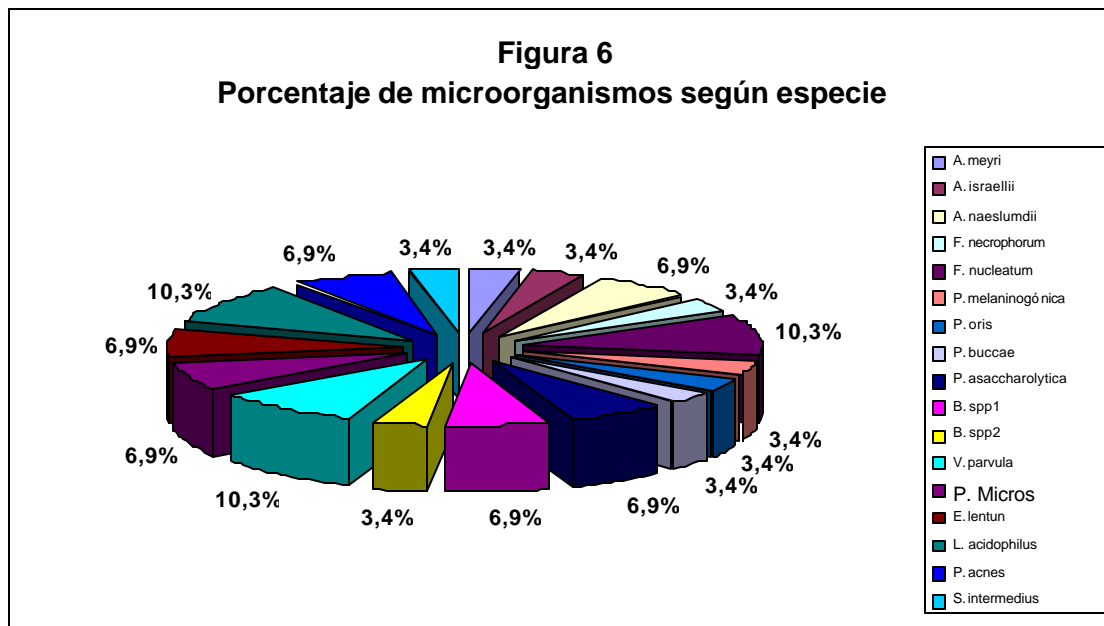
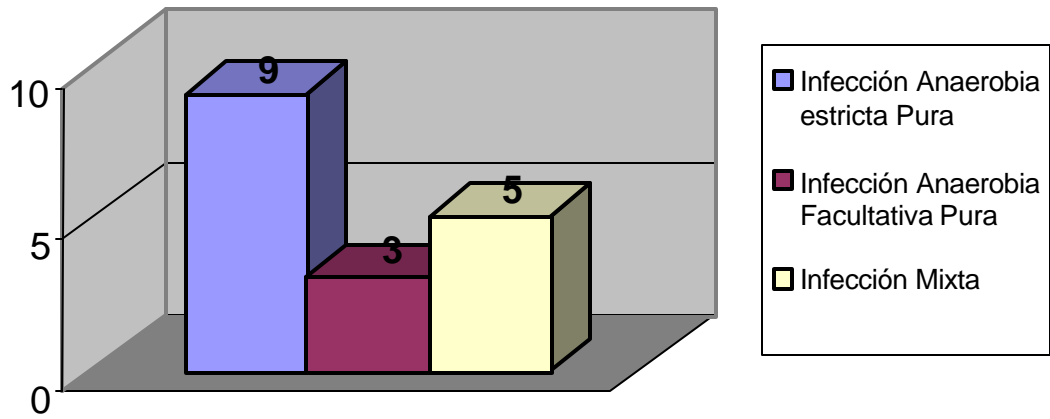


