



Universidad
Nacional
de Córdoba



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

**“EVALUACIÓN COMPARATIVA “IN VIVO” DE TRES
TÉCNICAS DE APEXIFICACIÓN”**

TESISTA:

OD. GLADYS IRENE EVJANIAN

DIRECTOR:

PROF. DRA. CARMEN R. VISVISIÁN

CÓRDOBA, 2007



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-
NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



**UNIVERSIDAD NACIONAL
DE CORDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA**



“Evaluación comparativa “*in vivo*” de tres técnicas de Apexificación”

**“Trabajo de Tesis para optar al Título de
Doctor en Odontología”**

Od. Evjanian Gladys Irene

2007

Directora: Prof. Dra. Visvisián Carmen R.

Comisión de Tesis:

Prof. Dr. Gani Omar A.

Prof. Dra. Menis de Mutal Liliana

Prof. Dr. Pessah Oscar

El verdadero viaje de descubrimiento no consiste en buscar nuevas tierras sino en tener ojos nuevos.

Marcel Proust

DEDICATORIAS

A mi madre, a la memoria de mi padre, quienes con su ejemplo, me enseñaron a caminar por la vida con honestidad, sinceridad y perseverancia.

A mi esposo Enrique quien con su Amor, comprensión y estímulo fue mi sustento para concretar este anhelo.

A mis hijas Valentina y Melisa que son la razón de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Odontología de la U.N.C. por la formación que me brindó y; además, por ofrecerme el apoyo y los medios para llevar adelante este proyecto.

Al Sr Decano de la Facultad de Odontología de la U.N.C., Prof. Dr. Nazario Kuyumllian, por su permanente motivación e incondicional apoyo. Mi más sincero agradecimiento.

A mi Directora de Tesis, Prof. Dra. Carmen Visvisian, quien me enseñó a dar con paciencia, humildad y docencia, los primeros pasos en la investigación y supo guiarme con sus consejos y sugerencias en el desarrollo de este proyecto. Mi máxima gratitud.

A los miembros de la Comisión de Tesis: Prof. Dr. Omar Gani, Prof. Dra Liliana N. de Mutal, Prof. Dr. Oscar Pessah, por las valiosas sugerencias, aportes y verdadero acompañamiento a lo largo de estos años.

A la Dra Lidia Wolff, por su profesionalismo, dedicación en la realización de las muestras bacteriológicas y por guiarme en el campo de la microbiología.

A la Dra Mabel Brunotto, quien con su experiencia, conocimientos y consejos, colaboró con el procesamiento estadístico.

A la Sra. Tamara Cortés y al personal de la Biblioteca de la Facultad de Odontología de la U.N.C. por su disponibilidad e impecable labor en la búsqueda bibliográfica.

A la Prof. Dra Luisa T. de Borgarello y a la Prof. Dra. Perla K. de Hidalgo, quienes en mis inicios como docente, confiaron en mí, me ayudaron, apoyaron y enseñaron. Muchas gracias.

A mis compañeras de la Cátedra de Odontopediatría "A" por su comprensión.

A mi flia., colegas y amigos por su apoyo y sincera amistad.

Un agradecimiento especial a:

Prof. Dra. Alfonsina L de Ferrer.

Dra. Juana R. Bozzatello.

Dr. Eduardo P. Piazza.

Dra. Catalina Francia.

Od. Patricia Damiani

Pos su amistad, apoyo y desinteresada colaboración.

A Pentamedia, quienes me ayudaron en la compaginación final de este trabajo.

Finalmente a todos aquellos que de una u otra manera hicieron posible esta Tesis.

CERTIFICACIONES



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Córdoba, 27 de Abril de 2000

Por la presente certifico la factibilidad de que la Od. Gladys Irene Evjanian desarrolle en el Laboratorio del Area de Biología Oral (ABO) la parte experimental de su trabajo de Tesis dirigido por la Dra. Carmen Visvisian.

Una firma manuscrita en tinta que parece decir "Susana Cornejo".

Dra. Susana Cornejo
Directora del Laboratorio del
Area de Biología Oral



Universidad Nacional de Córdoba
Facultad de Ciencias Médicas
CÁTEDRA DE CLÍNICA INFECTOLÓGICA I – HOSPITAL RAWSON



La Sra. Odontóloga Gladys Eujanián, M.P. 2663, está llevando a cabo su tesis de Doctorado denominada: Evaluación comparativa "in vivo" de tres técnicas de Apexificación cuyos estudios bacteriológicos lleva a cabo la Sra. Médica Lidia Wolff, especialista en Microbiología Médica, docente de la Primera Cátedra de Clínica Infectológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

En mi carácter de Profesor Titular Plenario de la Cátedra mencionada, autorizo a las profesionales a desarrollar las actividades que consideren adecuadas para la concreción de su trabajo.

A pedido de la interesada, se extiende el presente a los veintisiete días del mes de marzo de dos mil dos.




PROF. DR. ERNESTO JAKUL
PROFESOR TITULAR
1ª CATEDRA DE INFECTOLOGÍA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Córdoba, 26 de abril de 2001

Por la presente autorizo a la Od. Evjanian Gladys Irene a utilizar las instalaciones de la Cátedra de Endodoncia "A" para realizar su Trabajo de Tesis: "Evaluación comparativa in vivo de dos técnicas de apexificación."

Saludo a Uds. Muy atte.

Dr. Ruben Ulfohn
Prof. Titular
Cátedra "A" de Endodoncia

INDICE





Indice

• Resumen	1
• Summary	3
• Introducción	5
• Reseña Bibliográfica	11
Microbiología	12
Antisépticos	27
Hidróxido de Calcio	43
• Objetivos	52
• Materiales y Métodos	53
• Resultados	81
• Discusión	109
• Conclusiones	124
• Referencias Bibliográficas	127

RESUMEN





RESUMEN: Para realizar este estudio eminentemente clínico, se seleccionaron 21 dientes pertenecientes a pacientes niños y adolescentes que presentaban cuadros clínicos identificados como “necrosis pulpar en diente permanente con ápice inmaduro”. Se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos (A, B y C) de siete dientes cada uno, para experimentar tres técnicas de apicoformación que sólo se diferenciaban entre sí en el tipo de antisepsia tópica empleada en el tratamiento. En cada grupo se evaluó el efecto de cada uno de los siguientes antisépticos: hipoclorito de sodio (NaClO), yodo yoduro de potasio (IPI) y paramonoclorofenol alcanforado (PMCFA) como neutralizadores de la flora microbiana. Para ello, inmediatamente de realizar el acceso cameral, se efectuó un estudio bacteriológico, para lo cual se inundó la cavidad pulpar con agua destilada estéril y se obtuvieron muestras con conos de papel estériles, los que fueron transferidos a un medio de transporte para ser procesados mediante una adecuada tecnología. La instrumentación de los conductos se inició con limas Hedstrom, preparando primero los 2/3 coronarios del conducto. Luego de obtener la medida de trabajo, se completó la preparación apical con limas lisas tipo K. En el Grupo A se irrigó con NaClO al 2,5% y se completó la desinfección con una medicación tópica con la misma sustancia al 5%. En el Grupo B la irrigación y la antisepsia se hicieron con IPI y en el Grupo C se irrigó con NaClO al 2,5% y la desinfección se realizó con PMCFA. En una segunda sesión, efectuada ocho días después, se repitió la prueba bacteriológica para evaluar la efectividad del agente utilizado. En esta sesión los conductos se obturaron con pasta a base de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) vehiculizado con polietilenglicol. Los controles bacteriológicos efectuados al inicio y al finalizar el tratamiento demostraron un predominio de bacterias anaerobias. Se comprobó también que tanto el IPI (Grupo B) como NaClO (Grupo A) fueron los más efectivos, puesto que entre ambos controles, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$), tanto sobre microorganismos aerobios como anaerobios, mientras PMCFA (Grupo C) sólo lo fue para bacterias aerobias y muy irregular sobre las anaerobias, con diferencias no significativas. Los controles clínicos-radiográficos bimestrales permitieron evaluar la evolución del proceso y establecer la necesidad de recambio de la obturación, la formación de barrera apical y el momento oportuno para efectuar la obturación definitiva. La obturación temporaria con pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -en el Grupo B con yodoformo- por su efecto antiséptico lento y gradual, contribuiría al proceso de reparación ya que favorecería las condiciones del medio. Por otra parte, se observó una relación directa entre reducción de microorganismos y tiempo de formación de la barrera apical, requiriendo una media de 7 meses para el Grupo B, de 9 meses para el Grupo A y de 15 meses para el Grupo C. Se concluye que en el tratamiento de dientes inmaduros con diagnóstico de necrosis pulpar es imprescindible el uso de un agente antiséptico para reducir el número de microorganismos. El IPI y el NaClO fueron efectivos tanto para gérmenes aerobios como anaerobios, no así el PMCFA. No obstante, y pese a las diferencias en sus efectos, todos permitieron la recuperación de las lesiones periapicales y la formación de la barrera apical.

SUMMARY





Summary:

To carry out this clinical study, 21 teeth belonging to adolescent and children were selected, all of which presented medical profiles identified as ‘pulp necrosis in permanent tooth with immature apex’.

They were randomly distributed in three groups (A, B and C) with 7 teeth each, in order to experiment three apicoformation techniques, the only difference among them being the type of topic antiseptics used in the treatment.

In each group the effect of each one of these antiseptics was respectively evaluated: sodium hypochlorite (NaClO), potassium iodine iodide (IPI) and camphoric paramonoclorophenol (PMCFAs) as neutralizer of the microbial flora.

To do that, immediately after chamber access, a bacteriological research was carried out; for that purpose the pulp cavity was filled with sterile distilled water obtaining samples with sterile paper cones which were transferred to a transport environment to be processed by adequate technology.

The instrumentation of the canals started with Hedstrom files, previously preparing the 2/3 coronal portions of the canal. After having obtained the measurements, the apical preparation was completed with even files type K. In Group A irrigation was made with NaClO (concentration of 2.5%) and disinfection was completed with a topic medication with the same substance (concentration of 5%).

In Group B irrigation and antiseptics were done with IPI and in Group C irrigation was done with NaClO (concentration of 2.5%) and disinfection with PMCFAs. In a second session, 8 days later, the bacteriological test was repeated in order to evaluate the effectiveness of the agent used. In this session the canals were sealed with a paste using calcium hydroxide (Ca (OH)₂) transported by polietilenglicol. Bacteriological controls made at the beginning and at the end of the treatment showed predominance of anaerobic bacteria. Besides, it was also confirmed that IPI (Group B) as well as NaClO (Group A) were the most effective, since, between both controls, the differences were statistically significant ($p < 0.05$), both on aerobic and anaerobic microorganisms, whereas PMCFAs (Group C) was effective only on aerobic bacteria and very irregular on anaerobic ones, with no significant differences.

Bimonthly clinical and radiographic controls made it possible to evaluate the process evolution and determine the need to replace the sealing, the apical barrier formation and the suitable moment to make the final sealing. Temporary sealing with Ca (OH)₂ based paste –in Group B with iodoform- due to its slow and gradual antiseptic effect, would contribute to restoration process, since it would favour environment conditions. Furthermore, a direct correlation was observed between microorganisms reduction and apical barrier time formation, requiring an average of 7 months for Group A, 9 months for Group B and 15 months for Group C.

The conclusion is that in the treatment of immature teeth with pulp necrosis diagnosis the use of an antiseptic agent is essential in order to reduce the number of microorganisms. IPI and NaClO were effective both for aerobic and anaerobic organisms, whereas the PMCFAs was not. However, and in spite of the different effects, they all permitted periapical damage recovery and apical barrier formation.

INTRODUCCIÓN





INTRODUCCIÓN

Los dientes permanentes jóvenes son aquellos que aun no han completado la formación de sus raíces. Presentan conductos amplios e incompletamente desarrollados, paredes dentinales muy delgadas, divergentes, frágiles y en forma de arcabuz.

La porción apical de estas piezas dentarias representa una zona crítica cuando por distintas circunstancias su vitalidad se ve afectada.

Son numerosas las causas que pueden alterar la salud pulpar, siendo las más frecuentes los procesos cariosos y traumáticos.

Cuando la lesión es de evolución lenta como la caries, y no se implementa el tratamiento correspondiente evoluciona a una necrosis, que sin duda será séptica. Mientras que las de origen violento como los traumatismos, será aséptica, estado que se mantendrá hasta que los microorganismos invadan la pulpa mortificada, para colonizar, multiplicarse e infectar el sistema de conductos y transformarse, así en necrosis séptica.

El problema en las piezas dentarias con ápices inmaduros, radica en el hecho de que producida la muerte pulpar se detiene el desarrollo radicular lo que se acompaña generalmente con la necrosis de la vaina de Hertwig, que es la responsable de estimular y guiar la formación radicular.

Existe un gran número de bacterias que pueden encontrarse en la flora normal de la cavidad bucal, pero sólo un grupo reducido puede desarrollar en los conductos radiculares con pulpa necrosada, debido, fundamentalmente, a las características del medio.

Entre los microorganismos que predominan en conductos radiculares infectados podemos mencionar los siguientes:

Anaerobios estrictos: dentro de este grupo es de especial interés el género Bacteroides conocidos como Bacteroides pigmentados de negro (BPN): *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. (Winkler y van Amerogen 1959, Haapasolo 1989, Sundqvist y col. 1989, van Winkelhoff y col. 1992, Hashioka y col. 1992, Gomes y col. 1996, Dougherty y col. 1998, Baumgartne 1999, Goncalves y col. 1999, Berkiten y col. 2000, Machado de Oliveira 2000, Siqueira y col. 2001). Además podemos citar *Fusobacterium* spp., (Kantz y Henry 1974, Fabricius y col. 1982, Chavez de Paz 2002, Moraes y col. 2002, y otros microorganismos como *Treponema* spp., (Siquiera y col. 2000 -2001, Rupf y col. 2000, Jung y col. 2001)



Entre los anaerobios facultativos los más frecuentes son *Streptococcus* del grupo viridans, (Shay 1947, Slack 1953, Brown y Rudolph 1957, Leavitt y col. 1958, Winkler y van Amerogen 1959, Grossman 1959, Akpata y Blechman 1982), *Enterococcus* spp., (Siren y col. 1997, Molander y col. 1998, Noda y col. 2000), *Staphylococcus*, (Heithersay y Bjerken 1962, Mellville y Birch 1967, Fox e Isenberg 1967), *Lactobacillus* spp., (Crawford y Shankle 1961, Maisto 1975, Lana y col. 2001), bacilos gram positivos, bacilos coliformes, bacilos gram negativos, (Wittgow y Sabiston 1975, Fabricius y col. 1982, Ramachandran Fair 1987, Farber y Seltzer 1988, Nair y col. 1990, Abou-Rass 1998).

Ocasionalmente, pueden encontrarse según investigaciones realizadas por Wesley y col. (1970), Oppenheimer y col. (1978), Sundqvist y Reutering (1980), Bryström (1987), O’Grady y Reade (1988), Siqueira y col. (2002), Spangberg (2001), *Actinomyces* spp. especialmente en lesiones resistentes a la terapia endodóntica, pudiendo ser los responsables de los fracasos.

Dentro de los microorganismos aerobios, investigaciones microbiológicas de patología apical realizadas por Slack (1953 -1958), Mac Donald y col. (1957), Grossmam (1959), Jackson y Halder (1963), Fox e Isenberg (1967), Goldman (1969), Nair y col. (1990), Najzar-Fleger y col. (1992), Sen y col. (1995), Lana y col. (2001) han revelado que las levaduras, en especial del género *Candida*, pueden ser aisladas en conductos radiculares infectados junto con bacterias.

El diagnóstico de las patologías pulpares en dientes con ápice incompletamente desarrollados suelen tener algunas dificultades, aún cuando se cuenta con el valioso aporte de la radiografía, el que no obstante adolece de grandes limitaciones ya que, proporciona una imagen bidimensional quedando en el conocimiento e imaginación del operador la tercera dimensión.

El tratamiento en un diente inmaduro con pulpa necrótica, exige crear en el conducto un ambiente apropiado que permita la cicatrización y reparación ápico-periapical y la posterior formación de una barrera, para lo cual debemos realizar la preparación quirúrgica, complementada por la irrigación y antisepsia del conducto radicular, seguida de la colocación de un material capaz de inducir a la formación de esa barrera apical (apicoformación o apexificación).

La palabra ápico formación, según Fabra Campos (2001) está compuesta por dos elementos “ápico” que proviene del latín “*apex, icis*” cuyo significado se refiere a extremo superior o punta de una cosa y en nomenclatura anatómica se emplea para designar la parte superior de un cuerpo u órgano, “formación,”



procedente del latín “*formatio onis*”, acción de formar, formación, configuración, construir, crear, producir.

England (1991) definió la apicoformación como la inducción a la formación de una barrera calcificada apical, a través del ápice abierto, después de una necrosis pulpar.

Por su parte, Erdogan (1997) la define como un método de inducción de cierre apical a través de la formación de un tejido mineralizado en la región apical de la pulpa de un diente sin vitalidad pulpar con una raíz incompletamente formada y sin cierre apical.

De acuerdo a la A.A.E. (Asociación Argentina de Endodoncia), la apicoformación es un método que induce la formación de una barrera calcificada en un diente con ápice abierto o la continuación del desarrollo apical de una raíz incompletamente formada en dientes con pulpa necrótica (Rule y Patel 1999).

La barrera calcificada se puede apreciar radiográficamente como la formación de un tejido mineralizado de mayor o menor grosor, obliterando la zona apical.

Este tratamiento tiene como objetivo lograr la formación de un tope apical que permita, posteriormente, la obturación adecuada del conducto radicular mediante las técnicas endodónticas convencionales (Staehele y col. 1995).

La preparación quirúrgica en un diente inmaduro con pulpa necrótica, incluye el desbridamiento del conducto radicular, cuyo objetivo es eliminar de la cámara pulpar y conductos radiculares restos de tejido pulpar, residuos extraños, microorganismos y los sustratos que éstos requieren para proliferar, complementada con la irrigación la que juega un papel de gran relevancia junto con la antisepsia del conducto radicular.

El objetivo de la irrigación es favorecer la capacidad de corte de las limas endodónticas al dejar las paredes dentinarias húmedas y lubricadas, eliminar restos pulpares necróticos, detritus producidos durante la instrumentación; y además reducir, por sus propiedades bactericidas y por arrastre, el número de bacterias y toxinas (Cruz González 1995).

Para la antisepsia del conducto radicular se han recomendado diversas sustancias, tales como, compuestos fenólicos, aceites esenciales, aldehídos, halógenos, etc.

La Food and Drug Administration (FDA) ha definido a los antisépticos como aquellas sustancias que producen la muerte de microorganismos patógenos sobre las superficies vivas y que deben reunir ciertas condiciones: actuar sobre amplio



espectro de microorganismos, tener un alto poder de penetración, ser de fácil aplicación, poseer estabilidad, no ser tóxicos ni lesivos para los tejidos del huésped, y no poseer propiedades organolépticas.

Entre los antisépticos más difundidos en el tratamiento de estas patologías, se encuentran los compuestos fenólicos, de los cuales el más utilizado es el paramonoclorofenol alcanforado (PMCFa).

Los aceites esenciales como el eugenol fueron estudiados por Masillamoni y col. (1981), quienes comprobaron que su efecto antimicrobiano se da en una dilución de 1:640. Esta sustancia no se utiliza para desinfectar el conducto, pero es componente de algunos selladores endodónticos, por lo tanto su acción antiséptica se mantiene luego de realizada la obturación permanente del conducto.

Aldehídos como el formocresol, muy utilizado en la terapia endodóntica pediátrica. Es bactericida, se compone de formaldehído 19%, cresol 35% en una solución de agua y glicerina.

Si bien el formocresol ha sido ampliamente usado en dientes primarios, se lo considera extremadamente citotóxico (Simon y col. 1995). Sin embargo existe la alternativa de aplicar la droga en menor concentración en forma diluida. Las investigaciones actuales sugieren dilución de formocresol 1:5 en concentración y/o utilizar la mínima cantidad para bajar la dosis (Escobar Muñoz 2004).

Los Halógenos también han sido utilizados en las prácticas endodónticas entre los que podemos mencionar el cloro y el yodo, ambos son la base de diversos antisépticos.

El hipoclorito de sodio (NaClO) fue utilizado por primera vez en 1847 por Semmelweis, años más tarde Carrel y Dakin (1915) lo emplearon para la curación de heridas. Dado su gran poder antimicrobiano fue introducido en la práctica endodóntica como irrigante y antiséptico de los conductos radiculares.

El yodoformo, es una sustancia de acción antimicrobiana, que Maisto (1975) recomienda mezclar con el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), para que la pasta tenga un mayor efecto antiséptico y elevada radiopacidad.

También se ha recomendado el uso de yodo como yodo yoduro de potasio (IPI) (2% de yodo, 4% de potasio iodado y 94% de agua destilada). Este producto es un compuesto orgánico que contiene yodo y lo libera lentamente en el tiempo. Es un antibacteriano potente de baja toxicidad (Ando y Hocino 1990).

El medicamento de elección para favorecer la cicatrización de los tejidos periapicales y la formación de la barrera apical es, el hidróxido de calcio, ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) introducido a la terapia endodóntica por Herman en 1920, debido



fundamentalmente a sus propiedades alcalino-cáusticas, antisépticas, bactericidas-bacteriostáticas, astringentes y estimulantes de la formación de dentina reparativa.

Es necesario, entonces, no sólo lograr la desinfección del conducto radicular, sino también utilizar una adecuada obturación que favorezca la cicatrización de los tejidos periapicales, y la formación de la barrera apical, instancias éstas que sólo son evaluadas con el control radiográfico a distancia.

Atento a estos antecedentes, en este trabajo de investigación se evaluó, “*in vivo*”, mediante un método bacteriológico el efecto de tres técnicas que difieren fundamentalmente en los medios de desinfección, para neutralizar la microflora de los conductos radiculares de dientes incompletamente desarrollados, y se analizó, mediante estudios radiográficos, la respuesta reparativa de los tejidos periapicales en tratamientos de apicoformación.

RESEÑA BIBLIOGRÁFICA





RESEÑA BIBLIOGRÁFICA

Microbiología

La Microbiología es la rama de la Biología que estudia los microorganismos o microbios. Bajo esta denominación se incluyen seres de tamaño microscópico y organización muy simple, de estructura subcelular, unicelular o pluricelular (Liébana Ureña 1995).

El descubridor del mundo microbiano y constructor de los primeros pilares de la Microbiología, fue Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723), investigador holandés que debido a su afición por la construcción de microscopios y guiado por su enorme intuición, observó en aguas de ríos, infusión de heno y en sarro dental de sus propios dientes numerosos seres microscópicos que eran bacterias, hongos y protozoos (Bibel 1983).

