

VIII

CONGRESO
NACIONAL DE
TECNOLOGÍA
APLICADA A
CIENCIAS DE
LA SALUD15-17
JUNIO, 2017"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS
DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León

INTERACCION BACTERIANA EN LOS TERCIOS RADICULARES EN INFECCIONES ENDODONTICAS

Omar Pérez Reséndiz^a, Ana María González Amaro^a, Claudia Butrón Téllez Girón^a,
Selene Velázquez Moreno^a, Daniel Pacheco Carmona^b

^a Facultad de Estomatología, UASLP, San Luis Potosí, S.L.P., México, cazador_ram@hotmail.com,
poly97bu@hotmail.com, selene.vel.mor@gmail.com, ana.amaro@uaslp.mx.

^b Instituto de Metalurgia, UASLP, San Luis Potosí, S.L.P., México, pachecoldc@gmail.com.

RESUMEN

Las bacterias y sus productos del metabolismo provocan la desmineralización progresiva de los tejidos dentales hasta provocar la contaminación de la pulpa, resultando en necrosis pulpar, fenómeno denominado infección pulpar primaria, para detener este procesos es necesario el tratamiento de conductos que consiste en eliminar el contenido de los conductos radiculares para ser obturados, en caso de una reinfección del conducto se denomina infección pulpar secundaria. Se obtuvieron raíces dentales que fueron cortadas por tercios y colocadas en medio de cultivo líquido, cultivaron y sembraron en medio de cultivo sólido, se observaron macroscópicamente y microscópicamente para conseguir colonias puras y poder identificarlas con pruebas fenotípicas metabólicas. Los tercios radiculares fueron preparados para ser observados al microscopio electrónico de barrido. Se identificaron 9 bacterias distribuidas dentro de los conductos radiculares siendo el más predominante el *enterococcus faecalis*. El sistema de conductos provee condiciones para que cualquier microorganismo se pueda adherir y sobrevivir, este conocimiento es importante para comprender el proceso de la enfermedad y establecer estrategias terapéuticas antimicrobianas eficaces.

INTRODUCCIÓN

Los biofilms son comunidades polimicrobianas sésiles compuestas en un 10-15% de bacterias firmemente unidas a una superficie y enredadas en una matriz de polímeros extracelulares oscilando entre un 85-90%.¹ La secreción de los polímeros extracelulares (PSE) varía en cantidad, forma, grosor aumentando con el tiempo, cambiando espacial y temporalmente con la edad, además puede diferir entre pacientes.^{1 2} Se han encontrado más de 700 especies en cavidad oral y de estas solo 150 dentro de los conductos radiculares, en promedio se han aislado en medios de cultivo de 3 a 5 bacterias por conducto. La proliferación bacteriana y sus productos metabólicos producen la desmineralización progresiva de los tejidos dentales denominada caries, principal enfermedad que provoca la contaminación de la pulpa dental, esta primera exposición conocida como infección endodóntica primaria.³

La microbiota dentro del conducto radicular es tan diversa en el tercio apical como en el coronal¹ y por medio de un aparente equilibrio entre la infección y defensa del huésped no migran al periodonto, pero al romperse, la infección se propaga al tejido periapical.^{1 2} Para evitar que la infección del periodonto continúe es necesario realizar el tratamiento de conductos, que tiene como objetivos la eliminación completa del contenido del sistema de conductos por medio de instrumentos e irrigantes para ser sellados tridimensionalmente con un material inerte y prevenir la reinfección, en caso de no cumplirse con estos principios el tratamiento puede fracasar llevando a un infección endodóntica secundaria.^{2 3}

VIII

CONGRESO
NACIONAL DE
TECNOLOGÍA
APLICADA A
CIENCIAS DE
LA SALUD

15-17
JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS
DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



2. OBJETIVO

Identificar las bacterias presentes dentro del conducto radicular en su tercio apical, medio y cervical en infecciones endodónticas primarias y secundarias para su observadas con el Microscopio Electrónico de Barrido

3. MATERIAL Y METODOS

EQUIPO. Cámara de anaerobiosis, campana de flujo laminar, vortex, microscopio óptico, microscopio estereoscópico, secador a punto crítico, Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

MATERIAL. Placas de agar CDC anaeróbico 5% infusión de sangre de carnero, portaobjetos, asa de platino, pipetas, tubos, vasos de precipitado, mechero.