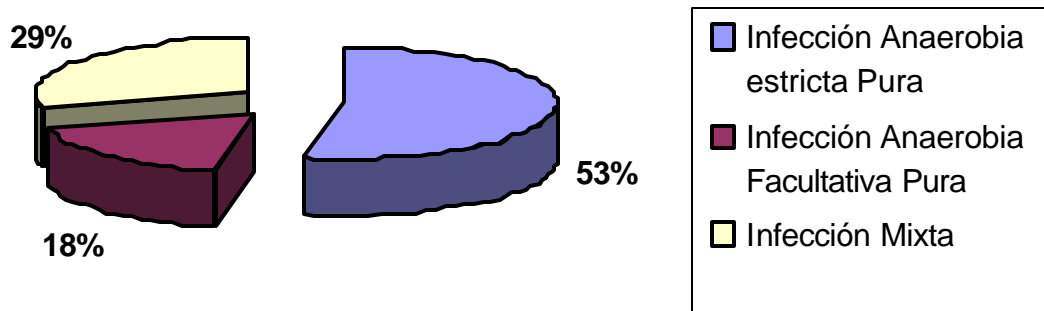
Figura Nº 5. Aquí podemos observar la frecuencia de microorganismo según especie donde las frecuentemente aisladas fueron *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula* y *Lactobacillus acidophilus*.



**Figura 7**  
**Tipo de infección según microorganismos recuperados**

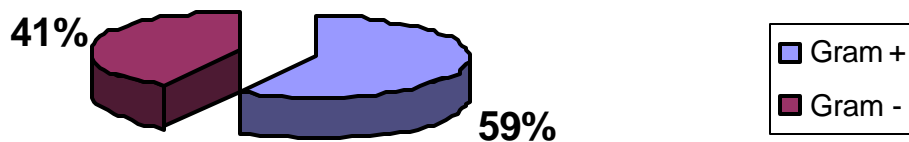


**Figura**  
**Porcentaje de tipos de**  
**según microorganismos recuperados**





**Figura**  
**Porcentaje de Microorganismos**  
**Coloración**



**Figura 10**  
**Frecuencia de microorganismos**  
**Coloración**

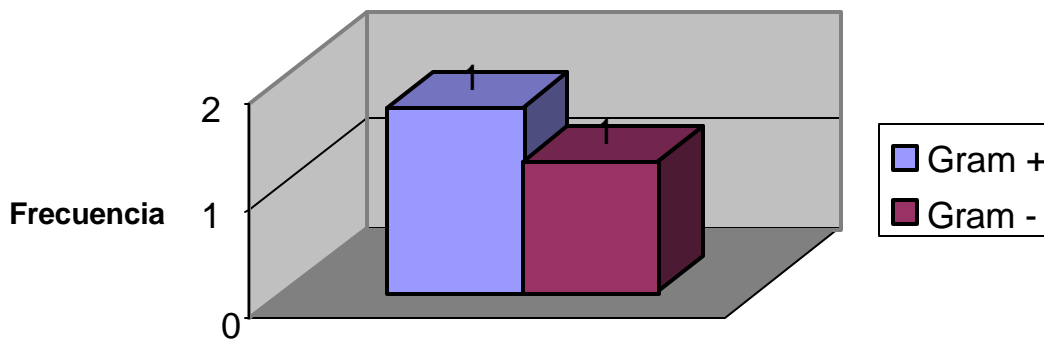


Figura Nº 10. Las bacterias gram negativas representaron el 41% (12) de las cepas recuperadas y las gram positivas representaron el 59% (17) (figuras 9 y 10). De éstas, 14 cepas fueron identificadas como bacilos gram positivos, 9 como bacilos gram negativos, 3 como cocos gram positivos y 3 como cocos gram negativos.

## Discusión

La etiopatogénesis de las infecciones endodónticas y la importancia de los microorganismos involucrados en los cambios pulpo-periapicales han sido ampliamente estudiados. El advenimiento de las nuevas técnicas de aislamiento e identificación bacteriana, así como la posibilidad de recuperar una mayor cantidad y diversidad de bacterias, abren la posibilidad de un conocimiento más preciso de estas infecciones.