En el año 1890 Miller, químico norteamericano, considerado padre de la microbiología oral, publica su libro “Microorganismos de la boca humana” donde expone su teoría quimioparasitaria en virtud de la cual los microorganismos acidógenos, actuando sobre los carbohidratos de la dieta acumulados en la boca, producirían ácidos que desmineralizarían los tejidos duros del diente. Esto fundamenta la base de la microbiología dental de los EE.UU. En 1891 formula la “Teoría focal” por lo que las bacterias bucales podrían a partir del foco oral, originar infecciones en otros puntos del organismo. En 1894 observa la presencia de bacterias en el interior de los conductos radiculares y determina la importancia de las mismas en la etiología de las alteraciones pulpares. Intentó además identificar y aislar estos microorganismos, encontrándose con la dificultad de obtener cultivos puros debido a la heterogenicidad de los mismos.

En 1897, Williams encontró sobre las superficies dentarias, en zona de caries incipientes, acumulaciones bacterianas adheridas al esmalte cariado y estableció que la producción de ácidos en dichas zonas eran los responsables del proceso. Un año más tarde, Black describió que estas acumulaciones bacterianas estaban constituidas por lo que hoy se conoce como estreptococo, y la denominó “placa”. Steffan en 1944 mostró que no todas las placas producían caries y que en zonas de caries activas, el pH descendía rápidamente, cosa que no ocurría en las



zonas de caries inactiva. Así quedó demostrada la importancia de los ácidos y el descenso del pH en la desmineralización del esmalte.

En la década del 40 se introduce al *Streptococcus mutans* en la producción de la caries dental, y es en la década del 50 y 60 que investigadores de relevancia como Orland y Keyes, demostraron a través de trabajos de experimentación en animales, que una dieta rica en sacarosa y carbohidratos no producía caries sin la presencia de *Streptococcus mutans* (Liébana Ureña 1995).

En el hombre la microflora que coloniza el cuerpo humano la representan: bacterias, levaduras, bacteriófagos, y protozoos que constituyen ecosistemas primarios, entendiéndose por ecosistema a una unidad de organización biológica constituida por todos los organismos de un área y el ambiente en el que viven (Curtis 2004).

Para que los microorganismos que componen estos ecosistemas primarios puedan desarrollarse, deben tomar del ambiente todas las sustancias necesarias para la obtención de energía y la síntesis de sus materiales celulares. Estas sustancias denominadas nutrientes, pueden ser esenciales o imprescindibles para su desarrollo, y no esenciales cuando no tienen este carácter (Liébana Ureña 1995).

Antonio García Mendoza (1995) refiere que dentro de los nutrientes esenciales o imprescindibles, se encuentran:

- Nutrientes básicos: son todos aquellos nutrientes capaces de ser asimilados por los microorganismos, ya sea por difusión simple, transporte activo, previa acción de enzimas extracelulares, o por endocitosis.
- Metabolitos esenciales: son los productos formados en los procesos del catabolismo energético bacteriano, siendo importantes para la síntesis de estructuras complejas de las bacterias.
- Factores de crecimiento: son los compuestos orgánicos que, sin ser una fuente de energía ni de carbono para los microorganismos, son necesarios para su crecimiento por no ser capaces de sintetizarlos.
- Sustancias estimulantes: Son sustancias que sin ser indispensables para la bacteria, pueden acelerar su multiplicación.

La distribución de los microorganismos, condicionada por la disponibilidad de nutrientes en las distintas localizaciones, por la competencia microbiana sobre los sustratos, por la capacidad de utilizarlos con eficacia y porque deben adaptar



sus necesidades a los cambios ambientales que se producen, respondiendo rápidamente a los mismos.

En la cavidad bucal, también considerada un ecosistema, encontramos múltiples y diferentes superficies que junto con el enriquecimiento del medio, por la ingesta periódica de alimentos, proporcionan el ambiente para el establecimiento de distintos tipos de microorganismos. Todos ellos forman parte de microambientes específicos, nichos ecológicos o ecosistemas primarios con distintas características físicas, químicas y nutricionales que permiten el desarrollo de unas u otras especies microbianas en equilibrio perfecto (Valle Rodríguez y col. 1995, Prieto y Guardiola 1997).

A su vez estos ecosistemas primarios de la cavidad bucal, están expuestos a numerosos factores que condicionan las características y composición microbiana de los mismos.

Si bien los microorganismos que conforman los ecosistemas normales participan en relaciones beneficiosas, se constituyen en patógenos oportunistas cuando ganan acceso a una zona normalmente estéril del cuerpo, como es la pulpa dentaria o los tejidos perirradiculares produciendo enfermedad. La invasión y multiplicación microbiana, mas diversos factores de virulencia, desarrollan una infección, dependiendo de la respuesta inmune del huésped.

Es importante destacar que cualquier bacteria de la cavidad bucal, vías respiratorias altas, senos paranasales, nasofaringe o el tubo digestivo pueden acceder a los conductos radiculares, por lo tanto muchas de estas especies, que son huéspedes normales e inofensivos de la cavidad oral, se convierten en microorganismos invasores, destructores y miembros de una comunidad bacteriana productora de toxinas y enzimas que provocan inflamación, necrosis tisular e infección (Pisano y Weine 1997).

El ambiente ecológico del conducto radicular es muy complejo y hay muchos elementos que afectan la selección de las bacterias que constituyen su microflora, como factores nutricionales; por lo tanto, una nutrición adecuada es fundamental para su desarrollo. Cada especie bacteriana posee exigencias nutricionales, en consecuencia, las bacterias que se establecen por sí mismas, son aquellas que pueden utilizar y competir mejor por los factores de crecimiento disponibles en la pulpa necrótica. Es aquí donde el tejido pulpar desintegrado aporta una fuente nutricional importante, el exudado inflamatorio que contiene elementos séricos y hemáticos, constituye otro elemento esencial en la nutrición bacteriana. Además,



los restos del tejido pulpar, los líquidos hísticos y la saliva, aportan proteínas y así favorecen el crecimiento de las bacterias que las emplean (Sundqvist 1992).

La mayoría de las infecciones bucales tienen origen en los elementos dentarios y estructuras de soporte, siendo las principales causas la caries y los traumatismos dentarios, cuya etiología es compleja y está relacionada directamente con la microbiota de la zona.

Sabemos que las defensas de la pulpa pueden claudicar ante una agresión, otras veces por la actitud pasiva del paciente o del profesional, que no permitieron realizar las medidas terapéuticas adecuadas para salvaguardar la vitalidad pulpar, o incluso, cuando los métodos conservadores hayan fracasado, la respuesta pulpar, culminará con su muerte, convirtiéndose en un reservorio de microorganismos, productos microbianos y de degradación tanto de los microorganismos como del tejido pulpar (Naidorf 1972).

La verdadera importancia que tienen las bacterias en la pulpa enferma se demostró en el clásico estudio realizado por Kakeashi y col. (1965), quienes utilizaron ratas libres de gérmenes, demostrando que el tejido pulpar expuesto, evoluciona hacia la necrosis en presencia de bacterias, pasando por una inflamación crónica y eventualmente, a una lesión periapical crónica. Por otra parte, en un medio libre de gérmenes, la respuesta del tejido pulpar expuesto se caracterizó por mínima inflamación y formación de puentes dentinarios.

Con respecto a la microbiota de los conductos radiculares, ésta puede cambiar en circunstancias especiales, como son, la comunicación con el medio bucal o cuando no existe relación alguna entre la cavidad pulpar y el medio externo. En el primer caso, la contaminación con el medio salival modifica la microbiota por invasión de gérmenes habituales de la cavidad bucal, mientras en pulpas cerradas y especialmente en necrosis producida por traumatismos diversos, se presenta la típica flora anaeróbica obligada y facultativa (Crawford y Shankle 1961, Kantz y Henry 1974, Wittgow y Sabiston 1975, Dahlen y Bergenholtz 1980).

Otro factor selectivo de la microbiota de conductos radiculares, es la baja disponibilidad de oxígeno, en especial en porciones apicales, donde se produce un bajo potencial de óxido-reducción en el tejido necrótico que favorece el crecimiento de bacterias facultativas (son aquellos microorganismos que pueden desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno). Estas bacterias en un principio colonizan la cámara pulpar, pero la desaparición del oxígeno y el bajo potencial de óxido-reducción resultante favorece el desarrollo de bacterias anaerobias, representadas



por los microorganismos que sufren inhibición de su multiplicación y muerte por la presencia de oxígeno (Farber y Seltzer 1988).

Además es importante destacar que las mismas bacterias intercambian productos nutricionales esenciales, por lo tanto el crecimiento de ciertas especies bacterianas, depende por completo de la presencia de otras que producen metabolitos necesarios para su desarrollo (Sundqvist 1992).

Los avances tecnológicos, las evidencias y progresos científicos médicos y dentales propiciaron cambios significativos en la bacteriología y confirmaron que las infecciones en el conducto radicular son polimicrobianas (Sundqvist y col. 1989, Sundqvist 1992, Baumgartner y col. 1999, Hancock y col. 2001, Peters y col. 2002), causadas por microorganismos aerobios y anaerobios, siendo estos últimos, importantes en el desarrollo de las lesiones pulpares y periapicales. (Oguntebi y col. 1982, Iwu y col. 1990, Sunde y col. 2002, Pinheiro y col. 2003).

Los microorganismos fueron clasificados de diferentes maneras. Teniendo en cuenta que el poder de resolución del ojo humano no permite la visualización directa de las bacterias, éstas deben ser observadas a través del microscopio óptico, ya sea directamente o mediante tinciones, lo que facilita su reconocimiento.

El método de tinción más importante es el Método de Gram, que permite no sólo diferenciar y observar la morfología de las bacterias, sino también clasificarlas de acuerdo al color que adquieren después de la tinción en dos grupos: gram positivas y gram negativas (García Rodríguez y col. 1995).

- Según su morfología en:
- bacilos
 - cocos
 - espirilos

De acuerdo a la presencia o ausencia de esporas en:

- Esporulados → constituidos por bacilos gram positivos, generalmente móviles, con espora central, subterminal o terminal.
- No esporulados → aquí se incluyen cocos y bacilos tanto gram positivos como gram negativos y espiroquetas.

Según sus requerimientos y sensibilidad al oxígeno en:



Aerobias estrictas: son aquellas que requieren oxígeno como aceptor final obligado de electrones en la cadena respiratoria y no proliferan en condiciones de anaerobiosis (requieren oxígeno para sobrevivir).

Anaerobias estrictas: son aquellos que no utilizan oxígeno para su proliferación y metabolismo, su presencia los inhibe o mata, no pudiendo desarrollarse con una tensión de oxígeno mayor al 0.5 por 100; obtienen su energía de reacciones fermentativas.

Requieren para su cultivo medios enriquecidos, la mayoría de estos microorganismos son considerados como los más importantes en las patologías infecciosas, a menudo se los encuentran en infecciones mixtas.

Uno de los hechos más relevantes en el metabolismo de estas bacterias es la fermentación glucídica. Igualmente importante es la decarboxilación de aminoácidos que originan metabolitos fétidos. Esta fetidez es considerada un parámetro clínico de importancia.

Anaerobias facultativas: son bacterias que proliferan en presencia de oxígeno, utilizándolo como aceptor final de electrones o en anaerobiosis, utilizando reacciones de fermentación para obtener energía (el oxígeno no es esencial para su desarrollo, pero pueden usarlo si está presente), (Jawetz y col. 1992, García Mendoza y Liébana Ureña 1995, Prieto y Guardiola 1997).

La mayoría de las bacterias relacionadas con el hombre son anaerobias facultativas. Con frecuencia estas bacterias son llamadas aerobias.

En este grupo podemos mencionar diversos géneros:

- | | |
|------------------------|--|
| Bacilos gram positivos | <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Actinomyces</i>▪ <i>Lactobacillus</i>▪ <i>Propionibacterium</i> |
| Bacilos gram negativos | <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Actinobacillus</i>▪ <i>Capnocytophaga</i>▪ <i>Campylobacter</i> |
| Cocos gram positivos | <ul style="list-style-type: none">▪ <i>Staphylococcus</i>▪ <i>Streptococcus</i>▪ <i>Enterococcus</i> |



En la actualidad se reconocen más de 350 especies bacterianas en la flora normal de la cavidad bucal, pero sólo un reducido grupo de gérmenes tanto aerobios (Morse 1941, Shay 1947, Slack 1953 y Leavit y col. 1958) como anaerobios (Macdonald y col. 1957, Slack 1958,), se encuentran en los conductos radiculares con pulpa necrótica.

Sundqvist (1992) refiere que, los conductos radiculares poseen mecanismos que favorecen el asentamiento selectivo de sólo algunas especies bacterianas que integran la flora bucal, pese a que pueden producirse desplazamientos, termina siempre por existir un marcado predominio de anaerobios obligados.

La mayor parte de la flora de los conductos radiculares está constituida por bacterias anaerobias, además pueden encontrarse microorganismos facultativos, escasos aerobios y hongos en proporciones muy variadas.

En conductos radiculares con pulpa necrótica predominan los siguientes microorganismos.

Anaerobios estrictos:

Prevotella spp. , *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp., *Treponema* spp.

Anaerobios facultativos:

Streptococcus del grupo viridans, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* epidermis, *Lactobacillus* spp., *Actinomyces* spp., bacilos gram positivos, bacilos corineformes, bacilos gram negativos.

Aerobios:

Nocardia spp., *Neisseria* spp.

Otros microorganismos

Mycoplasma spp., *Candida albicans*.

Numerosos trabajos estudiaron las especies bacterianas que pueden encontrarse en los conductos radiculares, siendo los más frecuentemente aislados *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius*, denominados *Streptococcus* del grupo viridans (Shay 1947, Grossman 1952, Slack 1953, Brown y Rudolph 1957, Leavitt y col-1958, Winkler y van Amerogen-1959). Estos microorganismos son



cocos gram positivos, carecen de catalasa, su metabolismo es fermentativo y están incluidos dentro de los anaerobios facultativos (Liébana Ureña y col. 2002).

La mayoría de estos estudios utilizaron incubación aerobia, lo cual favorecía el crecimiento de bacterias facultativas e ignoraban otras especies anaerobias.

Brown y Rudolph (1957) analizaron conductos radiculares de dientes traumatizados clínicamente sin comunicación con el medio bucal, a través de cultivos aerobios y anaerobios, encontrando un 51% de bacterias facultativas, entre las que predominaban *Streptococcus* spp., y un 24% de microorganismos anaerobios.

En cultivos endodónticos se aislaron *Enterococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, considerados microorganismos difíciles de eliminar de los conductos radiculares, pudiendo convertirse en algunos casos en invasor resistente.

Hasta inicios de la década del 70, la mayoría de los estudios microbiológicos de conductos radiculares informaban resultados inciertos, debido a la imprecisión en la obtención de las muestras, medios de transporte y falta de cultivo para bacterias anaerobias. El descubrimiento de los bacilos anaerobios gram negativos y sus relaciones con otros microorganismos en las infecciones mixtas, demostró la estrecha relación que existe entre las ciencias básicas y la práctica clínica en el campo específico de la endodoncia (Pisano y Weine 1997). La importancia de estas bacterias en la patosis pulpar y perirradicular se ha puesto de manifiesto con el advenimiento de los métodos de cultivo anaerobio y el uso de diversos medios de cultivo tanto selectivos como no selectivos (Craig Baumgartner y col. 2004).

Sin embargo, los avances tecnológicos en el aislamiento de las bacterias anaeróbicas, así como el creciente conocimiento sobre el papel que desempeñan estos microorganismos en varias enfermedades, propiciaron cambios significativos en la bacteriología. Basándonos en los resultados de estudios más recientes, sabemos que las infecciones del conducto radicular son polimicrobianas causadas por bacterias aerobias y anaerobias, siendo estos últimos los que juegan un rol muy importante en el desarrollo de las enfermedades pulpares y perirradiculares (Moller y col. 1981, Fabricius y col. 1982, Iwu y col. 1990, Sunde y col. 2002).

Akpata y Blechman (1982) estudiaron la invasión de la pared pulpar por microorganismos conocidos, encontrando que *Streptococcus* spp. fue la bacteria que más fácilmente desarrolló. Llegaron así a la conclusión de que la invasión de la pared pulpar por bacterias inoculadas en los conductos radiculares preparados “in vitro” es tiempo-dependiente relacionadas a la velocidad de crecimiento de los



microorganismos, y donde las bacterias se multiplican y adosan a las paredes dentinales en número creciente, los túbulos dentinarios radiculares pueden ser invadidos.

Farber y Seltzer (1988) determinaron en sus trabajos de investigación que los microorganismos facultativos son los primeros en estar presentes en el área periapical, al comienzo del proceso infeccioso y son los que preparan el medio ambiente a las bacterias anaerobias obligadas que aparecen 2 ó 3 días después.

Entre los microorganismos anaerobios facultativos que pueden encontrarse en conductos radiculares con necrosis pulpar se encuentran los *Actinomycetales*.

Actinomyces spp.: son bacilos gram positivos, no esporulados e inmóviles. Pueden presentarse con diversas morfologías. Si bien son considerados anaerobios facultativos algunos pueden requerir para su desarrollo atmósfera anaerobia estricta. Estas especies aparecen en la superficie de los elementos dentarios, saliva, surco gingival, superficie lingual, mucosas y criptas amigdalares.

Los *Actinomycetales* constituyen uno de los grupos bacterianos que desempeñan un papel fundamental en el inicio de la caries dental. Su habilidad para fijarse a la superficie del elemento denario, permite que otras especies bacterianas, que por sí solas no pueden hacerlo, se coagreguen a esas especies pioneras en la colonización de la superficie del diente. Poseen además varios factores considerados cariogénicos: su poder acidógeno, capacidad de síntesis de polisacáridos intra y extracelulares utilizando la sacarosa; fimbrias, que permiten la adhesión y la coagregación bacteriana y una actividad proteolítica moderada. Estos factores y el hecho de que sean las especies más abundantes en la placa próxima a las caries de la raíz dental, sugieren su participación en el proceso cariogénico radicular (Castillo Pérez y col. 2002).

La infección por *Actinomyces* spp. produce un exudado purulento con gránulos de azufre que son colonias de estos microorganismos. Pueden ser identificados al biopsiar la lesión perirradicular y puede observarse bajo microscopio su clásica forma filamentosa y ramificada.

Oppenheimer y col. (1978) observaron la dificultad del cultivo de anaerobios en particular de *Actinomyces israeli*. Sin embargo Sundqvist y Reutering (1980) informaron un caso donde se pudo aislar *Actinomyces israeli* de un conducto radicular con lesión periapical.

Byström y col. (1987) observaron que el fracaso endodóntico en 79 dientes después de dos y cinco años, fueron cinco, y dos de ellos contenían *Actinomyces*



spp., lo que sugiere que, en algunos casos estas bacterias se establecen en el tejido periapical, lugar donde son inaccesibles al tratamiento endodóntico convencional.

Kalfas y col. (2001) estudiaron los microorganismos presentes en dos pacientes en donde la terapia endodóntica había fracasado. Si bien las bacterias eran similares a otras y fueron clasificadas como *Actinomyces* spp. sobre las bases de las evidencias filogénicas y fenotípicas, fue designada como una nueva especie: *Actinomyces radicidentis*.

Por lo tanto *Actinomyces* spp., pueden encontrarse en conductos radiculares con necrosis pulpar, particularmente en lesiones resistentes a la terapia endodóntica (Mellville y Birch 1967, Bryström y Sundqvist 1981, Sundqvist 1994, Safavi y col. 1990, Simon y col. 1995).

Dentro de los anaerobios estrictos es de especial interés el género *Bacteroides*, integrado por microorganismos que han adquirido protagonismo en las investigaciones sobre infecciones endodónticas (Sundqvist y col. 1989) y aunque no se establece una relación directa entre *Bacteroides* y síntomas y signos de infección, son los implicados con mayor frecuencia (Haapasalo y col. 1986, Sundqvist y col. 1989, van Winkelhoff y col. 1992, Hashioka y col. 1992, Dougherty y col. 1998). Son bacilos inmóviles gram negativos, que no forman esporas. Este género contiene un grupo heterogéneo de microorganismos divididos en diferentes especies.

En el año 1988 se realizó una revisión taxonómica y se cambió la nomenclatura para los bacteroides negropigmentados (BPN).

Tres especies asacrolíticas de BPN se reclasificaron en un género separado llamado *Porphyromonas*.

Seis especies de BPN sacarolíticos se reclasificaron en un género separado denominado *Prevotella*. Como así también otras especies bacterianas no pigmentadas antes clasificadas como *Bacteroides*.

En el siguiente cuadro se muestran los cambios taxonómicos recientes para especies antes incluidas en el género *Bacteroides*.



Cambios Taxonómicos recientes para especies Bacteroides
<p><u>Porphyromonas</u>: de pigmento negro (especie de <i>Bacteroides</i> asacarolíticas)</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Porphyromonas asaccharolyticas</i> (por lo general no bucales)• <i>Porphyromonas gingivalis</i>• <i>Porphyromonas endodontalis</i>
<p><u>Prevotella</u>: de pigmento negro (especie de <i>Bacteroides</i> sacarolíticas)</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Prevotella melaninogénica</i>• <i>Prevotella dentícola</i>• <i>Prevotella loescheii</i>• <i>Prevotella intermedia</i>• <i>Prevotella nigrescens</i>• <i>Prevotella corporis</i>• <i>Prevotella tannerae</i>
<p><u>Prevotella</u>: sin pigmento (especie de <i>Bacteroides</i> sacarolíticas)</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Prevotella buccae</i>• <i>Prevotella bivia</i>• <i>Prevotella oralis</i>• <i>Prevotella oris</i>
<p><u>Prevotella oulorum</u></p>
<p><u>Prevotella ruminicola</u></p>

J. Craig Baumgartner et. al. (2003)

En 1986 Haapasalo y col. estudiaron 62 dientes con infección de conductos radiculares para determinar la incidencia de los BPN; los resultados revelaron la presencia de 37 cadenas de Bacteroides pigmentados siempre en infecciones anaeróbicas mixtas. Los más frecuentes fueron: *B.intermedius*, *B.dentícola*, *B. gingivalis* y *B. endodontalis*.

La presencia de BPN en conductos infectados fue estudiada por Sundqvist y col. (1989), van Winkelhoff y col. (1992), Gomes y col. (1996), Dougherty y col.



(1998), Baumgartner y col. (1999), quienes demostraron que algunos síntomas y signos clínicos, como edema, dolor, exudado, estaban significativamente asociados a estos microorganismos. Concluyendo que en microinfecciones experimentales presentaban bajo nivel de virulencia, aunque podrían desempeñar un papel decisivo en infecciones mixtas (van Winkelhoff y col. 1992).