REACTIVOS. Tioglicolato, agua destilada, alcohol, safranina, violeta de genciana, yodo lugol, alcohol acetona, azul de alciano 1%, glutaraldehído 2%, PBS 1 molar, aceite mineral, acetona, dióxido de carbono, oro.

MATERIAL BIOLÓGICO. Raíces dentales

Este proyecto dividió en dos fases: clínica y laboratorio.

Fase clínica

Las muestras se obtuvieron en el Departamento de Cirugía Oral y Maxilofacial de la Facultad de Estomatología de la U.A.S.L.P., fue facilitada la historia clínica del paciente previamente elaborada con las radiografías pertinentes para la realización del diagnóstico, posteriormente se ejecutó la exodoncia, estos fueron descoronados y la raíz cortada en tercios con un disco de diamante de baja velocidad (sunburst Micro-motor modelo SC-80 Chung Song IND Co.) 35,000 RPM, cada uno introducido en un medio de cultivo líquido (tioglicolato enriquecido).

Fase de Laboratorio

Las muestras se trasladaron al Laboratorio de la Maestría de Endodoncia de la Facultad de Estomatología de la U.A.S.L.P., donde se colocaron en la cámara de anaerobiosis (COY LABORATORY PRODUCTS) y se incubaron por 48 horas, posteriormente se realizó descargas por duplicado en placas de Agar CDC y se llevaron a la incubadora (Mini Incubator, Labnet) a una temperatura de 35°C +/- 2° C en un periodo de incubación de 48 horas, consecutivamente se observó y describieron las características macroscópicas, y se realizó tinción de Gram para su observación microscópica, ya diferenciadas las colonias se procedió a ser un cultivo puro para identificarlas por medio de pruebas fenotípicas metabólicas API 20A (Analytical Profile Index; Biomeriëux, France) y el API 20 STREP (Analytical profile index: Biomeriëux, France).

Para la observación al MEB, las raíces se fijaron azul de alciano, glutaraldehído y PBS refrigerándose durante 24 horas, en forma creciente fueron deshidratadas las muestras en alcohol etílico pasando por el 20%, 40%, 60%, 80%, 90%, 95% y 99.9%, permaneciendo un lapso de 10 minutos en cada alcohol para después ser colocarlos en acetona, secando aún más los tercios radiculares, posteriormente las muestras fueron llevadas al secado a punto crítico realizando una serie de 7 lavados de dióxido de carbono para el intercambio con la acetona, el dióxido de carbono al ser introducido dentro de las bacterias y pasar de líquido a gaseoso mantiene la estructura de las bacterias intacta.

Posteriormente, los tercios radiculares preparados se trasladaron al Instituto de Metalurgia de la U.A.S.L.P., donde se les colocó una cubierta de oro a las muestras, siendo una capa de 20 µm aproximadamente para observar al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

VIII

CONGRESO
NACIONAL DE
TECNOLOGÍA
APLICADA A
CIENCIAS DE
LA SALUD15-17
JUNIO, 2017"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS
DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León

4. RESULTADOS

Se identificaron 9 tipos de microorganismos distribuidos en los diferentes tercios radiculares en ambas infecciones. Los cuales se presentan en las siguientes tablas, tabla 1 los de infección primaria y en la tabla 2 las bacterias de infección secundaria.