La presencia de bacterias anaerobias estrictas en 14/17 (77%) de los casos evaluados, son similares a los reportados por Lana<sup>4</sup>, Gomes<sup>5</sup>, Arroyo<sup>34</sup>, Dalby<sup>39</sup>, Brook<sup>59</sup>, Peters<sup>62</sup> y Siqueira<sup>68</sup>, confirmando la afirmación según la cual las infecciones del sistema endodóntico son causadas principalmente por bacterias anaerobias estrictas.

La moda de aislamientos por canal fue de 1.7, lo cual difiere de lo reportado en la literatura (4,5,34,81). Esta marcada diferencia puede deberse a múltiples factores, entre los cuales podríamos señalar que en nuestro estudio no se realizaron cultivos dobles (placas sembradas tanto en aerobiosis como en anaerobiosis) por lo que al momento de realizar el recuento de bacterias recuperadas no se tomaron en cuenta a las especies aerobias o microaerófilas. Además, se debe considerar el estado asintomático que presentaron los pacientes evaluados lo cual, según Jacinto<sup>6</sup>, supone una menor cantidad de microorganismos en el canal radicular y un menor número de especies por canal en relación a dientes sintomáticos. Otro factor importante que tenemos que

considerar son las técnicas de aislamiento e identificación utilizada en los diversos estudios. Autores como Bogen<sup>16</sup> y Siqueira<sup>6 8</sup> entre otros, realizan identificaciones bacterianas mediante la técnica de PCR, lo cual hace posible la amplia recuperación de géneros y especies bacterianas, principalmente anaerobias estrictas, las cuales, dadas sus exigencias nutricionales y su labilidad, son difíciles de recuperar con métodos convencionales en cantidades significativas como para realizar el cultivo correspondiente.

En este estudio se encontró que los géneros bacterianos frecuentemente aislados fueron: *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*. Estos resultados difieren de los reportados por Gomes<sup>5</sup> en los que géneros como *Peptostreptococcus* y *Streptococcus* con 58.3% y 53.3% respectivamente son los géneros bacterianos frecuentemente aislados. Géneros como *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* y *Propionibacterium* alcanzan porcentajes similares a los obtenidos en este estudio. Para Lana<sup>4</sup>, los géneros más prevalentes fueron *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Peptostresptococcus* al igual que para Arroyo<sup>34</sup>. Khemaleekul obtuvo en su estudio, como los géneros más prevalentes, a *Prevotella* y *Streptococcus*. Vigil<sup>22</sup> reportó géneros como *Propionibacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Fusobacterium*. Para Brook<sup>59</sup> los géneros con mayor prevalencia fueron *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus*, mientras que para Chu<sup>71</sup> los géneros frecuentemente aislados fueron *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* y *Campylobacter*. Autores como Jacinto<sup>6</sup> y Gomes<sup>5</sup> relacionan a géneros bacterianos, como *Actinomyces* y *Fusobacterium* con presencia de dolor a la percusión. Si bien no fue objetivo de

este estudio ,dicha relación no pudo ser establecida en los casos evaluados.

En cuanto a las especies recuperadas en nuestro estudio, las más frecuentes fueron: *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula* y *Lactobacillus acidophilus* . Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Lana<sup>4</sup> y difieren de los reportados por Geibel y por otros autores(5,28) en cuyos resultados figuran, aunque en diferentes proporciones, *P. micros*,*P.intermedia* y *P. gingivalis*. Para Nisengard<sup>54</sup> , las especies frecuentemente aisladas fueron *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, *P. micros* y *F. Nucleatum*, mientras que para autores como Jacinto<sup>6</sup> fueron *F.necrophorum*,*P.prevotii*, *P. micros*, *F. nucleatum* y *P. intermedia*. Las proporciones de las especies recuperadas variarán según los métodos que se utilicen en los diversos trabajos y también, como lo demostró Siqueira<sup>68</sup>, de acuerdo a la localización geográfica de la población de estudio.