Hashioka y col. (1992) correlacionaron la presencia de BPN con síntomas clínicos agudos o crónicos, dolor a la percusión, y lo relacionaron también con la presencia de olor fétido, considerado parámetro de importancia clínica.

Goncalves y col., en 1999, tomaron muestras en 10 pacientes con conductos infectados y placa subgingival, éstas fueron llevadas a cultivos para anaerobios. En este estudio se aislaron 17 *Porphyromonas gingivalis* y 9 *Prevotella nigrescens*, determinando que estos microorganismos anaerobios pigmentados de negro estaban presentes en conductos infectados y bolsas periodontales en cuatro de los pacientes estudiados, lo que confirma la teoría de que en los conductos radiculares y en el periodonto pueden colonizar algunos tipos de BPN.

Estudios más recientes realizados por Siqueira y col. (2001) valoraron el importante rol que juegan los BPN anaerobios en los abscesos perirradiculares agudos. El estudio determinó la presencia de BPN en un 80% de los abscesos examinados y estableció su importancia en la etiología de esta patología.

Se ha estudiado también la penetración de estos microorganismos en los túbulos dentinarios de dientes humanos. Berkiten y col. en el año 2000 realizaron un estudio y demostraron que *Prevotella intermedia* (Bacteroides) podría penetrar 25,9 μm , esto indica que no tiene poder de penetración en los túbulos dentinarios; si esto ocurriera sería bastante limitado.

Se han asociado además signos y síntomas clínicos de infección con la presencia de otro microorganismo *Fusobacterium* spp.

Este pertenece a los anaerobios estrictos. Los integrantes de este género son bacilos gram negativos, muy pleomórficos que adoptan tanto un aspecto fusiforme filamentoso con extremos agudos, como redondeado o fino. Unas veces con deformaciones, y otras con coloración bipolar, son inmóviles y generalmente no fermentativos (Castillo Pérez y col. 2002). Dentro de éste género el que con mayor frecuencia se aísla de conductos radiculares infectados y bolsas periodontales, es *Fusobacterium nucleatum* (FN)



Kantz y Henry (1974) llevaron a cabo una evaluación bacteriana de piezas no vitales presumiblemente infectadas, con coronas intactas sin comunicación con la cavidad bucal y determinaron que el 39% correspondió a *Fusobacterium* spp.

En 1982 Fabricius y col. evaluaron la complejidad de la flora bacteriana de conductos infectados, mediante la identificación y enumeración de las especies predominantes. Del total de bacterias aisladas el 37% correspondía a bacilos gram negativos y en segundo lugar a *Fusobacterium* spp.

Chavez de Paz (2002) estudió el alcance en donde éste microorganismo es recuperado de conductos radiculares de pacientes que presentaban dolor después de la instrumentación endodóntica. Los resultados determinaron que en los casos que presentaron “severo dolor” se podía visualizar la presencia de *Fusobacterium nucleatum*, mientras que, en los pacientes restantes con “menos dolor” mostraron una variación en las bacterias encontradas y ninguno de estos dientes demostró la presencia de *Fusobacterium nucleatum*.

Moraes y col. (2002) evaluaron 13 dientes e incluyeron en este trabajo elementos con caries, necrosis pulpar y evidencia radiográfica de lesión ósea. Sus resultados determinaron que FN estaba presente en el 31% de los casos.

Existen, además, otros microorganismos anaerobios estrictos detectados en conductos infectados como son las espiroquetas. Dentro de esta familia, sólo algunas especies del género *Treponema* colonizan ciertas regiones de la cavidad oral humana.

El género *Treponema* incluye bacterias anaerobias estrictas, móviles, de forma alargada y rizada o en sacacorchos con flagelos periplásmicos (García-García 2002). Son microorganismos que requieren bajo potencial de óxido-reducción, además son muy exigentes desde el punto de vista nutricional. Se observan mediante microscopio de campo oscuro, inmunofluorescencia o técnicas de impregnación argéntica, puesto que la mayor parte son muy finos para poder observarlos al microscopio óptico (Borovio Enciso y Perea Pérez 1995). Todas las especies de *Treponemas*, son comensales del surco gingival, solo *Treponema denticola* está implicado en algún tipo de patología infecciosa oral.

Siqueira y col. (2000) tomaron muestras de 21 dientes unirradiculares, con lesiones cariosas, pulpa necrótica y evidencia radiográfica de pérdida ósea sin tener en cuenta la presencia o ausencia de síntomas, observando que *Treponema denticola* fue detectado en el 52,4% de los casos. La presencia del alto porcentaje



de espiroquetas halladas en infecciones endodónticas, es la razón para creer que pueden participar en la patogénesis de lesiones perirradiculares de origen pulpar.

En el año 2001 los mismos autores determinaron la presencia de este microorganismo en el 42,5% de los casos estudiados, llegando a la conclusión que *Treponema denticola* puede estar involucrado en la patogénesis de lesiones perirradiculares de origen endodóntico y además que juega un importante rol en la etiología de los abscesos agudos.

Investigaciones microbiológicas de patología apical han revelado que las levaduras pueden ser aisladas también de conductos radiculares en cultivos puros y junto con bacterias (Slack 1953 y 1958, Macdonald y col. 1957, Goldman y Pearson 1969, Nair y col. 1990, Lana y col. 2001).

Estos son seres unicelulares o pluricelulares, con estructura eucariota. Existen varios géneros; los más frecuentemente encontrados pertenecen al género *Candida*, pueden observarse como células redondeadas u ovals gram positivas con un metabolismo principalmente aerobio (Quindós y col. 2002).

Un rasgo característico es que las infecciones micóticas desarrollan cuando las condiciones ambientales proveen nutrientes esenciales para el asentamiento, crecimiento y reproducción del hongo (Waltimo y col. 1997).

La cantidad de hongos presentes en conductos radiculares infectados es variable y oscila entre el 2% y el 16% según diferentes autores (Gutiérrez 1958, Leavitt y col. 1958, Grossman 1959, Jackson y Halder 1963, Fox e Isenberg 1967, Waltimo y col. 1997).

Está en contraposición con este concepto, el trabajo de Najzar-Fleger y col. (1992) quienes informaron que el 55% de los conductos infectados contenían *Candida* spp. Aunque éstos valores pueden tener relación con el tamaño de la muestra y el criterio utilizado para la selección de los casos.

Años más tarde, Sen y col. (1995) estudiaron conductos radiculares infectados y evaluaron la penetración de los hongos en los túbulos dentinarios, valorando que la misma tuvo un alcance de 10 a 150 μ m. Sólo en cuatro especímenes el conducto radicular presentaba un inóculo alto de levaduras. Ellos determinaron que la persistencia de infecciones de conductos radiculares a pesar del uso de antisépticos, con frecuencia puede deberse a la permanencia de hongos especialmente en los túbulos dentinarios.



La regular presencia y aislamiento de levaduras en cultivos puros pueden determinar que juegan un rol importante en casos de patología apical persistente, aun después del tratamiento endodóntico.

Por lo expuesto, podemos concluir, que uno de los factores condicionantes, considerados pre-requisito para la instalación de patología pulpar y periapical es la presencia de microorganismos. De esta forma, la determinación y el conocimiento de las bacterias predominantes en los conductos radiculares infectados representa un factor decisivo en la elección de un proceso de control microbiano (Estrela 1997).

Las infecciones de origen endodóntico ocurren comúnmente por microorganismos anaerobios (estrictos y facultativos), entre las numerosas especies de bacterias que constituyen la variada flora de este sitio (Dahlen y Bergenholtz 1980).

El conocimiento de la microflora de los conductos radiculares infectados y de lesiones periapicales estimularon la investigación científica y tecnológica, no sólo con el fin de establecer el espectro de los microorganismos, sino también su control (Sydney y Estrela 1996).

La neutralización de los focos de agresión microbiana en los conductos radiculares y tejido periapical, con métodos de control, como la preparación químico-mecánica, es lo que posibilita la completa recuperación del tejido. Sin embargo, en la actualidad, se ha demostrado que solo la preparación del conducto no garantiza la completa recuperación (Holland y col. 1992). Es necesario eliminar totalmente las bacterias que intervienen en la infección endodóntica, ya que ésta persistirá hasta que sea eliminada la causa (Baumgartner y col. 2003).

La eliminación de los microorganismos de los conductos radiculares infectados ha sido siempre una constante preocupación, pero a lo largo de los años se ha demostrado que la eficaz instrumentación mecánica, asociada al empleo de sustancias dotadas de propiedades antimicrobianas, son las que realmente conllevan a la total recuperación (Estrela 1997).

A partir de este momento se hace necesario el uso de un antimicrobiano efectivo que asuma este papel coadyuvante, en el proceso de recuperación, eliminando los microorganismos, favoreciendo la reparación, debiendo ser inocuo e inofensivo para el elemento dentario y los tejidos periapicales y que actúe sobre los mecanismos de virulencia bacteriano.



ANTISÉPTICOS

Los antisépticos son agentes antiinfecciosos tópicos que matan a los microorganismos o impiden su crecimiento. Este término se usa para preparaciones que se aplican sobre tejidos vivos. La definición deriva del significado original antiséptico como “sustancia que se opone a la sepsis, putrefacción o deterioro”. A partir de 1986, la Asociación Dental Americana (ADA) estableció pautas para la evaluación y aceptación de dichas sustancias, que deben por lo tanto reunir ciertas condiciones:

- El antiséptico debe tener una actividad potente contra los microorganismos y sus formas de resistencia.
- Poseer acción rápida.
- Deben ser solubles.
- Ser químicamente estables y moderadamente volátiles.
- Eficaces en presencia de pus, sangre o restos orgánicos.
- No irritar los tejidos del huésped, poco tóxicos.
- Tener una tensión superficial baja que facilite su penetración.
- No crear sensibilizaciones en el organismo ni resistencia en los microorganismos.
- No poseer propiedades organolépticas.
- De fácil aplicación.
- Económicos.

El antiséptico que reúna éstas condiciones aun no ha sido logrado.

Es importante remarcar que estas sustancias antimicrobianas actúan gradualmente en el proceso desinfección-tiempo. Si bien al principio hay una disminución del inóculo bacteriano, debe considerarse siempre que, cuanto mayor sea el número de microorganismos presentes, mayor tiempo requerirá. También es deseable un alto grado de capacidad germicida para evitar la difusión, la interacción con los tejidos y la dilución en los fluidos (Litter 1983).

Podemos decir; como regla general, que las formas vegetativas mueren más rápido, por acción de los germicidas, que las formas esporuladas de las bacterias. Para destruir esporas es necesario aumentar la concentración del germicida, el



tiempo de contacto, o ambos, en comparación con las necesarias para matar formas no esporuladas.

Los mecanismos de acción, (bactericidas o bacteriostáticos), por los cuales estos medicamentos matan o inhiben las células bacterianas son complejos y variados. La muerte de las mismas se produce interfiriendo cualquiera de las funciones enzimáticas esenciales para la vida o la multiplicación (Goodman & Gilman 1957); pueden hacerlo por:

- Precipitación y desnaturalización de proteínas del protoplasma bacteriano.
- Combinación e inhibición de enzimas con grupos sulfhidrilos.
- Combinación con grupos amínicos de las proteínas bacterianas.
- Oxidación de constituyentes bacterianos, especialmente enzimas.
- Alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular.
- Por combinación de grupos ácidos y básicos del protoplasma bacteriano.

En odontología el fundamento para la selección de cualquier medicamento, que actúe sobre los microorganismos presentes en los conductos radiculares y tejidos periapicales, consiste en el conocimiento de su capacidad germicida, su espectro, su mecanismo de acción y de su vida útil, a fin de que genere un real efecto controlador, y consecuentemente favorezca la reparación residual (Estrela 1997).

Maísto (1975) expresa que prácticamente, todos los antisépticos de acción efectiva contra las bacterias presentes en el conducto y zona periapical, son irritantes. La intensidad de ésta acción deletérea depende de la composición, concentración, solubilidad, contacto, tensión superficial, permanencia y volatilidad del antiséptico y de la acción modificadora del solvente.

Los medicamentos intraconductos incluyen a cualquier agente con acción farmacológica introducida dentro del canal radicular. La función primaria es prevenir la infección cuando no existe, eliminar las bacterias que ya lo infectan, o ambas, (Orstavik 1999). Por lo tanto el medicamento ideal debe poseer una alta actividad antibacteriana acompañada de baja toxicidad tisular (Spangberg y col. 1973, Ellerbruch y Murphy 1977).



Larz Spangberg (1988) refiere que los antimicrobianos en endodoncia se usan por aplicación local, dentro del espacio del conducto radicular, y que los estudios y evolución de la antisepsia local han permitido una selección amplia de sustancias químicas que están asociadas a la aparición de efectos tóxicos.

Los antisépticos son un grupo amplio y heterogéneo de medicamentos que varían respecto a su estructura química, mecanismo de acción, y uso terapéutico. Se buscó por lo tanto una manera de ordenarlos de acuerdo a su estructura química en:

Alcoholes (etílico e isopropílico), **Aldehídos** (Formaldehído, glutaraldehído), **Agentes oxidantes** (Peróxido de hidrógeno, permanganato potásico, óxido de etileno), **Biguanidas** (Clorhexidina), **Jabones**, Tensioactivos catiónicos (Cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio), **Compuestos metálicos** (Derivados del mercurio: mercromina, tiomerosal, **Derivados de la plata**: nitrato de plata, sulfadiacina argéntica, **Derivados del cinc**: sulfato de cinc, óxido de cinc). **Acidos** (peracético, acético, ácido benzoico, bórico, láctico), **Antisépticos usados en quemaduras** (sulfadiacina argéntica, mafénido, nitrofurazona, povidona yodada), **Fenoles** (Fenol, cresol, resorcinol, hexilresorcinol, cloroxilenol, triclosán, hexaclorofeno), **Compuestos halogenados**: yodados (yodo, yodóforos), Clorados: (cloro elemental, hipoclorito sódico, hipoclorito de cal, cloraminas T, oxiclorseno) (Delpón 2004).

A continuación se expondrán brevemente las principales características de alguno de los antisépticos más empleados en Odontología.

Alcoholes: Se utilizan como antisépticos y desinfectantes. Actúan como germicidas ya que desnaturalizan y precipitan las proteínas y disuelven los lípidos de la membrana que protegen los microorganismos, lo que refuerza la acción de otros desinfectantes con los que se asocian (Delpón 2004) El que se emplea con mayor frecuencia por su acción antiséptica es el alcohol etílico al 70%. Aunque poco eficaz e inactivo contra las esporas y virus, tiene un reiterado uso para la desinfección de la piel, instrumentos y otros objetos. El alcohol isopropílico al 70% tiene aproximadamente doble potencia germicida que el etílico y es menos corrosivo para los instrumentos (Goodman & Gilman 1957).

Son excelentes antisépticos de superficie, presenan escasa penetración e inhibición de su acción por presencia de materia orgánica.



Aldehídos: Son agentes alquilantes que sustituyen los átomos de hidrógeno de radicales amino, hidroxilo, carboxilo y sulfhidrilo de las proteínas y los átomos de nitrógeno de las bases púricas de los ácidos nucleicos, alterando la estructura de los microorganismos. Son germicidas, destruyen bacterias, virus, hongos, esporas. Se los utiliza para esterilizar dispositivos críticos, instrumentos quirúrgicos y materiales médicos que no pueden ser esterilizados con calor (Delpón 2004).

Formocresol (Aldehído). Es bactericida y se compone de formaldehído (19%) y cresol (35%) en una solución de agua y glicerina (46%) (Buckley 1904).

El formocresol fue introducido en 1904 por Buckley, quien sostenía que partes iguales de formol y tricresol reaccionarían químicamente con los productos intermedios y finales para formar un nuevo compuesto incoloro, eficaz y de naturaleza inocua. Se lo considera un germicida potente, contra toda clase de gérmenes, posee además una gran capacidad de penetración, pierde poca acción en presencia de materia orgánica, es momificador o fijador por excelencia (Lasala 1983). El formocresol combina, con la acción de coagulación proteínica de los compuestos fenólicos, el efecto alquilante del formaldehído (Baumgartner y col. 2003).

El compuesto actúa como un antiséptico potente con efecto bactericida, incluso al 2% puede provocar destrucción amplia de tejido vivo (Spangberg y col. 1973).

Contiene formaldehído, razón por la cual es satisfactorio el efecto de formar vapores (Wesley y col. 1970). Posee gran poder de difusión, lo que puede alterar los tejidos periapicales. Su uso en endodoncia ha sido muy discutido y aun combatido, por considerarlo irritante periodontal y periapical (Lasala 1992).

El formocresol ha sido ampliamente utilizado en dientes primarios con el objeto de incluir en las pastas de obturación un compuesto que actúe como germicida y además fije el remanente pulpar, ya que no se ha comprobado efecto curativo sobre la pulpa remanente. Con la finalidad de limitar el daño ocasionado por la irritación del formocresol a partir de la década del 70 se trató de reducir la concentración, manteniendo su poder bactericida y fijador. En la actualidad la concentración 1:5 de formocresol es la recomendada, no solo para reducir sus efectos tóxicos sino por considerarlo extremadamente citotóxico (Spangberg y col. 1973, Escobar Muñoz 2004).

Straffon y Han (1970) aconsejan ésta dilución, por ser igual de efectivo y permitir una clara y rápida recuperación funcional de los tejidos afectados.



Oxidantes: Numerosos antisépticos son tóxicos para los microorganismos por su acción oxidante (capacidad de ceder oxígeno).

El oxígeno molecular ejerce acción germicida oxidando los componentes susceptibles del protoplasma bacteriano, sistemas enzimáticos que son activos en forma reducida. Los microorganismos anaerobios se alteran por una alta concentración de oxígeno nascente. Las diferentes especies bacterianas difieren mucho en sensibilidad al oxígeno. En general las más sensibles son las bacterias gram positivas, ciertas espiroquetas y los tripanosomas.

Aunque todos los compuestos que desprenden oxígeno nascente tienen el mismo mecanismo básico de acción germicida, difieren mucho en sus propiedades, según la rapidez con que se libera el mismo, las acciones del catión unido al anión oxigenado y los efectos de la sustancia que queda como residuo después del desprendimiento de oxígeno (Goodman & Gilman 1957).

Los efectos son breves ya que actúan mientras liberan oxígeno y se inactivan en presencia de materia orgánica.

Biguanidas: en este grupo encontramos la Clorhexidina, que es una clorofenilbiguanida, desarrollada e introducida al mercado mundial como antiséptico en el año 1954 (Davies y col. 1954) y desde 1969 se emplea en Odontología como agente antiplaca. Posee un amplio espectro de acción frente a bacterias gram positivas, gram negativas anaerobias facultativas, hongos y levaduras, aunque no es efectivo frente a esporas y virus.

Su mecanismo de acción se explica por la alta afinidad que este compuesto presenta para unirse a grupos negativos de la pared microbiana, con lo cual altera el transporte a través de la membrana y secundariamente actúa coagulando el contenido intracelular. En nuestra disciplina se emplea bajo la forma de digluconato (0,12% - 0,24%) no sólo en el control de la placa, sino también como coadyuvante en el tratamiento de afecciones periodontales, para la reducción de infecciones post-quirúrgicas, pacientes con alto índice de caries y control de la higiene oral, discapacitados, en pacientes con tratamiento ortodóncico (Heasman y Seymour 1994).

Una importante propiedad de la clorhexidina es su sustentividad, capacidad de los tejidos de retener la droga, desde donde se libera gradualmente para poder actuar, lo que le permite un efecto prolongado. Esta acción rápida y prolongada,



aumenta si se asocia con alcohol, y disminuye en presencia de proteínas, sangre y materia orgánica (Delpón 2004) .Es efectivo en presencia de saliva, y pus (Litter 1983).

La Clorhexidina posee una toxicidad reducida, por lo cual es el antiséptico dental más utilizado en la actualidad (Heasman y Seymour 1994).

Jabones: Son sustancias tensioactivas aniónicas formadas por sales sódicas o potásicas de diversos ácidos grasos que actúan como detergentes. Tienen mayor actividad a pH ácido.

Actúan principalmente por eliminación mecánica de los microorganismos. Esta tarea la realizan emulsionando la capa oleosa de las estructuras que normalmente contienen bacterias, aunque también actúan sobre las membranas citoplasmáticas de las mismas. Eliminan la mayoría de los microorganismos de la flora cutánea y su utilización por el personal sanitario y los pacientes es una práctica fundamental en el control de la transmisión de infecciones (Delpón 2004).

Detergentes catiónicos: Estos compuestos de amonio cuaternario forman parte de la composición de múltiples preparados utilizados en medios hospitalarios y caseros con fines antisépticos, desinfectantes y detergentes (Delpón 2004). Son sustancias que tienen la propiedad de limpiar superficies sucias ya que son agentes surfactantes, capaces de aumentar la tensión superficial del agua (Litter 1983). Alteran la porción lipídica de la membrana bacteriana aumentando su permeabilidad y desnaturalizan las proteínas de los microorganismos. Actúan como bactericidas sobre un gran número de bacterias gram positivas y negativas y son activos frente a algunos hongos, virus y protozoos, no son esporocidas.

Son menos activos que la clorhexidina o los compuestos yodados, su acción es lenta, antagonizada por jabones y disminuye en presencia de materia orgánica (Delpón 2004).

Compuestos metálicos: Diversos derivados de mercurio, plata y cinc se combinan con los grupos sulfhidrilo, amonio y carboxilo de las proteínas a las que desnaturalizan y precipitan, lo que constituye la base de su actividad germicida (Delpón 2004).

Los compuestos inorgánicos de mercurio fueron los primeros antisépticos empleados. Estimados como potentes germicidas, hacia finales del último siglo,



perspicacias bacteriológicas presentaron pruebas de que los mercuriales eran solamente bacteriostáticos (Goodman & Gilman 1957). No es utilizado para la desinfección de instrumental metálico, siendo poco activo frente a esporas, produce acción antiséptica local, la cual se ve disminuida por presencia de materia orgánica (Litter 1983).

Nos detendremos en los siguientes agentes antiinfecciosos tópicos, por tratarse de los antisépticos utilizados en este trabajo de investigación.

Fenoles: La eficacia germicida de los fenoles fue demostrada por Lister en 1867. Considerado como el antiséptico de elección durante décadas (Litter 1983).

Su acción antiséptica radica en la propiedad de combinarse con proteínas, coagulándolas.

El fenol se ha utilizado como agente estándar contra el cual se miden todos los otros desinfectantes. La relación de la capacidad de desinfección del material probado con la del fenol, se ha denominado coeficiente fenólico. Sólo merece mención por su importancia histórica.