A la vez se muestran los resultados obtenidos por microscopia electrónica de barrido donde se observa el biofilm del tercio apical (figura 1) y cervical (figura 2-3) de la infección secundaria, además el tercio cervical de la infección primaria (figura 6-7)

Infección primaria

Tercio apical	Tercio medio	Tercio cervical
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Aerococcus viridans 1</i>	<i>Aerococcus viridans 1</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Gamella haemolysans</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>

Tabla 1. Se presentan las bacterias identificadas en los tercios radiculares de la infección primaria, encontrando el *Enterococcus faecalis* con más frecuencia en los tercios.

Infección secundaria

Tercio apical	Tercio medio	Tercio cervical
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Aerococcus viridans 1</i>	<i>Aerococcus viridans 1</i>	<i>Aerococcus viridans 1</i>
<i>Leuconostoc spp</i>	<i>Veillonella párvula</i>	
<i>Lactococcus lactis spp</i>		
<i>Clostridium botulinium</i>		

Tabla 2. Observamos las bacterias identificadas en los tercios radiculares de la infección secundaria, con la mayor variedad presentada en el tercio apical.

VIII

CONGRESO NACIONAL DE
TECNOLOGÍA
APLICADA A
CIENCIAS DE
LA SALUD

15-17
JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS
DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



5. CONCLUSIONES

El sistema de conductos provee condiciones para que cualquier microorganismo se pueda adherir y sobrevivir ya sea un microorganismo normal de la cavidad oral o un patógeno oportunista, para esto es importante estudiar la microbiota como conjunto y no por separado, debido a que los colonizadores primarios condicionan el medio para otras especies más exigentes (colonizadores secundarios) o que metabolizan los productos finales de los colonizadores primarios para establecerse y multiplicarse. Se identificaron bacterias similares en ambas infecciones, sin embargo, se encontraron otras bacterias que tuvieron el medio propicio para desarrollarse y que no residen normalmente en boca, lo cual depende del sitio donde reside el hospedero, la vida que este obtenga y su susceptibilidad.

Para obtener un tratamiento endodóntico exitoso es importante la identificación de bacterias específicas dentro del sistema de conductos, donde ciertos grupos bacterianos se han relacionado a casos con sintomatología aguda y desarrollada complicaciones.

Es importante comprender el proceso de la enfermedad, por eso al conocer la ubicación y organización microbiana dentro de los conductos radiculares se pueden establecer estrategias terapéuticas antimicrobianas eficaces.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. F. Siqueira JR., I. N. Rôças, Present status and future directions in endodontic microbiology, *Endodontic topics.*, Vol 30, 2014, pp. 3–22.
2. LI-WAN LEE, YA-LING LEE, SHENG-HUANG HSIAO, HUNG-PIN LIN, Bacteria in the apical root canals of teeth with apical periodontitis, *Journal of the Formosan Medical Association*, Vol 116, 6, 2016, pp. 448–456.
3. C. Rodríguez-Niklitschek, G. H. Oporto, Clinical implications of *Enterococcus faecalis* microbial contamination in root canals of devitalized teeth: Literature review, *Revista Odontológica Mexicana.*, Vol 19, 3, 2015, pp.177–182.
4. Gomes BPF, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa ELR, Ferraz CCR, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ, microbiological examination of infected dental root canals, *Oral Microbiology Immunology.*, Vol 19, 2004, pp. 71-76.
5. N. Velasco Loera, Y. De Alba Vazquez, A. Garrocho Rangel, A. M. González Amaro, H. Flores Reyes, A. J. Pozos Guillen, comparison of the antibacterial effect of modified 3-mix paste versus ultra pex over anaerobic microorganisms from infected root canals of primary teeth: an in vitro study, *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry.*, Vol 36, 3, 2012, pp. 239-244.
6. V. Galhotra, S. Dey, H. Priyank, T. Paranjape, N. Sharma, I. Singh, prevalence of microorganisms in root canals of human permanent teeth with symptomatic non vital pulp and chronic periapical lesions: a microbiological study, *Journal of International Oral Health.*, Vol 7, 11, 2011, pp. 71-74.