La presencia de una flora mixta, anaerobia estricta-anaerobia facultativa ,comprendiendo especies grampositivas y gramnegativas ,fue encontrada en 12 canales(66%) cifras que coinciden con los reportes de Gomes<sup>5</sup>, y Khemaleekul<sup>11</sup> y difieren de los resultados obtenidos por Lana<sup>4</sup> en cuyo estudio se reporta 82% de canales con infección mixta

Las bacterias anaerobias facultativas representaron un grupo microbiológico importante recuperado de los canales radiculares. Estas son patógenos importantes implicados en los procesos patológicos endodónticos y el sinergismo que puedan desarrollar con las bacterias anaerobias estrictas jugará

un rol fundamental en la colonización del canal (46,48). El porcentaje de bacterias anaerobias facultativas aisladas (23%) coincide con los reportados por Arroyo<sup>34</sup> y Gomes<sup>5</sup> y está significativamente por debajo de los datos obtenidos por Lana<sup>4</sup>, quién registró una presencia del 51% de este tipo bacteriano.

La coloración Gram es un procedimiento de rutina en los laboratorios microbiológicos. Si bien es cierto no reemplaza a los cultivos bacterianos, nos brinda información adicional valiosa a cerca de los tipos bacterianos involucrados en una infección y, lo más importante es que puede estar listo en pocos minutos. Nuestros resultados muestran que el 59% de las bacterias aisladas de conductos radiculares con necrosis pulpar asintomática antes iniciar su tratamiento fueron grampositivas, resultados similares a los obtenidos por Gomes<sup>5</sup> y Pajari<sup>28</sup>. La pared celular de bacterias grampositivas, como *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*, incluyen peptidoglicano y ácidos lipoteicoicos, los cuales pueden influenciar en las reacciones inflamatorias; también están relacionadas con un aumento del dolor agudo y destrucción de los tejidos periapicales.

La presencia de bacterias gram negativas( 41% ) estuvo alrededor de lo observado por otros autores(4,5,11,28,34), lo que evidencia la importancia de éste grupo en el desarrollo de los procesos infecciosos endodónticos. Autores como Dahlen<sup>69</sup> relacionan una mayor actividad endotóxica con un mayor número de bacterias gramnegativas presentes en el canal radicular.

La asociación microbiana juega un rol importante en la regulación de la composición de la flora en la cavidad oral y las relaciones de sinergismo o antagonismo bacteriano pueden influenciar en la microbiota del canal radicular(48). En el presente estudio, si bien no era uno de los objetivos, no se

pudo establecer relaciones significativas entre los microorganismos recuperados. Esto pueda deberse tal vez a lo limitado de nuestros recursos y de los casos evaluados.

Por último, dado que la integridad de nuestros casos estuvo representado por pacientes de sexo masculino, no pudimos establecer algún tipo de relación entre especies bacterianas y sexo del paciente.

Se consideró al inicio de este estudio que las bacterias frecuentes en necrosis pulpares eran *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus prevotti*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis* . Sin embargo nuestros resultados fueron diferentes a lo que se indica en la literatura.

## Conclusiones

- Los géneros y especies identificados en el estudio no coinciden con los planteados en la hipótesis, por tanto, nuestra hipótesis de trabajo es nula.
- Los géneros bacterianos frecuentemente aislados fueron: *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*.
- Las especies bacterianas frecuentemente aisladas fueron: *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Veillonella parvula*.
- El tipo de infección identificada en los conductos radiculares evaluados fue la del tipo mixta (asociación de especies anaerobias entre si y en combinación con especies anaerobias facultativas).
- Las bacterias gram positivas fueron las más frecuentes en los conductos radiculares evaluados.

## **Recomendaciones**

- Realizar investigaciones posteriores utilizando técnicas moleculares con la finalidad de poder aislar mayor cantidad de especies bacterianas.
- Realizar estudios in vitro procesando mayor cantidad de muestras bacterianas y así poder recuperar mayor cantidad de microorganismos presentes en las infecciones de los conductos radiculares.
- Realizar investigaciones periódicas para determinar variaciones de género y de especie de las bacterias involucradas en este tipo de infecciones.
- Realizar pruebas de sensibilidad antibiótica de manera periódica a fin de poder determinar patrones de resistencia de los microorganismos encontrados.