Es una sustancia blanca y cristalina, con un olor característico, obtenida del alquitrán. Es bacteriostático en una concentración de 0.2%, bactericida por encima del 1% y fungicida por encima de 1.3%. Esta droga es mas efectiva en solución acuosa que en glicerina o lípidos (Goodman & Gilman 1957).

El fenol es un veneno protoplasmático general, su potencia es poco afectada por el material orgánico (Litter 1983). En alta concentración, precipita las proteínas, pero con diluciones más bajas las proteínas son desnaturizadas y no coaguladas (Goodman & Gilman 1957).

Su actividad antibacteriana es relativamente independiente de la cantidad de bacterias y de la presencia de materia orgánica. En concentraciones adecuadas son activos contra todos los agentes patógenos no esporulados (Oster y Giarman 1969). El complejo proteína-fenol es poco estable y por eso el fenol es difusible y penetra en los tejidos, siendo marcadamente tóxico para las células bacterianas (Goodman & Gilman 1957).

Al ponerse en contacto con el citoplasma forma un ligero precipitado que prácticamente no limita su acción desinfectante y aplicado localmente tiene acción anestésica. El fenol ha dejado de ser el antiséptico corriente que una vez fue en el pasado.



Este compuesto se ha usado para esterilizar la dentina luego del preparado cavitario, para esterilización de los instrumentos endodónticos, y como cáustico para destruir los restos pulpares (Grossman 1981).

El fenol, suele licuarse en alcanfor (fenol alcanforado), con el objeto de buscar un compuesto menos cáustico, debido a este efecto el fenol alcanforado se usa cuando se requiere de su acción analgésica como parte de la meta terapéutica (Spangberg 1968).

Es el menos tóxico de los compuestos fenólicos y posee excelente efecto antimicrobiano (Spangberg y col. 1973).

En este grupo merece mención el Paramonoclorofenol alcanforado (PMCF), introducido a la terapia endodóntica por Walkhoff en 1891 y desde entonces ha gozado de mucha popularidad. Posee acción sedativa y antiséptica. Esta última se debe a su composición fenólica y el ion cloro (Cl) que en su posición “para” es liberado lentamente (Lasala 1992). La liberación de cloro al estado nascente contribuye a su acción antiséptica, su acción bactericida se pone de manifiesto cuando entra en contacto directo con las bacterias. El agregado de alcanfor, además de servir como vehículo, reduce su acción irritante, debido a que causa una lenta liberación del paramonoclorofenol de la cual resulta un fármaco con bajo poder de agresión a los tejidos y elevado poder antimicrobiano (Spangberg y Engstrom 1968).

El paramonoclorofenol alcanforado (PMCF) es un líquido ámbar pálido, oleoso, transparente, con olor aromático característico a alcanfor, constituido por la unión de 65 gs. de alcanfor y 35 gs. de cristales de clorofenol (Grossman 1981).

Dietz (1957) sugirió el empleo del PMCF con Cresatina, con el objeto de complementar la acción de los fármacos, y determinó que el producto resultante era efectivo para destruir microorganismos, nada irritante y muy penetrante, pudiendo sus vapores atravesar el foramen apical y causar daño en el periodonto.

Harrison y Madonia (1970-1971) (1975), Kawahara y col. (1975), Chang y col. (1999), informaron que la solución acuosa al 1% de PMCF es capaz de destruir gran parte de los microorganismos identificados en los conductos radiculares infectados, siendo su efectividad inhibida en presencia de sangre o tejido necrótico, pero estable en contacto con suero salino o saliva

Avny y col. (1973) y Taylor y col. (1976) estudiaron la difusión del PMCF y PMCF en los túbulos dentinarios y determinaron que la solución acuosa del PMCF puede penetrar mejor que el PMCF en el interior de los mismos.



La efectividad antimicrobiana del PMCFA fue también evaluada por, Uchin y Parris (1963), Tanriverdi y col. (1997), Barbosa y col. (1997), Ferreira y col. (2002), quienes determinaron la habilidad del compuesto para inhibir el crecimiento bacteriano.

En 1997 Llamas y col. realizaron una investigación “*in vitro*” con la finalidad de comprobar el efecto del PMCF y PMCFA usados en endodoncia para la desinfección de los conductos radiculares sobre la capacidad de adherencia del sustrato de los macrófagos. Los resultados mostraron que ambos agentes disminuyen la capacidad de adherencia. Tomando en cuenta que la adhesión es el primer eslabón en el proceso de fagocitosis de los macrófagos y en la presentación de antígenos, el PMCF y PMCFA podrían inhibir la función de los mismos (macrófagos), modificando las reacciones inmunes y la respuesta inflamatoria del tejido periapical.

En el año 2001 y 2003 Siqueira Jr. y col., investigaron el efecto antifúngico de diversos medicamentos tales como óxido de zinc/ glicerina y el hidróxido de calcio/ PMCFA, sobre algunas especies de *Candida*. Los resultados demostraron que el hidróxido de calcio/ PMCFA presentó un mejor y mayor efecto contra los hongos.

Compuestos halogenados: Son sustancias que, al disolverse en agua, liberan cloro molecular y ácido hipocloroso (HOCl) que producen la oxidación de los grupos tiol y amino de las proteínas de los microorganismos y ejercen una acción germicida rápida y eficaz.

Son utilizados para la desinfección de material médico, y el lavado de heridas. Sin embargo son corrosivos y su actividad disminuye en presencia de materia orgánica (Delpón 2004).

Los halógenos también han sido utilizados en las prácticas endodónticas, entre ellos podemos mencionar **el cloro y el yodo**, ambos constituyen la base de diversos antisépticos muy usados para la irrigación y desinfección de los conductos radiculares.

Forman parte de un grupo importante de compuestos en el campo de la desinfección, debido a su elevada afinidad por el protoplasma bacteriano, lo que constituye la base de su actividad (Oster y Giarmán 1969). La acción desinfectante de los halógenos es inversamente proporcional a su peso atómico (Grossman 1981).



Cloro: Es un elemento gaseoso que industrialmente se prepara por electrólisis del cloruro de sodio, sumamente irritante (Litter 1983). El cloro elemental es un potente agente germicida. Ejerce su acción antibacteriana en su forma elemental y de ácido hipocloroso no disociado, formado por hidrólisis del cloro (Goodman & Gilman 1957).

Su efectividad germicida, depende de varios factores, el pH del medio, la temperatura y la presencia de material orgánico. En concentraciones bajas 0,0002 por ciento ya tiene acción destructiva de las bacterias (Oster y Giarnan 1969).

El cloro en sí tiene una utilidad limitada como antiséptico por las dificultades inherentes al manejo del elemento en estado gaseoso y porque el agua de cloro es muy inestable (Goodman & Gilman 1957). No obstante, muchos compuestos dan ácido hipocloroso, y ellos pueden ser utilizados en medicina, tales como el hipoclorito de sodio.

Hipoclorito de Sodio: (NaClO) fue utilizado por primera vez por Semmelweis en 1847 para la desinfección de manos (Ingle-Traintor 1988), más tarde Carrel y Dakin (1915) lo emplearon para la curación de las heridas. Es inhibido por la presencia de materia orgánica.

Esta solución es muy soluble en agua y relativamente inestable, por lo cual deben utilizarse soluciones frescas y deben protegerse de la luz y el calor, es germicida y capaz de disolver tejido blando. Shue-Fen Yang y col. (1996), Wadachi y col. (1998) determinaron en su estudio la competencia del hipoclorito de sodio para disolver tejido pulpar necrótico y detritus del conducto radicular, no siendo alterado por el ambiente anaeróbico.

Cuando el hipoclorito entra en contacto con las proteínas tisulares, forma nitrógeno, formaldehído y acetaldehído y las cadenas peptídicas se rompen disolviendo las proteínas.

En el proceso, el hidrógeno de los grupos imino es sustituido por cloro, con formación de cloramina, que interviene como importante antimicrobiano (Dakin 1915), penetrando mejor en las áreas infectadas y disolviendo el tejido necrótico y el pus.

El hipoclorito de sodio presenta ventajas terapéuticas tales como: según Mondragón Espinosa (1995)



- pH alcalino entre 9 y 11 lo que permite neutralizar la acidez de los tejidos necróticos y transformar el medio en poco propicio para el desarrollo de bacterias.

- Disolvente de la materia orgánica.
- Excelente bactericida, en concentraciones que van de 0,5% a 5,25%

Si bien el hipoclorito de sodio fue usado primariamente como irrigante de conductos radiculares, es también recomendado como medicamento intracanal (Mentz 1982).

Diferentes autores realizaron estudios comparativos para evaluar las propiedades del hipoclorito de sodio.

Spangberg y col. (1973) estudiaron y correlacionaron la toxicidad y el efecto antimicrobiano de varios agentes antisépticos, remarcando que la necesidad del uso de los mismos estaría indicado en casos de necrosis pulpar que involucran los conductos radiculares y donde las bacterias hayan penetrado en los túbulos dentinarios. En tales circunstancias el hipoclorito de sodio es el antiséptico de elección.

Las soluciones débiles de hipoclorito de sodio son digestivos activos del tejido desprendido. Esta característica ha sido reconocida desde hace más de 60 años. Esencialmente las soluciones débiles (0.5-1%) de éste medicamento digieren los residuos orgánicos, a la vez tienen poco efecto sobre los tejidos adyacentes viables (Ruddle 2002). Esta acción es de gran importancia en endodoncia. Algunos autores Cvek y col. (1976), Byström y Sundqvist (1983), Ferreira y col. (1999) consideran que el hipoclorito de sodio debe ser usado en concentración del 0,5%, dando garantía de ser un excelente agente antimicrobiano, y presentar menos toxicidad. Autores como Spangberg y Engstrom (1968), Spangberg y col. (1973), demostraron que la concentración del hipoclorito de sodio al 1% es agresiva aunque presenta un mejor efecto antimicrobiano.

Jeansonne y White (1994), Kuruvilla y Kamath (1998), Yamashita y col. (2003), evaluaron la acción antibacteriana del hipoclorito de sodio al 2.5% y 5.25%, determinando que ambas concentraciones redujeron significativamente el número de cultivos positivos y Unidades Formadoras de Colonias (UFC), con un aumento significativo de su toxicidad.

A su vez, Ellerbruch y Muihy (1977) informaron que los vapores del hipoclorito de sodio tenían acción bactericida y que reaccionaban con la materia orgánica.



Las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio como medicación intracanal sobre microorganismos presentes en conductos radiculares infectados, fueron evaluados en trabajos de investigación realizados por, Shig y col. (1970), Raphael y col. (1981) quienes estudiaron el efecto bactericida del hipoclorito de sodio al 5.25% sobre *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* considerados microorganismos frecuentes en conductos infectados y difíciles de erradicar, determinando la capacidad de destruir las bacterias testeadas. La antisepsia de dichos conductos es necesaria y el uso de antisépticos potentes no asegura la esterilización del mismo.

Ohora y col. (1993) realizaron un estudio “in vitro”, para evaluar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio en concentración de 5.25% en diferentes intervalos de tiempo, sobre dos bacterias anaerobias estrictas: *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, considerados microorganismos prevalentes en pulpas necróticas, reportando la eliminación total de las mismas.

Barnard y col. (1996) demostraron que el hipoclorito de sodio es eficaz para destruir *Actinomyces israeli*, microorganismo que ha sido implicado como causa de fracasos en tratamientos de conductos radiculares.

Ayhan y col. (1999), Gomes y col. (2001), Silva y col. (2002), Sassone y col. (2003) compararon la efectividad antimicrobiana de diferentes concentraciones 1% y 5% de hipoclorito de sodio, sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, *Candida albicans*, reportando la eliminación total de los microorganismos en todos los tiempos y concentraciones.

Oncag y col. (2003) compararon la acción del hipoclorito de sodio al 5.25%, Gluconato de Clorhexidina al 2% y Gluconato de Clorhexidina plus al 0,2% con 0.2% de cetrímide (Cetrexidin) sobre un microorganismo anaerobio facultativo (*Enterococcus faecalis*); en dientes unirradiculares. Concluyendo que el Cetrexidim y el Gluconato de Clorhexidina al 2% son más efectivos, tienen más efecto residual antibacteriano y menos toxicidad que el hipoclorito de sodio al 5.25%.

Dentro del grupo de los halógenos encontramos el **yodo**, considerado como uno de los más antiguos antisépticos. Se presenta en laminillas de color gris negruzco, frágiles, de brillo metálico y olor característico (Estrela 1997).

La historia de su empleo se remonta a 1873, y a pesar del gran número de agentes antisépticos presentes en la actualidad sigue empleándose gracias a su eficacia y economía (Goodman & Gilman 1957).



Es un elemento no metálico, soluble en alcohol, activo como antiséptico, de acción rápida, eficaz y poco tóxico (Litter 1983). Al 1 % es un potente germicida y fungicida, destruye bacterias sin acción selectiva, incluyendo esporas, amebas y virus (Delpón 2004). Actúa sobre los hongos matando distintos géneros como *Trichophyton*, *Candida*.

Se desconoce el modo exacto en que el yodo ejerce su efecto bactericida.

Su mecanismo de acción para destruir las bacterias es por combinación con las proteínas bacterianas, precipitándolas.

En ausencia de materia orgánica el yodo es activo a una concentración tan baja que debe suponerse que inhibe selectivamente enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano (Goodman & Gilman 1957).

Yodoformo: Es un triyodometano. Posee propiedades analgésicas y efectos antibacterianos. Es un polvo amarillo limón, de olor desagradable y persistente. Es volátil desprendiendo vapores de yodo por acción del calor. Posee un 96% de yodo. Es insoluble en agua, más soluble en alcohol, y más en aceite o glicerina. La suspensión acuosa de yodoformo no es germicida, solamente un tanto antiséptica. Cuando es aplicada sobre los tejidos desprende con lentitud yodo elemental y en esto se basa su leve acción antibacteriana (Goodman & Gilman 1957). Por lo tanto su acción antiséptica es débil pero persistente (Maresca y col 2002).

A pesar de que su acción se ve disminuida por la presencia de materia orgánica, los preparados tienen exceso de yodo para contrarrestarla.

Tintura de yodo: en solución etanólica que facilita la difusión y penetración. Puede causar trastornos alérgicos.

Yodóforos: son compuestos inestables de yodo, con un transportador orgánico que aumenta su salubridad y constituye un reservorio de liberación sostenida del elemento. El más usado es la yodo-povidona, cuya molécula de transporte es la polivinilpirrolidona. Son menos activos, pero no irritan ni son tan alérgicos como las tinturas. Se pueden utilizar para desinfección de instrumental, pero deben prepararse en el día debido a su inestabilidad (Delpón 2004).

Entre los problemas que puede presentar el yodo y los compuestos que lo contengan están las reacciones alérgicas que no son frecuentes pero pueden existir (Mondragón Espinosa 1995).



Otra de las soluciones utilizadas como irrigante y antiséptico de conductos radiculares que encontramos es el **yodo yoduro de potasio (IPI)** (2% de yodo, 4% de yoduro de potasio y 94% de agua destilada). Empleado durante años por Lambert (1916) y Salle y col. (1937), aunque fue reconocido como antiséptico eficaz recién en 1974 al ser aprobado por el Consejo de Terapéutica Dental de la Asociación Dental Americana (Maresca y col 2002).

Es un compuesto inorgánico que contiene yodo al que libera lentamente. Posee actividad antimicrobiana excelente, mínima toxicidad, no irrita los tejidos (Spangberg y col. 1979, Safavi y col. 1985). Su efecto antibacteriano activo persiste en concentraciones que no son citotóxicas (Spangberg y col. 1973). La solución yodo yodurada ampliamente utilizados en los países escandinavos desde hace muchos años fue también recomendada por Ostrander (1958).

Strinberg (1956) propuso la utilización de una solución yodada en la terapia endodóntica, compuesta por 10% de yodo, 20% de yoduro de potasio, 70 % de agua destilada. Años más tarde Hasselgren y Stromberg (1976) lo consideraron un buen fármaco para ser empleado entre sesiones.

En 1973 Spangberg y col. estimaron que una solución de yodo al 2% y yoduro de potasio al 4% en agua destilada es tan efectiva como el formocresol y el clorofenol alcanforado, pero mucho menos tóxico y de mayor eficacia antiséptica.

Estudios realizados en dientes de monos por Lamers y col. (1980) corroboraron la baja toxicidad del IPI sobre los tejidos, cuando es utilizado como antiséptico en el interior de los conductos.

Safavi y col. (1985) compararon el efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y el yodo yoduro de potasio (IPI), demostrando que el IPI es una alternativa como apósito de conductos.

En un estudio realizado en Loma Linda University (1981), entre varios compuestos estudiados, comprobaron que el yoduro de potasio al 2% ocupaba el primer lugar por su efecto antibacteriano, con ausencia de toxicidad y mejor biocompatibilidad, seguido por eugenol, EDTA, NaClO , Formocresol, Cresatina, y PMCFA (Massillamoni y col. 1981).

La eficacia antibacteriana de hidróxido de calcio, paraclorofenol alcanforado, cresofen, yodo yoduro de potasio, fue evaluada por Gencoglu y Lekci (1992) sobre cuatro microorganismos anaerobios, *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, a los 10 y 15 minutos. El IPI fue efectivo sobre *F. nucleatum* y *P. gingivalis* con baja irritación



sobre los tejidos, mientras los otros medicamentos fueron efectivos sobre todos los microorganismos testeados.

Molander y col. (1999) evaluaron el efecto antimicrobiano del hidróxido de calcio en conductos pre-tratados con IPI, y valoraron si la acción del hidróxido de calcio podría ser más efectivo si:

- 1) Los conductos fueran pretratados con IPI.
- 2) Si el período de obturación se extendiera a 2 meses o más.

Determinaron que, si bien desde el punto de vista cuantitativo el IPI no aumenta el poder antimicrobiano del hidróxido de calcio, reduce la persistencia de *Enterococcus faecalis*, microorganismo que juega un importante rol en conductos infectados.

Peciulien y col. (2001) valoraron el rol que desempeñan las levaduras, las cadenas entéricas gram negativas y las especies *Enterococcus*, y el efecto antimicrobiano del IPI sobre estas bacterias, demostrando que el IPI mejora el efecto antimicrobiano en el tratamiento.

La persistencia de bacterias anaerobias en el conducto radicular a menudo conduce al fracaso endodóntico. Una razón podría ser la retención en los túbulos dentinarios de microorganismos, por ello Basson y Tait (2001) estudiaron la efectividad de algunos medicamentos como IPI, hidróxido de calcio y clohexidine al 2%, para eliminar *Actinomyces israeli*. Determinaron que la solución de clohexidina al 2% fue más efectiva en los períodos estudiados (3-7-60 días) y en las diferentes profundidades, seguido por el IPI, mientras el hidróxido de calcio fue el menos eficaz.

En 1990 Safavi y col. demostraron “in vitro”, que el IPI penetra en los túbulos dentinarios y puede destruir las bacterias aunque su eficacia antimicrobiana es corta.

Fuss y col. (2002) realizaron un estudio “in vitro” para evaluar la habilidad del hidróxido de calcio, hidróxido de calcio con IPI, hidróxido de calcio con cobre activado electroforéticamente sobre la viabilidad bacteriana en los túbulos dentinarios y demostraron que el cobre activado electroforéticamente y el IPI como aditivos pueden mejorar significativamente las propiedades antibacterianas del hidróxido de calcio en los túbulos dentinarios.

Haenni y col. (2003) evaluaron el efecto químico y antimicrobiano de la clásica pasta de hidróxido de calcio/solución salina frente a la pasta de hidróxido de calcio/ clorhexidina; hipoclorito de sodio y yodo yoduro de potasio, determinando



que el pH no es modificado por el uso de las diferentes soluciones, y no incrementan la actividad antimicrobiana.

En un elemento con ápice incompletamente desarrollado y diagnóstico de necrosis y gangrena pulpar es necesario la limpieza y preparación del conducto para eliminar desechos, toxinas y bacterias, seguidas por la colocación de un medicamento o pasta en el mismo, capaz de inducir la formación de la barrera calcificada apical. (Spangberg y Engstrom 1968, Walton y Langeland 1978, Lasala 1992, Walton y Torabinejad 1994, Herbel 1994). A tal fin, uno de los materiales empleados es el hidróxido de calcio, que si bien no está caracterizado como antiséptico, los estudios han demostrado que es un agente antimicrobiano eficaz. (Stuart y col. 1991, Barbosa y col. 1997). Además, consideran a este medicamento un factor capaz de favorecer el potencial biológico en la zona periapical, sana o lesionada, facilitando su reparación. Siendo su principal indicación en dientes permanentes jóvenes, con ápice incompleto, con el fin de estimular la formación de una barrera apical y una vez obtenida la misma, obturar el conducto, en forma definitiva, con las técnicas convencionales (Torneck y Smith 1970, Ham y col. 1972, Piekoff y Trott 1976, Holland y col. 1979/80, Weine 1997, Pallarés-Sabater 2000).



HIDRÓXIDO DE CALCIO

El hidróxido de calcio fue introducido a la terapia endodóntica por Herman en 1920.

Es un polvo blanco que se obtiene por calcinación del carbonato cálcico, tiene la propiedad de formar carbonato de nuevo al combinarse con el anhídrido carbónico del aire. Este polvo granular, amorfo y fino posee marcadas propiedades básicas, su pH es muy alcalino, aproximadamente de 12.4 a 13 lo cual le confiere propiedades bactericidas (Lasala 1992, Mondragón Espinosa 1995).

Al ser una sustancia tan alcalina llega a ser cáustica, provocando una reacción con hemólisis y coagulación de albúminas.

Su densidad es de 2.1, puede disolverse ligeramente en agua, es insoluble en alcohol, y algo en glicerina; cuando se utiliza este último como vehículo mejora sus propiedades, ya que le confiere a la pasta densidad y le permite penetrar en profundidad (Rivera y William 1994, Gomes y col. 2002). Al combinarse con el anhídrido carbónico del aire tiene tendencia a formar carbonato de calcio de nuevo, por lo que se recomienda tener bien cerrado el recipiente que lo contiene, siendo preferible guardarlo en envases de vidrio color ámbar (Mondragón Espinosa 1995).

El hidróxido de calcio se ha convertido en los últimos años en el material más utilizado en odontología. Su uso deriva de los efectos beneficiosos, tales como, control microbiano, disolvente del material orgánico, acción sobre el proceso inflamatorio, control del exudado de la zona periapical, control de la reabsorción radicular que normalmente se produce en las lesiones periapicales crónicas, reabsorciones inflamatorias externas producidas por traumatismos, luxaciones, implantes etc., control de la reabsorción dentinaria interna, control de los defectos producidos por la reabsorción dentinaria externa e interna, manejo de las perforaciones, estimular la formación de tejido duro y sirve como material de obturación temporaria entrecitas (Binnie y Rowe 1973, Heithersay 1975, Andreasen 1981, Byström y col. 1985, Çaliskan y col.1998, Wadachi y col. 1998).