## Resumen

En el presente estudio se identificaron las bacterias anaerobias estrictas y facultativas frecuentes en necrosis pulpares sépticas asintomáticas. Se tomaron muestras bacterianas de 18 conductos radiculares con diagnóstico Clínico y radiográfico de necrosis pulpar séptica asintomática de pacientes con rango de edades de entre 18 a 60 años que iniciaron su tratamiento en el departamento de endodoncia de la División de Estomatología del Hospital Militar Central. Las muestras fueron transportadas y cultivadas en condiciones de anaerobiosis. Luego, fueron subcultivadas con la finalidad de obtener cultivos puros que estuvieran aptos para la identificación microbiana. El procedimiento de identificación utilizado fue el sistema API 20 A para anaerobios.

El procedimiento de identificación utilizado fue el Sistema API 20 A para anaerobios. Los resultados mostraron que los géneros bacterianos frecuentemente aislados fueron: *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* y *Lactobacillus*. Las especies bacterianas frecuentemente aisladas fueron: *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Veillonella parvula*.

Este trabajo concluye que las infecciones predominantes en los conductos radiculares son del tipo mixto, existiendo un alto porcentaje de microorganismos anaerobios estrictos involucrados en la patología pulpar y periapical.

## Abstract

In this study, we identified strict and facultative anaerobic bacteria in asymptomatic patients with septic necrosis dental pulp. Bacterial samples were taken from 18 root canals of asymptomatic patients with clinical and radiographic diagnosis of septic necrosis dental pulp with ages between 18 to 60 years which have initiated their treatment in the Division of Stomatology of the Central Military Hospital - Endodontic Department. The samples were transported and cultivated under anaerobiosis and then were subcultivated for obtaining pure cultures that were appropriate for the bacterial identification. We used the anaerobe system API 20A for identification of bacteria. The results showed that frequently isolated bacterial were: *Actinomyces Fusobacterium*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Veillonella* and *Lactobacillus*, and the more frequent bacterial species were: *Fusobacterium nucleatum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Veillonella parvula*. We concluded that the predominant infections in the root canals are mixed type, existing an high percentage of strict anaerobic microorganisms involved in the pulpar and periapical pathology.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **De Lorenzo L.** Microbiología para estudiantes de Odontología. Edit.. Ateneo, Sao paulo, Brasil. 2004
2. **Liébana Ureña.** Microbiología oral. 2da. ed. Edit Mc Graw Hill Interamericana . Mexico. 1997
3. **Pinheiro ET.,** Gomes BP., Ferraz CC. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with Endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral microbiology and immunology. 2003. 18:100-103.
4. **Lana M. A,** Ribeiro Sobrinho A. P., Stehling R., García G. D., Silva B. K. c., Hamdan J. S., Nicolli J. R., Carvalho M. A. R. and Farias L. D. M. Microorganisms isolated ITom root canals presenting necrotic pulp and their drugs susceptibility in vitro. Oral Microbiology Inmunology . 2001, 16: 100-105.
5. **Gomes B. P. F. A,** Pinheiro E. T., Gade-Neto C. R., Sousa E. L. R., FelTas C. C. R., Zaia A. A., Teixeira F. B. and Souza Filho F. 1. Microbiological examination of infected dental root canals. Oral Microbiology Inmunology. 2004,19: 71-76.
6. **Jacinto, R. C,** Gomes B. P. F. A., Ferras C. C. R., Zaia A. A. and Souza Filho F. J. Microbiological analysis of infected root canal syntomatic and asyntomatic teeth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of Selle isolated anaerobic bacteria. Oral Microbiology Inmunology . 2003, 18: 285-292.
7. **Dahlén G. ;** W. Samuelsson; A. Molander: Identification and antimicrobial

- susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiology Immunology* . 2000. 309-312.
8. **Cheung G.S.P.**; M.W.M. Ho. Microbial flora of root canal treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Oral Microbiology Immunology* . 2001. 332-337.
  9. **Gomes B.P.**, Drucker D.B. Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Inter. Endodontic Journal* . 27:6.. 1994
  10. **Lana M.A**; Ribeiro- Sobrihno A.P. Microorganisms isolated from root canals presenting pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral microbiology*. 2001. 16:100-105.
  11. **Khemaleelakul S.**; Baumgartner C. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility. *Oral surgery, Oral Med, Oral Patho*. 2002. 94: 6.
  12. **Pinheiro. E.T** ; Gomes B.P. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral microbiology and Immunology*. 2003. 18 : 100-103
  13. **Dahlen Gunhar.**, Samuelsson W., Molander A. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral microbiology and Immunology*. 2000. 15:309-312
  14. **Kuriyama T.** ; Kara sawa T. Bacteriologic features features and antimicrobial susceptibility in isolates from orofacial odontogenic oinfections. *Oral Med, Oral Patho. Oral Surg*. 2000. 90: 5.
  15. **Henry M.**; Reader. A . Effect of Penicillin of postoperative endodontic pain and swelling in symptomatic necrotic teeth. *Journal of Endodontic*. 2001.

27: 2.

16. **Bogen G.**, Slots J. Black-pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int. Endodontic Journal*. 32(3): 204-210 .1999
17. **Longman L.P.** ;Preston A. J. Endodontics in the adult patient: the role of antibiotics. *Journal of dentistry*. 2000. 28: 539-548.
18. **Cohen, Stephen**. Vías de la pulpa. Edic. Harcourt España. 1999.
19. **Adriaens P.**; Boever J.A., Loeche W.J. Bacterial Invasion in root cementum and radicular dentin of periodontal diseases teeth in humans. *Journal Of periodontology* 1988. 59:222.
20. **Sato T**, Hoshino E, Noda T: Predominant obligate anaerobes in necrotics pulps of humans deciduous teeth. *Microb. Ecol Health Dis*. 1993. 6:269.
21. **Laboratorios Biomerieux<sup>®</sup> S.A.** GENbox anaer. Sistema de generadores de atmósfera. REF 96 124. Francia.
22. **Vigil G.**, Wayman B. Identification and antibiotic sensitivity of bacteria isolated from periapical lesions. *Journal of endodontics*. 1997. 23: 2.
23. **Noda M.** ; Komatsu H. Antibiotic susceptibility of bacteria detected from the root canal exudate of persistent apical periodontitis. *Journal of endodontics*.1997. 26:4: 221-224.
24. **Abou-Rass M.**, Bogen G. Microorganisms in closed periapicals lesions. *International Endodontic Journal*. 1998. 31:1: 39-47.
25. **Jawetz**, Melnick y Adelberg. *Microbiología Médica*. 16ava ed. Edit. Manual Moderno. México. 1999.
26. **Murray, P.**, Rosenthal, K., Kobayashi, G.: *Microbiología Médica*. 4ta. ed. Elsevier Science. México. 2002.

27. **Moromi Nakata**, Hilda. Guía de práctica de Microbiología General y Estomatológica. Facultad de odontología UNMSM. Lima. Perú. 2004
28. **Pajari, U.**; Ahola R.: Evaluation of Gram method staining for the prognosis of root canal treatment in no vital dent pulps. Oral Med, Oral Patho. Oral surg. 1993. 76: 1.
29. **Stanier, Roger Y.** Microbiología. Segunda edición.. Editorial Reverté, S.A, Barcelona 1996.
30. **Leonardo.** Endodoncia. Tratamiento de los conductos radiculares. 2da. ed. 1994. Editorial Médica Panamericana. Brasil.
31. **Farber P.A.** Endodontic microbiology I Etiology. J. Endod. 1988,14(7): 363-371.
32. **Orstavik.** Essential Endodontology. Prevention and treatment of periapical periodontitis. Ed. Blackwell Science. Pag 157-178. 1998.
33. **Siqueira J.F.Jr.**; Magalhaes F.A. Pathogenicity of facultative and obligate anaerobic bacteria in monoculture and combined with either *Prevotella intermedia* or *Prevotella nigrescens* Oral microbiology and Immunology . 1998. 13(6): 100-103.
34. **Arroyo Micalay, L.** Determinación de las bacterias más frecuentes en abscesos dento alveolares agudos. Tesis para optar el grado de Cirujano-Dentista. UNMSM, Lima- Perú. 2000
35. **Himedia Laboratories Pvt. Limited.** Himedia Hemin RM 237. India.
36. **Abramovich** Abraham Histología y embriología dentaria. Editorial Mundi SAIC, Argentina. 1984.
37. **Davis** Walter L. Histología y Embriología Bucal. Editorial Interamericana Mc