Hasta el momento es el medicamento de elección por sus propiedades:

- Alcalino-cáustico
- Antiséptico
- Bactericida-bacteriostático
- Astringente
- Estimulante de la formación de dentina reparativa.



Las propiedades del hidróxido de calcio derivan de la disociación iónica en iones calcio e hidroxilos, siendo la acción de estos iones sobre los tejidos y las bacterias lo que explican las propiedades biológicas y antimicrobianas de esta sustancia. Son responsables de tornar el medio alcalino (Estrela y col. 1995). Esta variación de pH se refleja en el crecimiento bacteriano ya que altera el metabolismo enzimático de las mismas, a partir de la influencia de un gradiente de pH existente en la membrana citoplasmática (Gomes y col. 1996, Estrela 1997).

Estrela y Pesce (1996) analizaron químicamente la liberación de iones hidroxilos e iones calcio que es liberado al colocar esta sustancia en el interior del conducto radicular, concluyendo que el 45.89% se disocia en iones hidroxilos y el 54.11% en iones calcio.

Sobre esta disociación, ciertas particularidades fueron observadas en diferentes trabajos de investigación tales como los realizados por Sciaky y Pisanti (1960) quienes intentaron verificar el origen de los iones calcio presentes en los puentes dentinarios, no consiguiendo observarlos cuando las protecciones de pulpas dentarias expuestas de perros eran realizadas con hidróxido de calcio que contenían calcio radioactivo (Ca 45), ni cuando se les inyectaba esta solución intravenosa. Mientras otros trabajos, como los realizados por Heithersay (1975), Holland y col. (1982), evidenciaban la participación activa de los iones calcio en la mineralización (formación de barrera dentinaria), osteocementarias (sellante biológico apical), en los túbulos dentinarios y en otras áreas involucradas en la mineralización. Heithersay (1975) refiere sobre la importancia de los iones calcio en la reducción de la permeabilidad de nuevos capilares del tejido de granulación de dientes despulpados, disminuyendo así la cantidad de líquido intercelular. Por lo tanto, una alta concentración de iones calcio puede activar la aceleración de la pirofosfatasa, miembro del grupo de enzimas fosfatasas, que tienen una importante función en el proceso de mineralización (Gomes y col. 1996, Estrela 1997).

Este efecto se debe a que los túbulos dentinarios quedan parcialmente ocluidos, debido a la propia presencia del hidróxido de calcio y/o a la formación de precipitados intratubulares. A largo plazo se debe, a la remineralización de la dentina expuesta. Caliskan y col. (1998), realizaron un estudio con microscopia electrónica de barrido (MEB), y determinaron que cristales de hidróxido de calcio estaban presentes sobre la superficie del barro dentinario, pero no penetraron dentro de los túbulos. Otros investigadores como Calt y Server (1999), expresaron



que el hidróxido de calcio se mantiene como una capa fina sobre las paredes del conducto, sin penetrar en los mismos.

Tronstad y col. (1981) analizaron la difusión de iones hidroxilos a través de los túbulos dentinarios y el posible aumento del pH en los tejidos. Utilizaron para este trabajo dientes de monos con formación radicular completa e incompleta, determinando que los elementos tratados con hidróxido de calcio en diferentes períodos de tiempo y con ápice completamente desarrollados el pH en la dentina próximo a la pulpa fue de 8,0 a 11,1 y en la dentina periférica de 7,4 a 9,6 mientras los diente con formación radicular incompleta, toda la dentina mostró un pH de 8,0 a 10,00, en el cemento de 6,4 a 7,0., en dientes con necrosis pulpar presentaron un pH de 6,0 a 7,4 tanto en dentina, cemento como en el ligamento periodontal.

Frente a los resultados, concluyeron que, la colocación de hidróxido de calcio en el interior del conducto puede influenciar favorablemente sobre el ambiente local, por el cambio de pH ácido a un pH alcalino, imposibilitando la actividad osteoclástica y estimulando el proceso de reparación de los tejidos.

En 1999 Estrela y col. valoraron el efecto antimicrobiano indirecto del hidróxido de calcio en túbulos dentinarios infectados con *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, y *Pseudomonas aeruginosa*, en períodos de 0, 48, y 72 hs. y 7 días. Los resultados mostraron que fue inefectivo por su acción a distancia después de 7 días sobre los microorganismos testeados.

La alcalinización ocurre más lentamente en la región apical que en la zona cervical, debido a que en esta porción hay mayor cantidad de túbulos y mayor diámetro de los mismos, lo que facilita la difusión de los iones hidroxilos a través de la dentina (Carrigan y col. 1984, Nerwich y col. 1993).

Sjogren y col. (1990) sugieren que la posibilidad de alcalinización de la dentina, se produce de 1 a 7 días. Autores como Nerwich y col. (1993) sostienen que la alcalinización se produce en períodos que oscilan entre 7 y 30 días, por lo que el hidróxido de calcio proporciona una efectiva desinfección del conducto radicular.

Kodukula (1988) citado por Estrela (1995) expresan que en condiciones de un elevado pH, la actividad enzimática de las bacterias es inhibida. Este efecto influye en la liberación de iones hidroxilos y es capaz de alterar la integridad de la membrana citoplasmática por injurias químicas a los componentes orgánicos y transporte de nutrientes, o por medio de la destrucción de fosfolípidos o ácidos



grasos insaturados de la membrana citoplasmática, observados en los procesos de peroxidación lipídica, siendo esta una reacción de saponificación.

Cvek (1972) le atribuye un 96% de éxito a aquellos casos que presentaban ápice incompletamente desarrollados y fueron tratados con hidróxido de calcio a largo plazo, refiriendo que su pH altamente alcalino y su presencia física dentro del conducto radicular, le confieren un potente efecto antimicrobiano. El mecanismo de esta actividad no es bien conocido. Además, se conoce que no es efectivo sobre todas las especies bacterianas presentes en conductos infectados, por lo que la asociación con otros medicamentos podría aumentar la eficacia sobre las bacterias residuales del sistema del conducto radicular (Siqueira 1999).

La actividad antibacteriana fue avalada años más tarde por Cvek y col. en 1976, quienes comprobaron clínica, microbiológica y radiográficamente el efecto del tratamiento endodóntico de 141 incisivos permanentes. Los resultados mostraron que en las muestras bacteriológicas tomadas de los conductos radiculares después de tres meses, un 90% de los casos no se observó crecimiento bacteriano, independientemente del estado bacteriológico que presentaban antes de la obturación.

En 1985 Safavi y col., estudiaron la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio y el yodo yoduro de potasio en 1030 dientes humanos. Los resultados demostraron menor número de cultivos positivos, cuando el hidróxido de calcio fue utilizado (77,4%) seguido por el IPI (66,1%) y 63,6% para el grupo control (sin medicación), considerada una diferencia significativa.

En 1989 Haapasalo remarcó la importancia del género *Bacteroides* en las infecciones de conductos radiculares infectados, determinando que las infecciones son mixtas, con predominio de bacterias anaerobias y anaerobias facultativas y que el hidróxido de calcio demostró ser efectivo luego de una semana de permanencia en el conducto radicular a través de muestras bacteriológicas tomadas durante el trabajo.

Kontakiotis y col. (1995) estudiaron “*in vitro*” la acción del hidróxido de calcio sobre la flora anaerobia encontrada en conductos radiculares infectados, particularmente anaerobias obligadas y facultativas. El número de bacterias recuperadas en el grupo control fue significativamente mayor. Hasta el momento no se ha detectado resistencia específica.

Otra forma de acción antimicrobiana fue demostrada por Safavi y Nichols (1993), Barthel y col. (1997), quienes estudiaron el efecto del hidróxido de calcio



sobre los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos, demostrando que los iones hidroxilos pueden hidrolizar los LPS presentes en la pared celular de las bacterias, degradando los lípidos y neutralizando su efecto residual después de la lisis celular.

El mecanismo de acción del hidróxido de calcio en el control de la actividad enzimática bacteriana, permitió a Estrela (1997) levantar una hipótesis sobre una inactivación enzimática irreversible, en condiciones extremas de pH, en largos períodos de tiempo, como así también de una actividad enzimática bacteriana temporaria cuando el pH retorna al ideal. La primera fue demostrada al determinar “in vitro” el efecto antimicrobiano directo del hidróxido de calcio sobre diferentes bacterias, tales como, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp., durante intervalos de tiempo de 0, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72 horas y 7 días. Observaron alteración de la integridad de la membrana citoplasmática de los microorganismos analizados, favoreciendo su destrucción, tanto en cultivos puros como mixtos, esta destrucción ocurría en un período de 72 horas.

Con respecto a la inactividad enzimática reversible los resultados mostraron que el hidróxido de calcio fue inefectivo por acción a distancia en períodos de 7 días contra ciertos microorganismos, tales como *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Bacillus subtilis* (Estrela 1997, Sukawat y Srisuwan 2002). Coincidiendo con los trabajos realizados por Stevens y Grossman (1983), quienes expresaron que el hidróxido de calcio presentó un halo de inhibición bacteriana pequeño frente a ciertos microorganismos presentes en conductos infectados especialmente el *Streptococcus faecalis*.

Siqueira Jr. y col. (2001) expresaron que la erradicación de las bacterias del conducto representa un punto muy importante en el éxito del tratamiento. Para ello evaluó la acción antifúngica de algunos medicamentos tales como, hidróxido de calcio, hidróxido de calcio con PMCF/ glicerina, sobre alguna variedad de hongos, los resultados determinaron que estos últimos tiene mejor y mayor efecto antifúngico y afirma además que estos medicamentos podrían contribuir a dirigir el éxito del tratamiento.

Al hidróxido de calcio se le adjudica potencial osteogénico u osteoinductor, lo que añade beneficios como la estimulación biológica de depósito de tejidos duros y en su defecto, estimulación del proceso de reparación (Holland y col. 1982).



Es el medicamento utilizado en la inducción de una barrera dura apical, la cual puede estar compuesta de diferentes tejidos; su mecanismo de acción aún no es bien conocido.

Heithersay (1970), considera que el epitelio es resistente a los cambios inflamatorios. Por lo tanto, es posible que la vaina radicular epitelial de Hertwig sobreviva y sea capaz de continuar su papel de organización y desarrollo radicular, siempre que el proceso inflamatorio sea resuelto.

Algunos autores como England y Best (1977) no observaron la vaina epitelial de Hertwig en ninguna de las secciones seriadas realizadas en los ápices, por lo cual afirman que la reparación apical parece ser independiente de la misma.

Ham y col. (1972) evaluaron la inducción del cierre apical en dientes despulpados inmaduros de monos. Los resultados de este trabajo indican, que puede ocurrir reparación apical después del tratamiento con hidróxido de calcio y que no hay continuación en la formación radicular. Ninguno de los dientes examinados mostró un cierre completo; el tejido duro que se formó fue identificado como cemento celular continuo con el de las superficies laterales radiculares. En elementos con ápices muy amplios se pudo observar crecimiento de hueso dentro del conducto radicular. Por lo tanto la formación de cualquier material calcificado en el ápice en cantidad suficiente para bloquear el pasaje de un instrumento endodóntico es deseable ya que facilitaría el tratamiento endodóntico conservador.

En dientes humanos estudios realizados por Heithersay (1970), Piekoff y Trott (1976) mostraron evidencias histológicas de formación de barrera apical, ésta, correspondería a un material calcificado incremental y aposicional, con inclusiones celulares o sin ellas en el conducto. Además de la dentina radicular original ellos observaron formación de dentina secundaria, sin embargo encontraron una matriz laminar calcificada acelular y atubular coronalmente.

En 1984, Marcantonio Jr. y col. realizaron una investigación introduciendo en el tejido subcutáneo de ratas hidróxido de calcio + polietilenglicol 400, Procal y Life, en períodos de 2, 3, 7, 21 y 60 días. Los resultados permitieron demostrar que todos los materiales testeados se comportaron como irritantes del tejido conjuntivo subcutáneo de ratas, con la aparición de tejido mineralizado, tendiendo a la formación de una barrera calcificada que fue ampliamente demostrada a los 21 días aproximadamente, y la presencia de un infiltrado inflamatorio tipo mixto. A los 60 días se observó una cápsula reaccional semejante a la anterior, con una superficie tubular íntegra.



En lo que respecta al tiempo en que se produce la apicoformación, las opiniones son variadas. Grossman (1981) expresa que se completan en un período que va de seis meses a un año como máximo. Otros como Piekoff y Trott (1976), publicaron un caso que requirió cuatro años de tratamiento para completar la formación radicular, algunos, como Herbel (1994) observó varios tratamientos en que la formación de la barrera apical demoró dos años o más; Vicente Gómez y Miñana Laliga (1990) comunicaron un caso en donde la barrera apical se inició recién después de un año de tratamiento.

Las investigaciones sobre las características de este medicamento, tales como su potencial antimicrobiano, aspectos físico-químicos, histocompatibilidad, toman credibilidad en su elección; en algunas situaciones clínicas, el uso de diferentes vehículos tales como agua y solución salina podrían aumentar sus propiedades. Razones científicas indican que vehículos hidrosolubles mejoran las características químicas de disociación, difusibilidad y capacidad de relleno, las cuales son decisivas en el comportamiento, cualidades antimicrobianas y en la inducción y reparación de los tejidos (Estrela y col. 1999, Holland y Gonzalez 1999).

Estrela y Pesce (1996) sostienen que la liberación de iones de calcio e hidroxilos, es el resultado de la hidrosolubilidad y viscosidad de los vehículos y de la relación polvo-líquido, los cuales pueden alterar el efecto biológico sobre los microorganismos y tejidos. Con tal fin, analizaron los iones de calcio liberados por pastas de hidróxido de calcio, comparando tres vehículos: solución salina, anestesia y polietilenglicol 400. Observaron que el vehículo que permitió mayor liberación en el período de 60 días, fue el anestésico, manteniéndose estable entre 45 y 60 días. En la pasta donde se utilizó solución salina, los valores fueron intermedios cuando se las comparó con otras soluciones estabilizadas de 30 a 60 días. La solución de polietilenglicol 400 mostró un porcentaje de liberación mínima, en los primeros días, manteniéndose gradual y uniforme, durante los 60 días.

Simon y col. (1995) evaluaron el efecto de cuatro vehículos sobre el hidróxido de calcio y la liberación del ion calcio, estudiaron el hidróxido de calcio: con agua, solución salina normal, monoclorofenol alcanforado y propilenglicol. Los resultados de este estudio indicaron que el propilenglicol induce favorablemente a la liberación de los dos iones.

Los vehículos viscosos (polietilenglicol-propilenglicol), son sustancias solubles en agua que permiten la liberación de iones calcio e hidroxilos más lentamente y por períodos de tiempo más prolongados en el interior de los



conductos radiculares. Además incorporan mayor cantidad de hidróxido de calcio lo que le confiere a la pasta mejor consistencia, facilitando su manipulación y compactación dentro del conducto (Gomes y col. 2002). Algunos investigadores han recomendado el uso de vehículos oleosos, altamente bactericidas, a mínimas concentraciones y sumamente efectivos sobre ciertos microorganismos resistentes a la terapia endodóntica. Byström y col. (1985), Ruddle (2002) expresaron que el uso del PMCFA con el hidróxido de calcio refuerza la acción antibacteriana y retarda su reabsorción, más tarde confirmado por Sukawat y Srisuwan (2002) quienes compararon la efectividad antimicrobiana de diferentes fórmulas de hidróxido de calcio, tales como: hidróxido de calcio con agua destilada, hidróxido de calcio con clorhexidina al 2%, e hidróxido de calcio con PMCFA, sobre *Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces* spp., siendo el hidróxido de calcio con PMCFA el más efectivo.

Durante largos períodos se han empleado diferentes fármacos con el objeto de controlar los microorganismos presentes en conductos radiculares infectados y ápice incompletamente desarrollados. El hidróxido de calcio es el medicamento que puede emplearse para curas oclusivas o temporales. Aplicándolo en forma de pasta dentro del conducto radicular, se obtienen resultados favorables. Ya que está demostrado que produce control de la infección y reduce la incidencia de síntomas entre citas, debido a su alto poder higroscópico, puesto que actúa en el control del exudado. Es un agente catalizador en la modificación del pH en los tejidos periapicales, para favorecer el proceso de cicatrización. Además, induce el cierre apical en la apicogénesis y la apicoformación.

Cualquiera sea el camino seguido para alcanzar el cierre apical que permita completar luego la obturación del conducto con un material adecuado, se habrá logrado el objetivo buscado: la recuperación permanente del elemento dentario.

OBJETIVOS





OBJETIVOS GENERALES

- Analizar comparativamente la efectividad de tres tratamientos endodónticos que permitan la eliminación de la infección, la reparación ósea y la formación del neo-ápice en dientes inmaduros, con diagnóstico de necrosis pulpar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar comparativamente “*in vivo*” mediante un método bacteriológico el efecto del hipoclorito de sodio, del yodo yoduro de potasio y del paramonoclorofenol alcanforado, como agentes antisépticos para neutralizar en dientes incompletamente desarrollados, la microflora de sus conductos radiculares infectados.
- Evaluar mediante estudios clínico-radiográficos las respuestas reparativas de los tejidos ápico-periapicales en dientes que fueron sometidos a tratamientos de apicoformación, utilizando los agentes antisépticos citados y obturados con una pasta a base de hidróxido de calcio.
- Comprobar si existe una posible correlación entre la persistencia de gérmenes en el conducto y el tiempo que requiere la lesión para su reparación.

MATERIALES Y MÉTODOS





MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio eminentemente clínico, se seleccionaron 21 dientes de pacientes niños y adolescentes, que presentaban cuadros clínicos identificados habitualmente como, “**necrosis pulpar en diente permanente con ápice inmaduro**”.

El total de pacientes fue dividido aleatoriamente en tres grupos (A, B y C) de siete pacientes cada uno. La diferencia entre éstos radicó sólo en el tipo de irrigante y de antisepsia tópica empleada en el tratamiento.

La selección de los casos se hizo bajo el siguiente criterio de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos.
- Niños y adolescentes cuyas edades estaban comprendidas entre los 7 y 20 años.
- Dientes permanentes uni, bi, y multirradiculares con ápices incompletamente desarrollados y diagnóstico de necrosis pulpar.
- Coronas dentarias sanas o con lesiones (fracturas o caries) de escasa magnitud, sin que expusieran directamente la cavidad pulpar.

Se consideraron criterios de exclusión los siguientes aspectos:

- Haber recibido medicación antibiótica en los tres meses previos al inicio del tratamiento.
- Presencia de caries o fracturas coronarias con exposición directa al medio bucal.
- No aceptar las condiciones expuestas en el consentimiento informado.

En la Historia Clínica, confeccionada *ad-hoc* para este trabajo, (Fig. 1) se consignaron, además de los datos personales del paciente, antecedentes relacionados a su historia general, tanto remota como actual, como así también, otros datos que fueran relevantes, para pasar, de inmediato, a indagar específicamente sobre los antecedentes y el estado actual del diente afectado.

En el caso de pacientes niños, toda información referida al origen de la lesión, como la evolución de la misma, fuera ésta una caries o un traumatismo (cómo, dónde, cuándo ocurrió, tratamiento realizado, tiempo transcurrido, medicación recibida, etc.) se obtuvieron a través del relato de la madre, padre o tutor responsable.



HISTORIA CLÍNICA

Nombre y Apellido:

Domicilio:

Edad: T.E.: D.N.I.:

ANAMNESIS

- General
 - Remota:.....
- General
 - Actual:.....

Antecedentes de Interés:

.....

- Elemento Afectado:
- Local Remota
 - Antecedentes del Caso:.....
 -
 -

.....

- Local Actual
 - Dolor Espontáneo:
 - Dolor Provocado: |

EXAMEN CLÍNICO

Inspección: Caries Abrasión Fractura

Exploración: Cavidad de Caries: Superficial Profunda Cámara Pulpar: Abierta Cerrada

Percusión: Vertical: Positiva Negativa Horizontal: Positiva Negativa

TEST DE VITALIDAD

Positivo: Negativo

Test Térmico:

Test eléctrico:

EXAMEN RADIOGRÁFICO

Descripción de la imagen radiográfica:.....

.....

.....

Tratamiento Indicado: Grupo:.....

Fig. 1: Historia Clínica confeccionada ad-hoc para este trabajo



El examen clínico tuvo tres fases: La primera fue de inspección, en la que se obtuvieron y registraron datos referidos a los tejidos duros del diente (fracturas coronarias, caries, abrasiones, cambio de color etc.) y a los tejidos blandos adyacentes (cambio de color en encía y mucosa, boca de fístula, edema, tumefacción etc.).

La segunda fase fue exploratoria y en ella se analizó el grado de destrucción que presentaba la corona del elemento dentario, si la cámara estaba abierta o cerrada, si el diente tenía movilidad, si las percusiones verticales y horizontales eran positivas o negativas, si había dolor a la presión digital a nivel del ápice etc.

La tercera fase incluyó los exámenes complementarios del diagnóstico: Las pruebas de vitalidad pulpar (test al frío y al calor) y el examen radiográfico.

Estudio radiográfico

- Se utilizó un aparato de Rayos Roentgen Orix- 65/10, Ardet Italy- 220 v / 50 Hz., Cilindro Colimador Ardet Italy F.S.D. 20 cm. I.F.O. 55mm.
- Películas dentales periapicales simple (31x 41) Ultra Speed marca Kodak (USA).

Para la obtención de las imágenes se utilizó, la Técnica Paralela, cuyo fundamento radica en que la película radiográfica se mantiene paralela al eje largo del elemento dentario y el rayo central es dirigido perpendicularmente a la cara bucal del diente, de tal manera que al incidir forme un ángulo recto con el eje largo del diente y la película.

Esta orientación minimiza la distorsión geométrica de la imagen. No obstante, para reducir aún más las posibles deformaciones, es importante que la fuente de Rayos Roentgen esté situado relativamente alejada de los elementos dentarios, por lo tanto en este estudio las tomas radiográficas se hicieron desde una distancia de 30 cm. De esta manera se logra isometría e isomorfismo factores éstos que conducen a la obtención de imágenes con menos distorsión y mayor definición.

Las películas radiográficas fueron procesadas en baños o soluciones Reveladoras- Kodak (USA) a temperatura óptima de 22° C

Si los pacientes eran menores de edad, el padre, madre o tutor debían firmar el consentimiento informado. El utilizado en estas circunstancias fue tomado de Simonian (1998) y se muestra un modelo en la (Fig. 2). En él se explican y detallan todos los pasos del tratamiento a seguir y las posibles consecuencias.



FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO

Por la presente declaro haber sido debidamente informado por la Od. Gladys Irene Evjanián, acerca de las características y condiciones del estudio sobre:

“Evaluación comparativa “in vivo” de tres técnicas de Apexificación” dirigido por la Prof. Dra. Carmen Visvisián, a realizarse en la Facultad de Odontología de la U.N.C.

Asimismo CERTIFICO que todas las preguntas referidas a dicho estudio han sido respondidas a mi total satisfacción. Por lo tanto, libre y voluntariamente doy mi consentimiento para que se realicen/n el/los siguientes procedimientos:

.....
.....

en oportunidades, una vez cada horas/días/meses, a mi hijo/a:.....

Hago expresa reserva del derecho a interrumpir la colaboración en el momento en que lo desee, quedando libre de todo compromiso posterior y sin que ello signifique un antecedente desfavorable ante esta institución. Se deja constancia que por la colaboración de la que doy mi consentimiento mediante la presente autorización renuncio a toda forma de retribución o indemnización, cualquiera sean las consecuencias de mi participación.

APELLIDO Y NOMBRE: _____

DOCUMENTO DE IDENTIDAD (Tipo y número): _____

LUGAR DE TRABAJO: _____

FIRMA: _____ FECHA: _____

Fig. 2: Formulario de Consentimiento informado



INTERVENCIÓN ENDODÓNTICA

PRIMERA SESIÓN CLÍNICA

Las etapas y pasos básicos del tratamiento realizados en la primera sesión fueron, en todos los casos, los siguientes:

- Desinfección del campo operatorio externo con Merthiolate tintura, (Trimerosal etilendiamina edetato sódico. Lab. Química Medical Argentina S.A.C.I. Pcia. de Buenos Aires).
- Aislamiento relativo con gasas estériles y topicación de la zona con solución de yodo povidona (Pervinox-Phoenix S.A.I.C.F-Argentina- Buenos Aires).
- Anestesia superficial tópica, (Sultan Topex-Englewood N.J.), e insensibilización del sector con anestesia infiltrativa (Totalcaína Forte- carticaína Clohidrato 4% L-Adrenalina 1:100.000-Laboratorio Bernabó- Buenos Aires-Argentina), inyectada en el fondo del surco vestibular, con agujas descartables (Misawa-Medical Industry CO:, LTD. Tokio-Japon).
- Remoción del tejido cariado si existiera y/o alisamiento de las irregularidades de los bordes cavitarios o de la fractura con alta velocidad, turbina Kavo Super-Torque 640 C (Made in Germany).
- Aislamiento del campo operatorio con dique de goma (Dental Dam-nic tone-powder free hipoalergenic-México) y clamps (Hygienic USA- para incisivos superiores N° 210, incisivos inferiores N° 211, premolares N° 208, molares N° 201- 202). En casos muy particulares se utilizó aislamiento atraumático (La gotita-Poxipol-Buenos Aires) o Wedjets (Hygienic USA) (Fig.3).



Fig. 3. Aislamiento absoluto del campo operatorio

- Desinfección del campo operatorio (diente, goma y clamp).



- Insinuación del abordaje empleando piedras redondas de diamante N° 6 o N° 8 (Nani-Japon) con alta velocidad, turbina Kavo Super-Torque 640 C (Made in Germany) (Fig. 4).

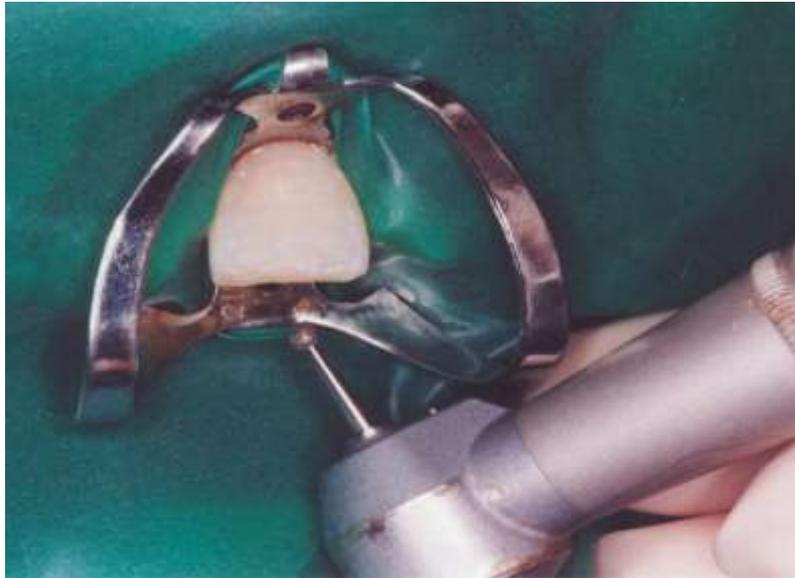


Fig. 4: Insinuación del abordaje con alta velocidad

- Limpieza y desinfección del campo operatorio con gasas estériles y de la corona dentaria con cepillos accionados mecánicamente, utilizando una sustancia desinfectante (Tubulicid-Dental Therapeutics AB), a los efectos de reducir al máximo la posible contaminación de la superficie coronaria (Fig. 5 A y B).



Fig. 5 A: Limpieza del campo operatorio



Fig. 5 B: Limpieza de la corona dentaria



- Lavado profuso del campo operatorio y de la corona dentaria con agua destilada estéril (Lab. Duncan-Argentina), llevada con jeringa descartable de 2,5 ml (BD Plastipak-Becton Dickinson Ltda. Brasil) con aguja corta de 0,80 x 40 de igual procedencia.
- Secado con gasas estériles.
- Profundización del abordaje y acceso a la cámara pulpar con fresas redondas estériles N° 6 o N° 8 (Jota-Suiza-Switzerland) utilizando micromotor Kavo 2320-Germany, sin dejar zonas retentivas (Fig. 6).



Fig. 6: Apertura cameral (Visión indirecta)

Estudio microbiológico

Recolección, transporte y conservación de las muestras.

Concluído el acceso endodóntico, se dio por iniciado el estudio microbiológico de los conductos.

- Con el fin de facilitar la obtención de la muestra, se inundó la cavidad pulpar con agua destilada estéril, llevada con jeringa de tuberculina hipodérmica descartable de 1ml y aguja 25G x 5/8” 5x16 LB/BL (Darling-Corea) (Fig. 7).



Fig. 7: Inundación de la cavidad pulpar con agua destilada estéril.

- Para obtener el material destinado al cultivo, se introdujeron en el conducto secuencialmente tres conos de papel absorbente estériles de tamaño acorde a su amplitud (Roeko-Germany) (Fig. 8).



Fig. 8: Obtención del cultivo con conos de papel absorbente.



- Al obtener las muestras, se tuvo la precaución de protegerlas del efecto deletéreo del oxígeno, colocándolas en un medio de transporte apropiado (VMG III) hasta su procesamiento (Fig. 9).



Fig. 9: Medio de transporte

CULTIVO

Para el cultivo bacteriano se utilizó el medio de transporte VMG III y la Solución de Stock III.

Composición de los medios de transporte utilizados

Medios de Transporte VMG III

- a) Agua destilada.....900 ml
Agar agar purificado2 g

- b) gelatina.....50 g
triptona.....1 g
Clorhidrato de cisteína.....0,5 g
ácido tioglicólico.....0,5 ml

- c) Solución de sales stock III...100 ml



Solución de sales stock III

Acetato fenilmercúrico.....	0,03 g
Cloruro de Calcio + 6 H ₂ O.....	2,4 g
Cl K	4,2 g
Cl Na.....	10 g
Mg SO ₄ –7 H ₂ O.....	1 g
Glicerofosfato de Na.....	100 g
Azul de metileno.....	0.02 g
Agua destilada.....	1.000 ml

El acetatofenilmercúrico se disuelve por calentamiento en 800 ml de agua y luego se agregan las otras sales. Se completa el volumen con agua destilada y se guarda a temperatura ambiente.

Preparación de VMG III

- 1) Disolver a) por ebullición
 - 2) Enfriar a 50 °C
 - 3) Agregar b)
 - 4) Agregar c) 100 ml
 - 5) Ajustar pH a 7.5 con HONa 1 N
 - 6) Distribuir en botellitas de 3 ml y esterilizar por tindalización, 100°C, 15 minutos 3 días consecutivos.
- Para fluidificarlo se colocó a baño maría durante 10 minutos (Fig. 10).



Fig. 10: El medio de transporte se colocó a baño maría durante 10 minutos para fluidificarlo.



- Luego se enfrió bajo chorro de agua corriente, con el objeto de disminuir al máximo la presión parcial de oxígeno (Fig.11).



Fig. 11: Se enfrió bajo el chorro de agua corriente con el objeto de disminuir al máximo la presión parcial de oxígeno.

El tiempo transcurrido entre la recolección y la siembra en ningún caso fue superior a las dos horas.

El medio de transporte se abrió en el momento de colocar los conos de papel, evitando la entrada de oxígeno y contaminaciones (Fig. 12 A). Los conos deben quedar totalmente incluidos en el medio y el tubo muy bien cerrado (Fig. 12 B). Las muestras tal como se dijo, deben ser llevadas a laboratorio bacteriológico antes de las dos horas de su recolección, para ser sembradas en medios de cultivo adecuados e incubadas en estufa a 35° C.



Fig. 12 A: Introducción del cono del papel en el medio de transporte



Fig. 12 B: conos de papel incluidos en el medio de transporte



Medios de cultivo utilizados

Brucella Agar Sangre de Carnero (Aislamiento primario)

Agar Brucella.....	4,3 g
Solución de hemina.....	0,1 ml
Vit K.....	0,1 ml (concentración final 1 mg/ml)
Agua destilada csp.....	100 ml
Solución de hemina.....	(5 mg/ml)
Hemina bovina.....	0,5 g
HONa (1 N).....	10 ml
Agua destilada.....	90 ml

La hemina se disuelve en HONa. Se agrega el agua para autoclavar por 15 minutos a 121°C.

Brucella Agar Sangre Selectivo

Se agregó al medio Brucella agar sangre de Carnero:
Amicacina (500mg/2ml) (concentración final 50 ug/ml)
Colistina (100 mg/2 ml) (concentración final 5 ug/ml)
Agua destilada csp 100 ml

Procesamiento

Examen microscópico directo:

Se hizo mediante coloración de Giemsa para tener una estimación de los diferentes morfotipos bacterianos.

No se realizó recuento ni clasificación de ellos, dado que no se consideró de valor diagnóstico para los objetivos propuestos en este trabajo.

Siembra y medios de cultivo.

Se agitó la muestra en vortex durante 30 segundos hasta su completa homogeneización. Luego se sembró 0,1 ml en diferentes medios de cultivo. La siembra fue efectuada por *agotamiento* en cuatro cuadrantes. Los medios utilizados fueron:

- Brucella agar sangre suplementado con vitamina K y hemina (BA). Este es un medio de aislamiento primario para bacterias anaerobias, enriquecido



con nutrientes y suplementado con vitamina K que permite la recuperación de bacilos gram negativos pigmentados y con hemina para mejorar el desarrollo de algunos *Bacteroides spp.* y bacilos gram negativos pigmentados.

- b) Brucella agar sangre lacada suplementado con vitamina K y hemina adicionado con colistina y kanamicina (BAS). La sangre lacada acelera la producción de pigmentos, los antibióticos hacen selectivo el medio para anerobios impidiendo el desarrollo de microorganismos facultativos como enterobacterias y estafilococos, facilitando la identificación de los diversos tipos culturales de bacterias anaerobias.
- c) Agar sangre de carnero. Medio de aislamiento primario, incubado en aerobiosis para permitir el aislamiento de estreptococos, estafilococos, enterobacterias.
- d) Medio CLED (Cistina, lactosa electrolito deficiente). Medio selectivo que permite el aislamiento de diversas bacterias aerobias y facultativas.
- Los medios BA y BAS se incubaron durante 14 días a 35 °C en atmósfera anaeróbica (jarra Gaspak) y con el agregado de Colistina y kanamicina fueron utilizados como agentes selectivos de bacterias anaerobias y la sangre lacada para favorecer la visualización de las colonias pigmentadas.

Interpretación de los cultivos.

Los cultivos para bacterias anaerobias fueron cuantificados en grados teniendo en cuenta el número de cuadrantes que presentaron desarrollo:

Grado 0: no hubo desarrollo

Grado 1: desarrollo en el primer cuadrante

Grado 2: desarrollo en primer y segundo cuadrantes

Grado 3: desarrollo hasta el tercer cuadrante

Las bacterias pigmentadas fueron identificadas a nivel de especie, independientemente de su grado de desarrollo. El resto de los microorganismos sólo fueron identificados a nivel de especie cuando presentó un desarrollo Grado 3.

Pruebas de identificación

Las pruebas de identificación llevadas a cabo a los agentes seleccionados fueron:



- a) Descripción de los caracteres culturales: hemólisis, fluorescencia, producción de pigmento, forma, tamaño, bordes, brillo u opacidad, superficie, etc.
- b) Coloración de Gram.
- c) Confirmación del carácter anaeróbico mediante siembra de colonias aisladas en agar- chocolate, incubado en atmósfera microaerofílica por 48 hs. La ausencia de desarrollo se interpretó como aislamiento anaeróbico.
- d) Aislamiento de la colonia para la obtención de un cultivo puro a los fines de su identificación final.
- e) Pruebas iniciales de identificación con discos de antimicrobianos: vancomicina (5ug), colistina (10 ug) y kanamicina (1.000 ug).
- f) De acuerdo a los resultados obtenidos en los puntos anteriores se efectuaron las siguientes pruebas bioquímicas:
- g) Para bacterias Gram negativas: capacidad de desarrollar en bilis, catalasa, indol, lipasa, detección de enzimas preformadas (alfa fucosidasa, alfa glucosidasa, beta glucosidasa, beta N-acetil glucosaminidasa), tripsina, esculina, fermentación de hidratos de carbono, hidrólisis de la urea, gelatina, oxidasa.
- h) Para bacterias Gram positivas: catalasa, indol, hidrólisis de la urea, reducción de nitratos a nitritos, movilidad, fermentación de hidratos de carbono, esculina, gelatina, hidrólisis del hipurato.

Concluido este primer estudio bacteriológico, se continuó con el tratamiento de los conductos. Las etapas realizadas fueron las siguientes:

1-Instrumentación, irrigación y desinfección de los conductos.

- La preparación quirúrgica se efectuó en todos los grupos con limas Hedstrom (CC-Cord United Dental U.S.A.). En los 2/3 coronarios se utilizaron instrumentos con un calibre acorde a la amplitud de este sector del conducto.
- Antes de acceder al tercio apical, se realizó mediante un método radiográfico, la conductometría, registrando la medida obtenida en la ficha clínica del paciente.



- Obtenida la medida de trabajo se completó la instrumentación del tercio apical con limas tipo K (CC-Cord United Dental U.S.A.).
- La irrigación de los conductos se efectuó con distintas sustancias, según la modalidad terapéutica adoptada para cada grupo.

Grupo A: se efectuó con hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,5%, utilizando jeringa de tuberculina hipodérmica descartable de 1ml y aguja 25G x 5/8” 5x16 LB/BL (Darling-Corea). El secado del conducto se realizó con sondas emboladas de tamaño adecuado a la amplitud del mismo (Fig. 13 A y B).



Fig. 13 A: Irrigación con hipoclorito de sodio 2,5%



Fig. 13 B: Secado con sonda embolada

En este grupo la antisepsia tópica se realizó con sondas emboladas con algodón humedecidas en una solución de NaClO al 5%, que ajustaban a las paredes del conducto, dejándolas en él por un espacio de tres minutos (Fig. 14).



Fig. 14: Antisepsia con sonda embolada humedecida con hipoclorito de sodio al 5%



Grupo B: Los conductos se irrigaron con solución de yodo yoduro de potasio (IPI) (2% de yodo, 4% de yoduro de potasio y 94% de agua destilada) y se secaron con sondas emboladas de tamaño adecuado a la amplitud del mismo (Fig. 15 A y B).



Fig. 15 A: Irrigación con yodo yoduro de potasio



Fig. 15 B: Secado con sonda embolada

La antisepsia tópica, en este caso se realizó con sondas emboladas humedecidas con IPI, la cual permaneció en el conducto por un espacio de tres minutos (Fig. 16).

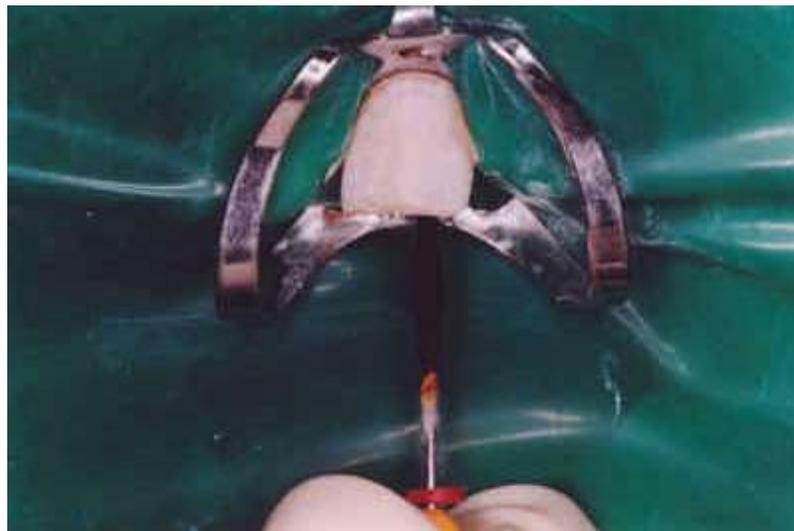


Fig. 16: Antisepsia con sonda embolada humedecida con yodo yoduro de potasio



Grupo C: Los conductos se irrigaron con una solución de NaOCl al 2,5% y se secaron con sondas emboladas de tamaño acorde a su amplitud (Fig. 17 A y B).

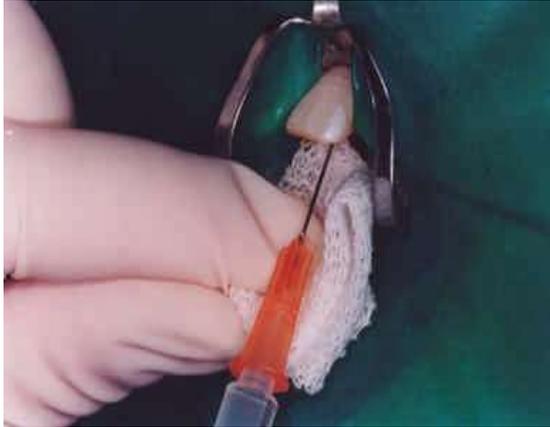


Fig. 17 A: Irrigación con hipoclorito de sodio al 2,5 %



Fig. 17 B: Secado con sondas emboladas

Se efectuó luego la antisepsia tónica con sondas emboladas con algodón humedecida con Paramonoclorofenol alcanforado (PMCFa) (Farmadental-Buenos Aires-Argentina). Esta permaneció en el conducto por un espacio de tres minutos (Fig. 18).



Fig. 18: Antisepsia con paramonoclorofenol alcanforado



Concluida esta etapa, la cavidad de acceso se selló con una base de Cavit (Cimpat-Septodont-Francia) y por encima Ionómero Vitreo (Klep Linin Base-Germany), con el objeto de asegurarnos un sellado lo más hermético posible, dejando los conductos vacíos por un espacio de 7 días (Fig. 19 A y B).



Fig. 19 A: Materiales de obturación: Cavit e Ionómero Vitreo



Fig. 19 B: Elementos Obturados con Cavit e Ionómero Vitreo



SEGUNDA SESIÓN CLÍNICA

Transcurridos 8 días de la primera sesión clínica se procedió de la siguiente manera:

- Aislamiento absoluto, limpieza y desinfección de la corona y campo operatorio, tal como fue descrita.
- Desobturación de la cavidad de acceso con fresas redondas estériles.
- Toma de la muestra de la misma manera ya descrita. Se repitió en esta sesión el estudio bacteriológico, a los efectos de comprobar la posible persistencia de gérmenes vivos, de tener una respuesta positiva, determinar cuáles microorganismos sobrevivieron a la antisepsia.

Luego de obtener las muestras se continuó con el tratamiento.

- **En el Grupo A:** los conductos se irrigaron con NaClO al 2,5% y se realizó la antisepsia con la misma sustancia pero a una concentración del 5%. En el **Grupo B** se irrigó y topicó con IPI y en el **Grupo C** con NaClO al 2,5% y antisepsia con PMCFA.
- Secado con sondas emboladas de tamaño adecuado a la amplitud de los conductos, dejando los mismos en condiciones de ser obturados temporariamente según se indica a continuación.



OBTURACIÓN TEMPORARIA

Grupo A: se realizó con pasta de hidróxido de calcio (Farmadental-Buenos Aires-Argentina) y como vehículo se utilizó polietilenglicol (Todo Droga- Argentina). La pasta preparada fue llevada al conducto con lima tipo K (CC-Cord United Dental U.S.A.), accionandas en sentido contrario a las agujas del reloj, o con lentulo (CC-Cord United Dental U.S.A.) a velocidad regulable. La compactación de la misma se hizo con sondas emboladas. Terminada la intervención se realizó el control radiográfico para tener una evaluación inmediata de la obturación (Fig. 20 A, B y C).



Fig. 20 A: Materiales de obturación: Hidróxido de calcio y polietilenglicol.



Fig. 20 B: Pasta de hidróxido de calcio y polietilenglicol.



Fig. 20 C: Control Rx del elemento 11 para corroborar la correcta obturación del conducto.



Grupo B: la obturación del conducto se efectuó con pasta alcalina compuesta según recomendaciones de Maisto y Capurro (Maisto 1975) por hidróxido de calcio y yodoformo (Ambos: Farmadental-Buenos Aires-Argentina) en partes iguales y como vehículo se utilizó polietilenglicol (Todo Droga-Argentina).

La pasta fue llevada al conducto con lima tipo K, accionando la lima en sentido antihorario, o con lentulos a velocidad regulable. La compactación se hizo con sondas emboladas y al terminar la intervención se realizó el control radiográfico para tener una evaluación inmediata de la obturación (Fig. 21 A, B y C).