- Graw Hill. México. 1988.
38. **Gomes B.P.**, Drucker D.B., Lilley J.D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int. Endod. J.* 27(6):291-298, 1994.
  39. **Dalby Morla Paola**. Sensibilidad antibiótica de bacterias más frecuentes en abscesos dentoalveolares agudos. Tesis para optar el título de Cirujano-Dentista. UNMSM 2000
  40. **Drucker D.B, and Gomes, B.P.F.A**. Role of anaerobic species in endodontic infection. *Clinical infectious Diseases.* 1997 25(2):5220-5221.
  41. **Negróni, Marta**. Microbiología Estomatológica. Edit. Panamericana 1999.
  42. **Zavitoski, J, Dzink J, Bartlett J**. Quantitative bacteriology of endodontic infections. *Oral Surg Oral path.* 1980, 49(2): 171-174.
  43. **Rocha** Estudio microbiológico de lesiones periapicales. *Revista odontológica de la USP* 1998, 12(3): 215-223. Sao Paulo – Brasil.
  44. **Gonzales, R**. Estudio comparativo in vitro de cuatro soluciones irrigantes de conductos radiculares frente al *Fusobacterium nucleatum* .Tesis para optar el Título de Cirujano-Dentista UIGV .Perú. 2002
  45. **Ingle**. Endodoncia. Editorial Mc Graw Hill. 1996.
  46. **Sundqvist, G**. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microb. And immun.* 1992, 7:257-262.
  47. **Grenier, D** and Mayrand D. Nutritional relationship between oral bacteria". *J. Infection and immunity.* 1986 ,53(3): 616-620.
  48. **Sundqvist, G**. Ecology of the root canal flora. *Journal of Endod.* 1992. 18(9): 427-430.
  49. **Chávez de Paz, Luis**. Identificación del *Fusobacterium nucleatum* en

- agudizaciones periapicales durante la terapia de conductos. Tesis para optar el grado de Cirujano-Dentista. UNMSM, Lima-Perú. 1998
50. **Nolte, W.** Microbiología odontológica. Editorial. Interamericana, 1986.
  51. **Siqueira J.F.Jr.:** Tratamento das infeccoes endodonticas. Editorial. brasileira MEDSI, 1997. Brasil.
  52. **Kawashima N.** Kinetics of macrophages and lymphoid cells during the development of experimentally induced periapical lesions in rat molars. J. Endod. 1996. 22(6):311-316.
  53. **Gill Y, Sculli C.** Orofacial odontogenic infections: review of microbiologic and current treatment . Oral Surg. Oral pathol. Oral Medic. 1990 .Vol 70, N° 2 155-158.
  54. **Nisengard R.J,** Goodman A.D. Infeccoes periapicais. In: Nisengard RN,Newman MG. Microbiologia Oral e Inmunologia 2da ed. Guanabara Koogan, Rio de janeiro pp 336-341, 1997.
  55. **Selzer,S.,** Farber, P. Microbiologic factors in endodontology. Oral Surg. Oral pathol. 1994, 78(5):634-645.
  56. **Haapasalo M.** Black -pigmented gramnegative anaerobes in endodontic infections. Immunol. Med. Microbiol. 1993 Mar 6 (2-3):213-217.
  57. **Krishnan V, Jonson J and Helfrick J.** Management of maxillofacial infections : A review of 50 cases. J. Oral maxillofacial Surgery . 1993. 51: 868- 873.
  58. **Walton R,** Torabinejad M. Endodoncia. Principios y Práctica 2da. ed. Edit. Mc Graw Hill 1996. México.
  59. **Brook I, Frazier E.H, Gher Jr.** Microbiology of periapical abcesses and



associated maxillary sinusitis. J. Periodontol. 1996, 67:608-610.

60. **Hapassalo**, Marcus: Black pigmented bacteroides spp. In Human apical periodontitis. J. Infection and immunity 1986, 53(1) 149-153,
61. **Fleser R.** Odontogenic infections and antimicrobials' the Academy of dental therapeutics and Estomatology. 1998.
62. **Peters LB**, Wesselink Pr, Van Wilkelhoff AJ. Combinations of bacterial species in endodontic infections. Int. Endodon. Journal 2002 , 35:698-702.
63. **Winkelhoff**, Arie. Porphyromonas endodontalis: its role in endodontal infections. J. Endod. 1992, 18(9): 431-434.
64. **Siqueira J.F. Jr**, Rocas I.N., Moraes S.R., Santos K.R. Direct amplification of rRNA genes sequences for identification of selected pathogens in root canal infections. Int. Endod. Journal 2002. 35:3345-351.
65. **Peterson, L.** Contemporary management of deep infection of the neck J. oral maxillofacial surgery 1993, Vol. 51, p 226-231.
66. **Moening J, Nelson Ch.** The microbiology and chemotherapy of odontogenic infections' . J. Oral maxillofacial Surg.1989. 47:974-985.
67. **Lasala** . Endodoncia. 4ta ed. Edit. Salvat. 1993.
68. **Siquiera J. Jr.**, Young J., Rocas I. Differences in prevalence of selected bacterial species in primary endodontic infections from two distinct geographic locations. Oral Surg. Oral pathol. Oral med. 99(5). 2005. 641-647.
69. **Dahlen G.**, Bergenholtz G. Endotoxic in teeth necrotics pulps. Dent.Res.1980.59(6).

70. **Sundqvist G.** Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol. Immunol.* 7(5):257-262. 1992.
71. **Chu Fc., Tsang Cs.** Identification of cultivable microorganism from primary endodontic infections with exposed and unexposed pulp space. *Int. Endodontic* . 31(6) 424-429. 2005.
- 72 . **Jacinto Rc., Gomes Bp.** Quantification of endotoxins in necrotic root canal from symptomatic and asymptomatic teeth. *Journal. Med. Microbiol.* 54: 777-783. 2005.
- 73 . **Jeansonne White.** Comparision of 2.0 % chlorhexidine and sodium hipoclorite as antimicrobial endodontic irrigant. *Journal of Endodontic.* 1994. 20 (6): 276-278.
74. **Engelkirk PG;** Dowell VR:Principles and practices of clinical anaerobic bacteriology. Belmont :Star publishing Company, 1992.
75. **Summanen P.** ;Baron EJ.; Citron DM;Strong CA; Wexler HM:Wadswotr anaerobic bacteriology manual. Los Angeles : Star Publishing Company 1993: 230 pag.
76. **Kakehashi S;** Stanley HR; Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg.* 1965, 20: 340.
77. **Gomes B.P, Lilley JD:** Clinical significance of dental root canal microflora. *Restorative Dentistry, University dental Hospital of Manchester, UK*
78. **Baumgartner JC.,** Watkins BJ. Associations of black-pigmented bacteria with endodontic infections. *Journal endodontic Jun 25(6):413-415.* 1999

79. **Laboratorios Biomerieux R S.A. API 20 A** Sistema de identificación de bacterias anaerobias. REF 20 300. Francia
80. **Laboratorios Merck.** Anaerocult C mini. Sistema Generador de Anaerobiosis. Merck KGaA 1.13682. Alemania.
81. **Geibel M.A;** Schu .B; Polymerase chain reaction based simultaneous detection of selected bacterial species associated with closed periapical lesions. Eur J. Med Res Aug 17, 10(8): 333-338
82. **Walker C.B;** Karpinia K.; Baehni P. : Chemotherapeutics: Antibiotics and other antimicrobials. Peiodontology 2000. 2004, 36:146-165.
83. **Mondragon E.** Jaime. Endodoncia. Edit. Mc Graw Hill.1995. México.
84. **Himedia Laboratories Pvt. Limited.** Himedia M 074, Agar Brucella Base, India.