Fig. 21 A: Materiales de obturación: hidróxido de calcio, yodoformo y polietilenglicol

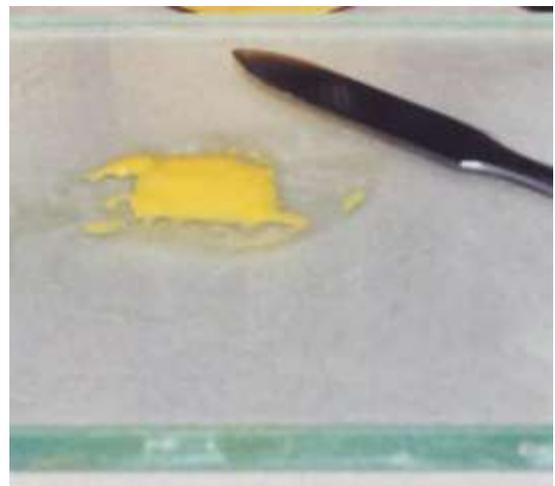


Fig. 21 B: Pasta de hidróxido de calcio, yodoformo y polietilenglicol



Fig. 21 C: Control Rx del elemento 11 para corroborar la correcta obturación del conducto



Grupo C: se obturó con hidróxido de calcio vehiculizado con polietilenglicol.

La pasta fue llevada al conducto con lima tipo K, accionadas en sentido antihorario, o con lentulos a velocidad regulable. La compactación se hizo con sondas emboladas. Terminada la intervención se realizó el control radiográfico para tener una evaluación inmediata de la obturación (Fig. 22 A, B y C).



Fig. 22 A: Materiales de obturación: hidróxido de calcio y polietilenglicol



Fig. 22 B: Pasta de hidróxido de calcio y polietilenglicol



Fig. 22 C: Control Rx del elemento 21 para corroborar la correcta obturación del conducto



La obturación de la cavidad de acceso en todos los casos, se realizó tal como fue descrito en la primera sesión.

El paciente fue citado a las 48hs., para realizar un examen clínico a fin de constatar presencia de dolor, edema, persistencia o desaparición de fístula, si inicialmente existía. Ninguno de los pacientes fueron medicados antes, durante ni después del tratamiento. Los controles siguientes se efectuaron cada dos meses, transcurrido este tiempo fueron citados para controles clínicos y radiográficos.

En cada uno de ellos se hizo un exhaustivo análisis de la situación clínica-radiográfico, registrando todos los datos obtenidos en planillas *ad-hoc*. Si se consideraba necesario, según el diagnóstico de la situación clínica, se desobturaba el conducto y se obturaba nuevamente. Este criterio fue adoptado cuando, radiográficamente, se observaba reabsorción parcial o total de la obturación del conducto.

Los controles y recambios se hicieron hasta conseguir la desaparición de la lesión periapical y el cierre apical.

Con el fin de que las angulaciones utilizadas en todas las tomas radiográficas fueran en lo posible las mismas, se empleó un portapelícula **ORTHOLATOR**- autoclavable, Connecticut (USA) (Fig. 23.)



Fig. 23: Ortholator



Procediendo de esta manera, las películas podían ser ubicadas en posición paralela a los dientes, como así también ajustar la posición del cilindro colimador de tubo radiógeno, con el fin de obtener una imagen sin distorsión y magnificación.

El ortholator posee en la parte anterior un dispositivo que fija y mantiene en posición la película, en su parte posterior presenta un vástago cuya finalidad es orientar la posición del tubo, y con ello, la dirección del rayo central que debe ser paralelo al mismo.

El uso de este dispositivo ayuda a ubicar los puntos de entrada y de incidencia facial del haz de rayos que corresponden a cada pieza dentaria y además, una dirección perpendicular de éste hacia la película (Fig. 24).



Fig. 24: Uso del Ortholator

Todas las radiografías fueron observadas exhaustivamente en un negatoscopio-Dentsply-Rin (USA) 230 v. 50Hz. O. 18 A, con lupas de +0,20 aumentos de dioptría.

En cada uno de los controles se hizo un exhaustivo análisis de la situación clínica y radiográfica, registrando los datos obtenidos en planillas *ad-hoc*.



SECUENCIA DEL TRATAMIENTO - GRUPO C
 Nombre y Apellido del paciente:.....
 Edad:..... Dirección:.....

PRIMERA SESIÓN

Radiografía Inicial (datos a considerar).....
 Etapas preliminares del tratamiento:
 Toma de cultivo:.....
 Conductometría:.....
 Irrigación:.....
 Sellado temporario:.....
 Resultado bacteriológico:.....

Datos Clínicos.....

Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....
 Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....

SECUENCIA DEL TRATAMIENTO - GRUPO B
 Nombre y Apellido del paciente:.....
 Edad:..... Dirección:.....

PRIMERA SESIÓN

Radiografía Inicial (datos a considerar).....
 Etapas preliminares del tratamiento:
 Toma de cultivo: Fecha:.....
 Conductometría:..... Instrumentación:.....
 Irrigación:..... Antisepsia:.....
 Sellado temporario:.....
 Resultado bacteriológico:.....

Datos Clínicos a considerar:.....

Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....
 Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....

SECUENCIA DEL TRATAMIENTO - GRUPO A
 Nombre y Apellido del paciente:.....
 Edad:..... Dirección:.....

PRIMERA SESIÓN

Radiografía Inicial: Fecha:..... Angulación:.....
 (datos a considerar).....

Etapas preliminares del tratamiento:
 Toma de cultivo: Fecha:.....
 Conductometría:..... Instrumentación:.....
 Irrigación:..... Antisepsia:.....
 Sellado temporario:.....
 Resultado bacteriológico:.....

SEGUNDA SESIÓN

Datos Clínicos a considerar:.....

Etapas preliminares del tratamiento:
 Toma de cultivo: Fecha:.....
 Irrigación:..... Antisepsia:.....
 Obturación:.....
 Sellado temporario:.....
 Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....
 Resultado bacteriológico:.....

Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....
 Control Radiográfico: Fecha:..... Resultado:.....

Fig. 25: Planillas ad hoc



Logrado el cierre apical se procedió a realizar la obturación definitiva del conducto radicular con cono principal y accesorios de gutapercha (Hygenic-Colténe/Whaledent-Germany), empleando técnica de condensación lateral, técnica de cono unificado o de pre-impresión, según las circunstancias y sellador de Grossman (Farmadental-Buenos Aires-Argentina).

Se consideró oportuno dar por finalizado el tratamiento de apicoformación e indicar la obturación definitiva del conducto con gutapercha y sellador, cuando todos los criterios preestablecidos que se citan a continuación, fueron detectados en los controles clínicos radiográficos efectuados a distancia.

CRITERIOS CLÍNICOS

- Ausencia de dolor provocado o espontáneo.
- Ausencia de movilidad.
- Confirmación del cierre apical con tejido calcificado, explorando el conducto con una lima de calibre adecuado, que permita ejercer una suave presión, para chequear la presencia de la barrera.
- Ausencia de hemorragia, exudado o sensibilidad.

CRITERIOS RADIOGRÁFICOS

- Desaparición del área radiolúcida periapical y observación de cambios arquitectónicos en el trabeculado óseo, por neoformación de tejido.
- Modelado del extremo apical por depósito de tejidos duros.
- Imagen de la línea periodontal lo más definida posible.

De esta manera se pudo evaluar, a través de todos los cambios producidos, la involución de los signos patológicos y la evolución de los procesos reparativos y constructivos, y establecer, además, dentro de cada grupo, el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta su finalización.



ANALISIS ESTADISTICOS

Los datos fueron expresados mediante la mediana como medida de centralización y el error estándar como medida de dispersión de los mismos, por ser el número de individuos muestreado pequeño y por resultar más adecuado al tipo de distribución de los datos.

Para analizar diferencias entre el tiempo inicial y final, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas con un nivel crítico $p < 0.05$ y teniendo en cuenta conjuntamente el número de bacterias aerobias y anaerobias al inicio y final de cada tratamiento y por separado.

Para evaluar diferencias entre tratamientos de apexificación -post tratamiento- se utilizó un método no paramétrico Kruskal Wallis, fijando el valor $p < 0.05$ para diferencias estadísticamente significativas.

El grado de desarrollo de bacterias, tanto bacterias anaerobias como aerobias, fue categorizado estableciendo como punto de corte el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml):

- Categoría 0 $< 10^2$ UFC/ml
- Categoría 1 $= 10^3$ UFC/ml
- Categoría 2 $= 10^4$ UFC/ml
- Categoría 3 $= 10^5$ UFC/ml

La asociación entre el tiempo de cicatrización y la disminución del número de bacterias fue realizado a través de una tabla de contingencia 2x2 con el estadístico de Irwin-Fisher para tamaño de muestras pequeñas fijando el valor $p < 0.05$ para establecer asociación estadísticamente significativa. Las variables nominales fueron categorizadas como:

- Tiempo de cicatrización: < 12 meses (tiempo corto) = 1
- ≥ 12 meses (tiempo largo) = 0

Disminución de bacterias:

- disminución del número de bacterias al final del tratamiento = 1
- aumento o igual número de bacterias al final del tratamiento = 0

Los datos fueron analizados con *software* Infostat versión 1.5, 2003.

RESULTADOS



Estudios Microbiológicos

En los tres grupos estudiados (grupo A, B y C) el desarrollo de bacterias aerobias y anaerobias en conjunto, después de realizar el tratamiento y aplicar el agente antiséptico, se muestra en la Fig. 26.

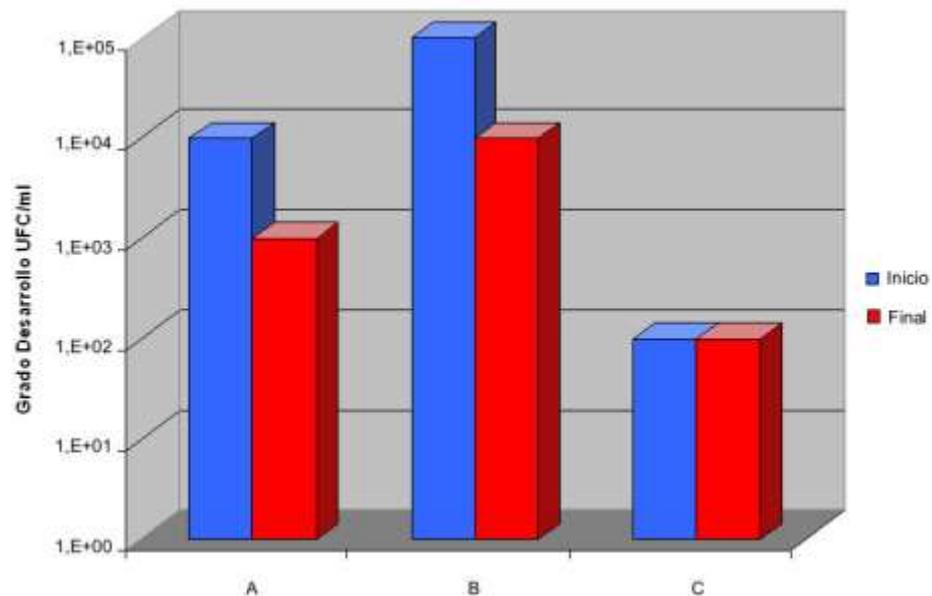


Fig. 26. Desarrollo de bacterias aerobias y anaerobias. La altura de las barras representa el valor de la mediana obtenido al inicio y al final de cada tratamiento

Por otra parte, en la Tabla I también se puede apreciar que entre el control inicial y el realizado al finalizar el tratamiento el desarrollo de microorganismos disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$), tanto en el Grupo A como en el B en los que se emplearon NaClO e IPI respectivamente, no así en el C donde se utilizó PMCFa y en el cual las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$).

Grupo	Grado de desarrollo bacteriano (mediana + EE)			
	Inicio		Final	
A	2	0,13	1(*)	0,23
B	3	0,13	2(*)	0,42
C	0,5	0,26	0	0,22

Tabla. I Estudio microbiológico. Bacterias aerobias y anaerobias. Los números enteros representan las siguientes categorías: Categoría 0= $<10^2$ UFC/ml; Categoría 1= 10^3 UFC/ml; Categoría 2= 10^4 UFC/ml; Categoría 3= 10^5 UFC/ml (*) Indica diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).



El desarrollo de gérmenes aerobios provenientes de conductos de dientes inmaduros con diagnóstico de necrosis pulpar, mostró en el Grupo A (NaClO), después del tratamiento, una disminución de 10^4 a 10^3 y de 10^5 a 10^4 en el Grupo B (IPI). En cuanto al Grupo C (PMCFA), el desarrollo de los microorganismos disminuyó de 10^3 a 10^2 (Fig. 27)

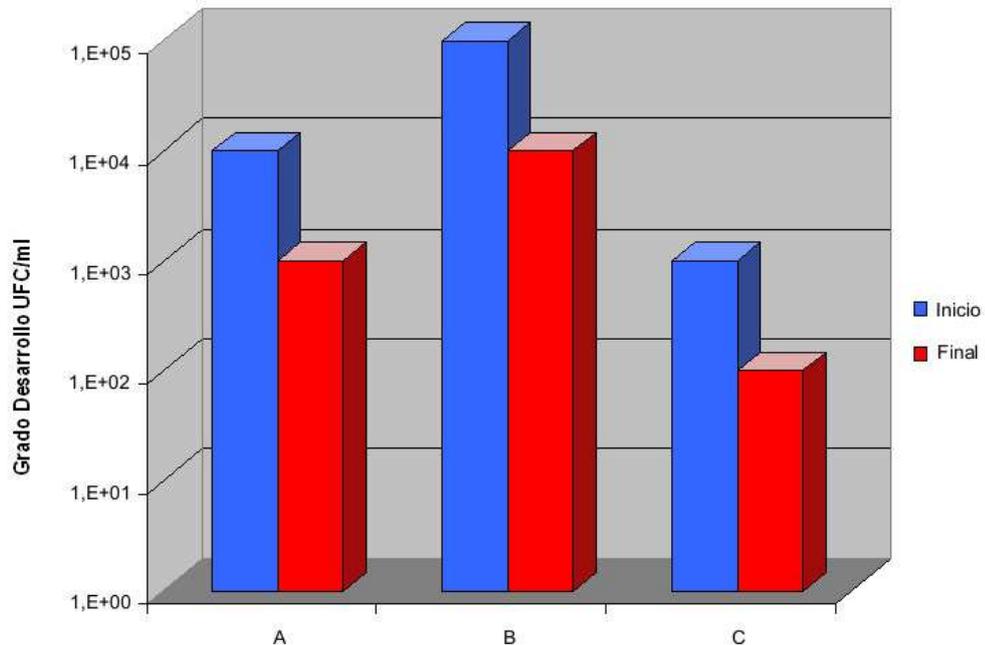


Fig. 27 Desarrollo de bacterias aerobias. La altura de las barras representa el valor de la mediana obtenido al inicio y al final de cada tratamiento (eje y=grado de desarrollo tomado como categorías, eje x=tiempo inicial y final). Categoría 0= $<10^2$ UFC/ml; Categoría 1= 10^3 UFC/ml; Categoría 2= 10^4 UFC/ml; Categoría 3= 10^5 UFC/ml

En la Tabla II se muestran los valores observados de desarrollo bacteriano obtenidos en el inicio y en la finalización del tratamiento en los tres grupos estudiados. Las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$)

Grupo	Grado de desarrollo bacteriano (mediana + EE)			
	Inicio		Final	
A	2	0,24	1	0,32
B	3	0,24	2	0,37
C	1	0,45	0	0,40

Tabla. II Estudio microbiológico. Bacterias aerobias. Los números enteros representan las siguientes categorías: Categoría 0= $<10^2$ UFC/ml; Categoría 1= 10^3 UFC/ml; Categoría 2= 10^4 UFC/ml; Categoría 3= 10^5 UFC/ml. Las diferencias entre el inicio y la finalización del tratamiento no fueron significativas ($p > 0.05$).



El comportamiento de las bacterias anaerobias se muestra en la Fig. 28. El desarrollo bacteriano en el Grupo A (NaClO) disminuyó de 10^4 en el inicio del tratamiento a 10^3 al finalizarlo. En el Grupo B (IPI) el descenso -sin duda más marcado- fue de 10^5 a 10^2 . En el Grupo C (PMCF) el valor de 10^2 se mantuvieron tanto al inicio como al final del tratamiento.

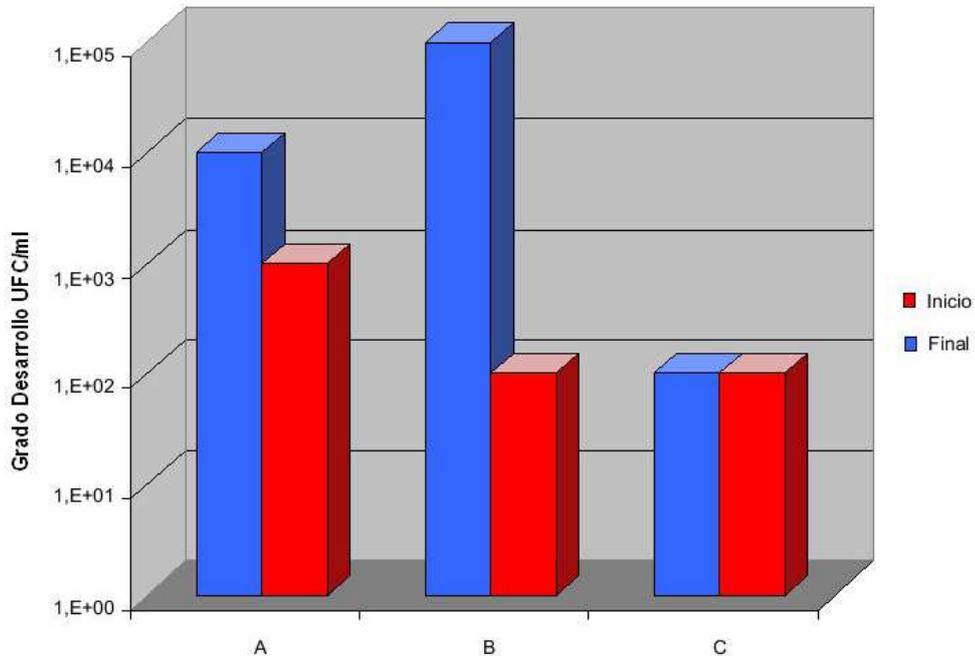


Fig. 28 Desarrollo de bacterias anaerobias. La altura de las barras representa el valor de la mediana obtenido al inicio y al final de cada tratamiento (eje y=grado de desarrollo tomado como categorías, eje x=tiempo inicial y final). Categoría 0= $<10^2$ UFC/ml; Categoría 1= 10^3 UFC/ml; Categoría 2= 10^4 UFC/ml; Categoría 3= 10^5 UFC/ml

En la Tabla III se expresa el desarrollo bacteriano por grupo al inicio y al final del tratamiento. Las diferencias entre ellos no fueron significativas ($p>0.05$) (Tabla III).

Grupo	Grado de desarrollo bacteriano (mediana + EE)			
	Inicio		Final	
A	2	0,10	1	0,37
B	3	0,10	0	0,73
C	0	0,24	0	0,20

Tabla. III: Estudio microbiológico. Bacterias anaerobias. Los números enteros representan las siguientes categorías: Categoría 0= $<10^2$ UFC/ml; Categoría 1= 10^3 UFC/ml; Categoría 2= 10^4 UFC/ml; Categoría 3= 10^5 UFC/ml. Las diferencias entre en inicio y la finalización del tratamiento no fueron significativas ($p>0.05$).



Cepas aerobias y anaerobias aisladas

En la microflora presente en los dientes con ápice inmaduro y diagnóstico de necrosis pulpar utilizados en este estudio, se aislaron distintas cepas bacterianas tanto al comienzo como al finalizar el período de investigación. Del total de las bacterias aisladas, el 46.67% correspondía a bacterias aerobias y el 53.33% a bacterias anaerobias. En la Tabla IV se muestran las diferentes cepas de bacterias aisladas.

Bacterias	
Aerobias (46,67%)	Anaerobias (53,33%)
<i>Corynebacterium</i> spp.	Cocos gram positivos anaerobios
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	<i>Fusobacterium</i> spp.
<i>Streptococcus</i> del grupo viridans	<i>Propionibacterium</i> spp.
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Prevotella intermedia</i>
Enterobacterias	<i>Peptostreptococcus</i> spp.
Bacilos gram positivos aerobios	<i>Peptococcus</i> spp.

Tabla. IV : Bacterias aerobias y anaerobias aisladas e identificadas en los estudios microbiológicos.

En cuanto a la presencia de bacterias aerobias y anaerobias por grupo, se observó en el Grupo A (NaClO) un 42.85% de bacterias aerobias y 57.14% de anaerobias, en el Grupo B (IPI) el porcentaje fue de 62.5% para las bacterias aerobias y de 37.5% para las anaerobias y para el Grupo C (PMCF) los porcentajes fueron de 37.5% y 62.5% para las bacterias aerobias de anaerobias respectivamente (Tabla V).

Grupo	Bacterias Aerobias (46.67% del total asilado)	Bacterias Anaerobias (53.33% del total aislado)
A	42.85 %	57.14%
B	62.5%	37.5%
C	37.5%	62.5%

Tabla. V: Porcentaje de bacterias aerobias y anaerobias aisladas e identificadas por grupo en los estudios microbiológicos



Luego de evaluar el tipo de bacterias aerobias y anaerobias aisladas -según género y especie- tanto al inicio y al finalizar los tratamientos, se observó que su frecuencia de aparición variaba como se muestra en las Tablas VI y VII.

Bacterias Aerobias	Frecuencia de aparición observada en la suma de los tres grupos	
	Inicio	Final
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	47.61 %	23.81%
<i>Streptococcus viridans</i>	33.33 %	23.81 %
<i>Acinetobacter spp.</i>	0.00 %	4.76(**)%
<i>Corynebacterium spp.</i>	28.57 %	19.04 %
Enterobacterias	0.00 %	4.76 (**)%
Bacilos gram positivos aerobios	28.57 %	19.04 %

Tabla. VI: Bacterias aerobias aisladas. Frecuencia de aparición de las distintas cepas aisladas expresada como porcentaje sobre el total de los casos estudiados sin considerar el tratamiento antiséptico. (**) El porcentaje 4.76 representa un solo caso aislado.

Bacterias Anaerobias	Frecuencia de aparición observada en la suma de los tres grupos	
	Inicio	Final
Cocos gram positivos anaerobios	0.00 %	4.76% (**)
Bacilos gram negativos anaerobios no pigmentados	4.76 %	0.00 %
<i>Fusobacterium spp.</i>	19.04 %	9.06%
<i>Propionibacterium spp.</i>	23.81 %	4.76 % (**)
<i>Prevotella intermedia</i>	19.04 %	14.28 %
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	9.52 %	4.76 % (**)
Bacilos gram negativos	0.00 %	4.76 % (**)
<i>Peptococcus spp.</i>	0.00 %	4.76 % (**)

Tabla. VII: Bacterias anaerobias aislada. Frecuencia de aparición de las distintas cepas aisladas expresada como porcentaje sobre el total de los casos estudiados sin separar por tratamiento antiséptico.

(**) El porcentaje 4.76 representa un solo caso aislado.



Efecto de los antisépticos sobre el desarrollo bacteriano

Los controles bacteriológicos realizados después de que actuara el NaClO, (Grupo A), mostraron que cepas bacterianas aerobias como *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* coagulasa negativa y *Streptococcus* del grupo viridans, habían disminuido considerablemente. *Corynebacterium* spp. presentó una reducción de las UFC/ml por debajo de 10^2 , correspondiendo, a un 75% de los dientes. En cuanto a las cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa hubo una disminución en un 50% de los dientes, observándose que los valores descendieron de 10^3 UFC/ml a 10^2 UFC/ml. al final del tratamiento y en relación a *Streptococcus* del grupo viridans disminuyó en un 75% de 10^4 a 10^3 UFC/ml (Fig. 29).

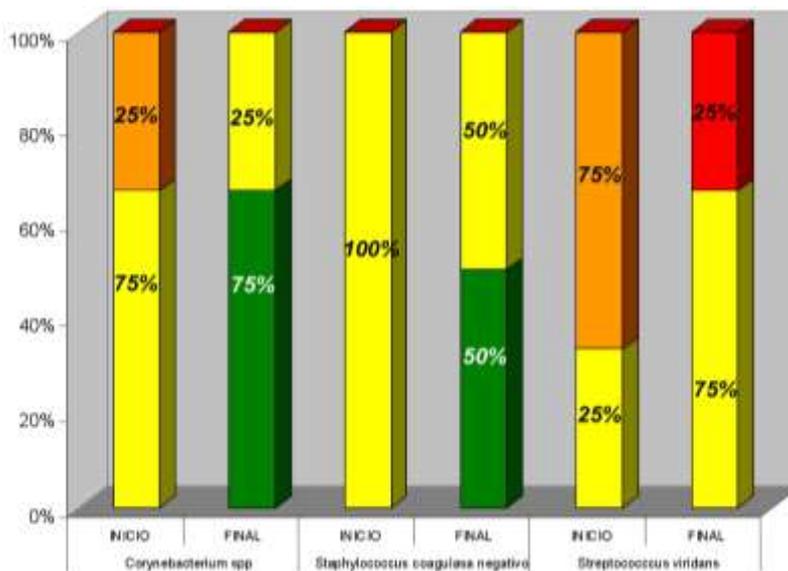


Fig. 29 Grupo A (NaClO) Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano:

■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

Al analizar el efecto del NaClO (Grupo A) sobre el total de bacterias aerobias aisladas, se observó en el inicio del tratamiento valores de 10^4 UFC/ml, comprobándose, al finalizar el mismo, una marcada disminución que alcanzó al 25% de los dientes (Fig. 30).

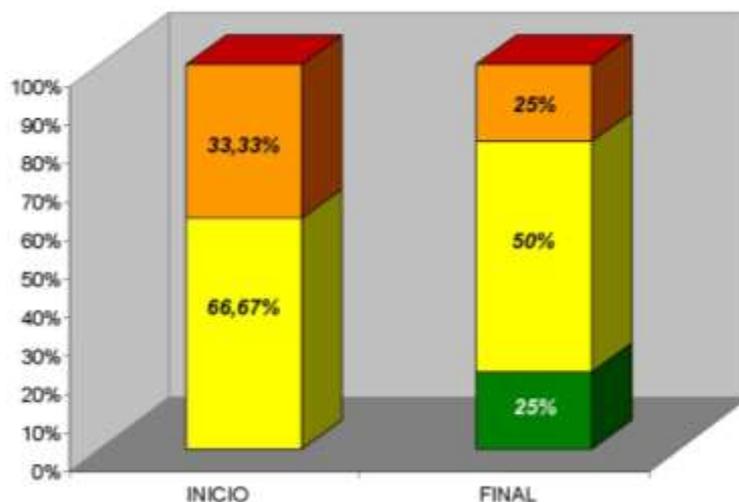


Fig. 30 Grupo A (NaClO). Estudio bacteriológico.

Porcentajes de bacterias aerobias totales. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano:

■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de dientes que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano considerados en este estudio.



En cuanto a los microorganismos anaerobios presentes en este grupo, algunos de ellos como *Prevotella intermedia* y cocos gram positivos se mantuvieron en el mismo grado de desarrollo tanto al principio como al final del tratamiento, con valores de 10^3 y 10^4 UFC/ml para cada una. Las cepas *Fusobacterium* spp. y *Propionibacterium* spp. disminuyeron su desarrollo de 10^4 UFC/ml a 10^3 UFC/ml al final del tratamiento en el 50 y en el 100% de los casos respectivamente. (Fig. 31)

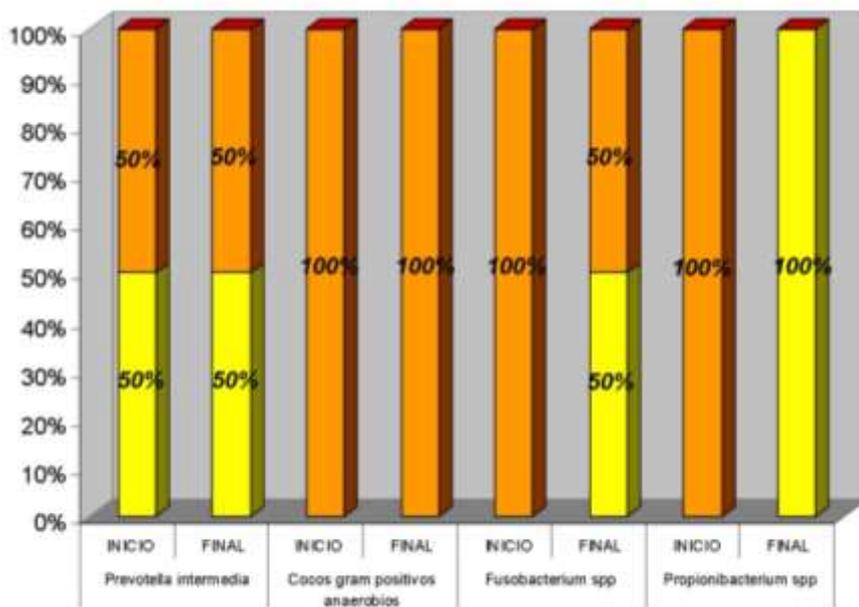


Fig. 31 Grupo A (NaOCl). Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

En cuanto al total de bacterias anaerobias en el tratamiento con NaClO, del 100% de dientes que presentaban un desarrollo de 10^4 UFC/ml al inicio del tratamiento, disminuyeron el 41,7% a valores de 10^3 y el 25% a valores de 10^2 UFC/ml al finalizar el tratamiento (Fig. 32).

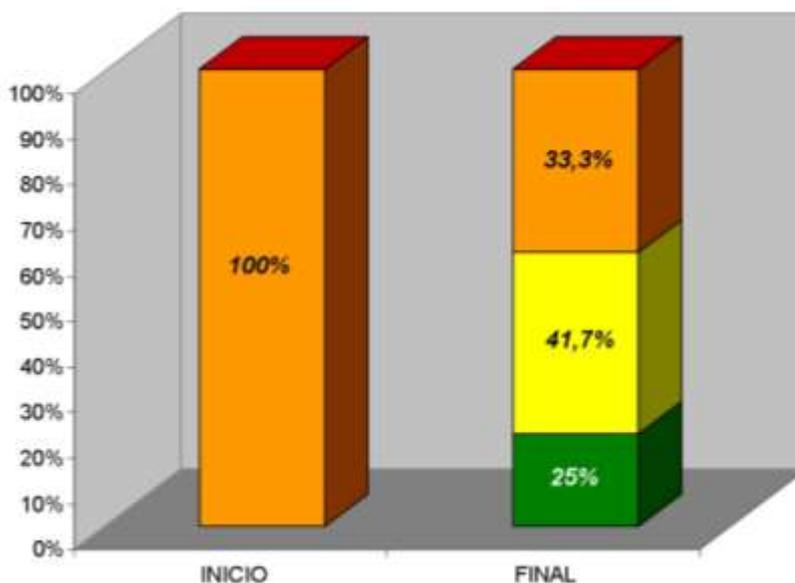


Fig. 32 Grupo A (NaOCl) Estudio bacteriológico. Porcentajes de bacterias anaerobias totales. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de pacientes que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.



En los dientes tratados con IPI (Grupo B) hubo disminución en el desarrollo de las cepas aerobias aisladas. Algunas, como *Staphylococcus coagulasa* negativas, mostraron disminución en el 100% de los casos a valores de 10^2 UFC/m. Otras cepas, como *Corynebacterium* spp. y *Streptococcus* del grupo viridans, disminuyeron de 10^4 al inicio a 10^2 al final del tratamiento en el 33% de los casos estudiados y de 10^4 a 103 UFC/ml en el 50%. No obstante, también se observó que al final del tratamiento aparecían otras cepas aerobias como *Acinetobacter* spp. y *Enterobacterias*. (Fig. 33)

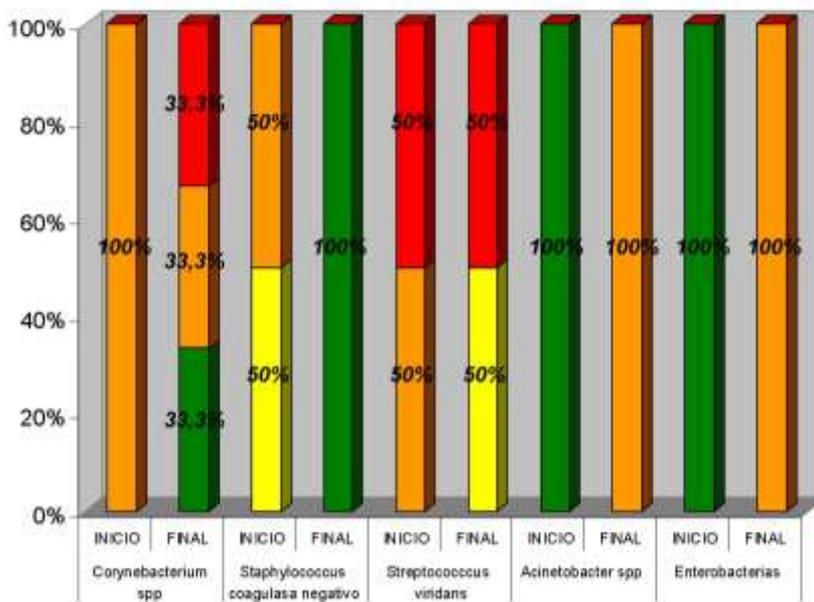


Fig. 33 Grupo B (IPI). Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

Si se considera el total de bacterias aerobias presentes en el Grupo B (IPI), se puede observar que los valores, que en el inicio eran de 10^5 UFC/ml, disminuyeron al 33% de los casos al finalizar el tratamiento. (Fig. 34).

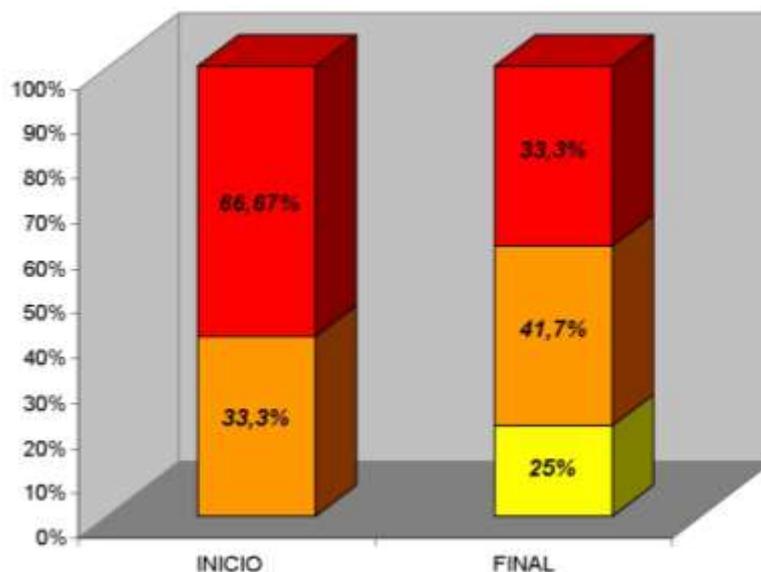


Fig. 34 Grupo B (IPI). Estudio bacteriológico. Porcentajes de bacterias aerobias totales. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de dientes que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.



Algunas cepas anaerobias, como bacilos gram negativos y *Peptostreptococcus* spp., disminuyeron por debajo de valores de 10^2 UFC/ml al final del tratamiento en el 100% de los casos tratados, mientras que *Prevotella intermedia* mantuvo el mismo grado de desarrollo tanto al principio como al final del tratamiento (Fig. 35).

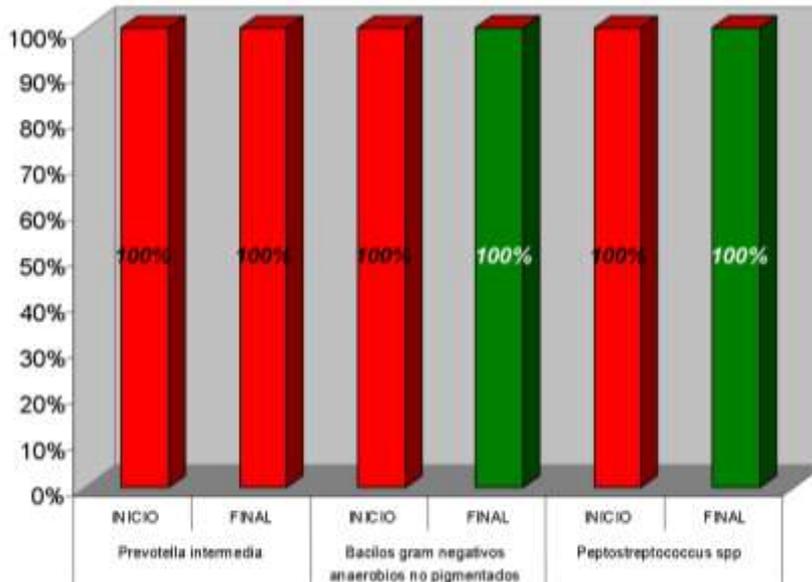


Fig. 35 Grupo B (IPI) Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano:
 ■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

En el tratamiento con IPI (Grupo B), especialmente con el total de cepas bacterianas anaerobias aisladas se observó una disminución del grado de desarrollo bacteriano de alrededor del 66,67% en los casos estudiados (Fig. 36).

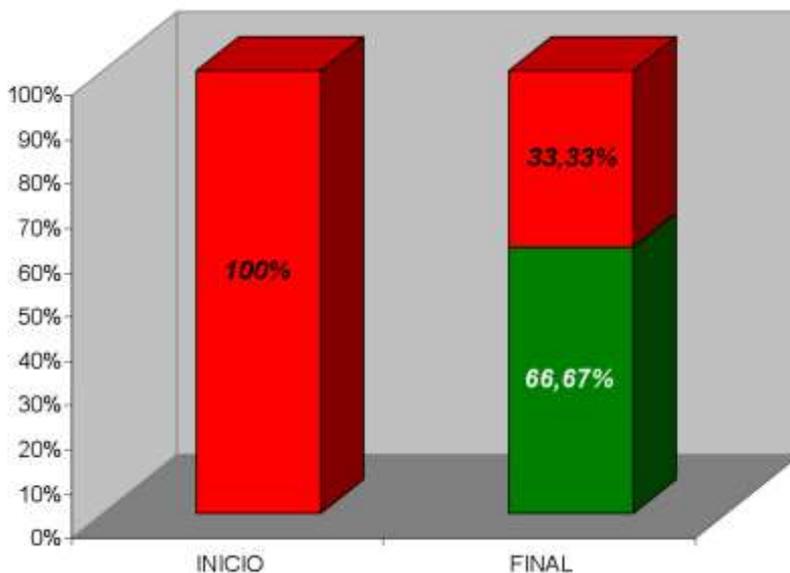


Fig. 36 Grupo B (IPI). Estudio bacteriológico. Porcentajes de bacterias anaerobias totales. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano:
 ■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de pacientes que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.



En los dientes tratados con PMCFA (Grupo C), el desarrollo de cepas aerobias tales como bacilos gram positivos y de *Streptococcus* del grupo viridans, mostró en ambos gémenes y en el 100% de los casos, una disminución en sus valores de 10^4 al inicio a 10^3 UFC/ml al final. En tanto *Staphylococcus coagulasa* negativa disminuyó su grado de desarrollo por debajo de 10^2 al final del tratamiento en el 100% de los dientes tratados (Fig. 37).

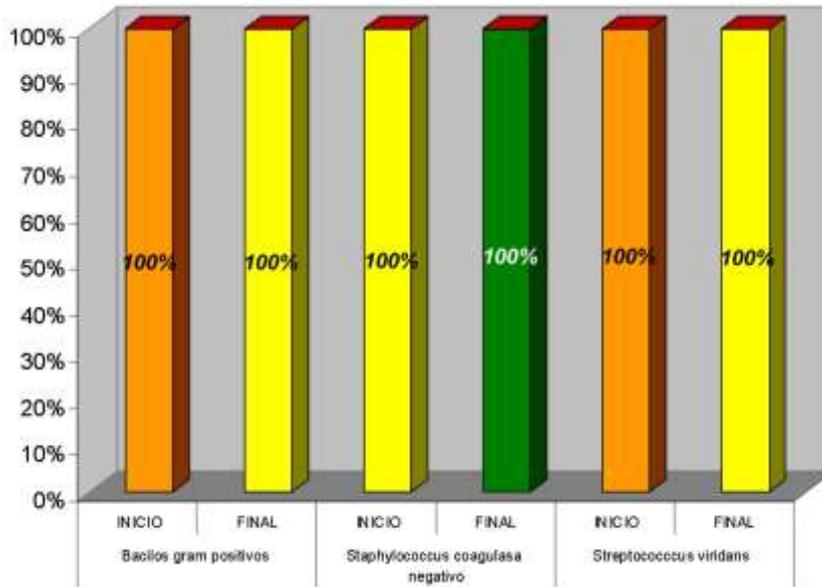


Fig. 37 Grupo C- PMCFA Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa un grado de desarrollo:
 ■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

El PMCFA (Grupo C), mostró ser efectivo como inhibidor en el desarrollo de bacterias aerobias, disminuyendo en un 33% los valores de 10^4 y 10^3 al final del tratamiento. (Fig. 38).

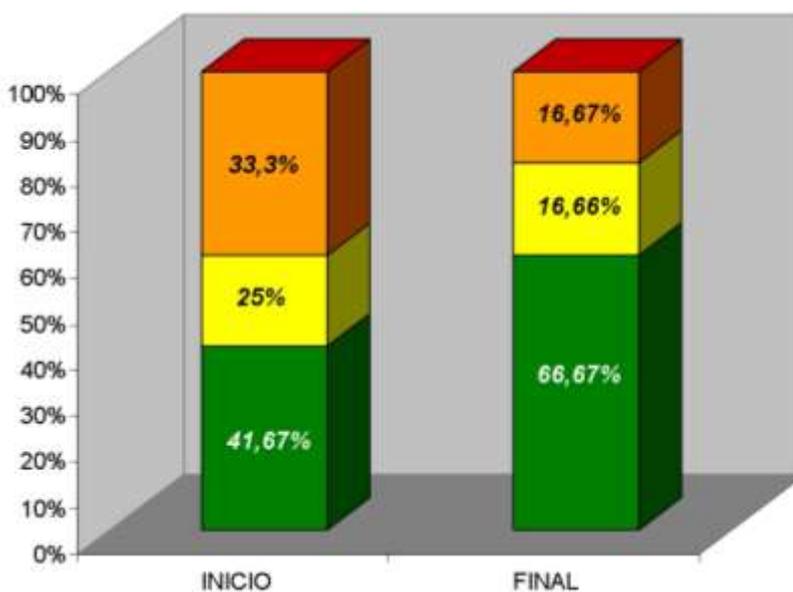


Fig. 38 Grupo C (PMCFA). Estudio bacteriológico. Porcentajes de bacterias aerobias. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa el grado de desarrollo bacteriano:
 ■ Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml
 ■ Categoría 1 = 10^3 UFC/ml
 ■ Categoría 2 = 10^4 UFC/ml
 ■ Categoría 3 = 10^5 UFC/ml
 Cada segmento representa el porcentaje de pacientes que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano considerados en este estudio



En cuanto al efecto del PMCFA sobre las bacterias anaerobias, se observó que *Peptococcus* spp. mantuvo igual grado de desarrollo tanto al principio como al final del tratamiento. *Fusobacterium* spp. disminuyó en un 100% de los casos las UFC/ml a valores por debajo de 10^2 . Sin embargo, al finalizar el tratamiento, se aislaron cepas bacterianas anaerobias de *Prevotella* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Propionibacterium* spp., que no se observaron al iniciar el tratamiento (Fig. 39).

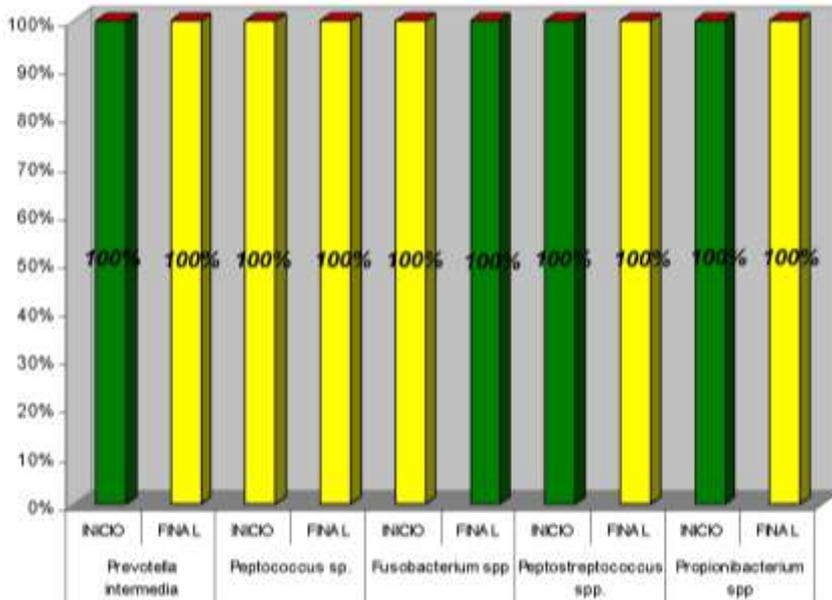


Fig. 39 Grupo C (PMCFA). Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa un grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.

Si se considera el total de bacterias anaerobias, en el Grupo C (PMCFA), no se detectan mayores variantes en los porcentajes de UFC/ml, entre el inicio y el final del tratamiento, presentando una ligera disminución en aproximadamente el 16,78% de los casos. (Fig. 40)

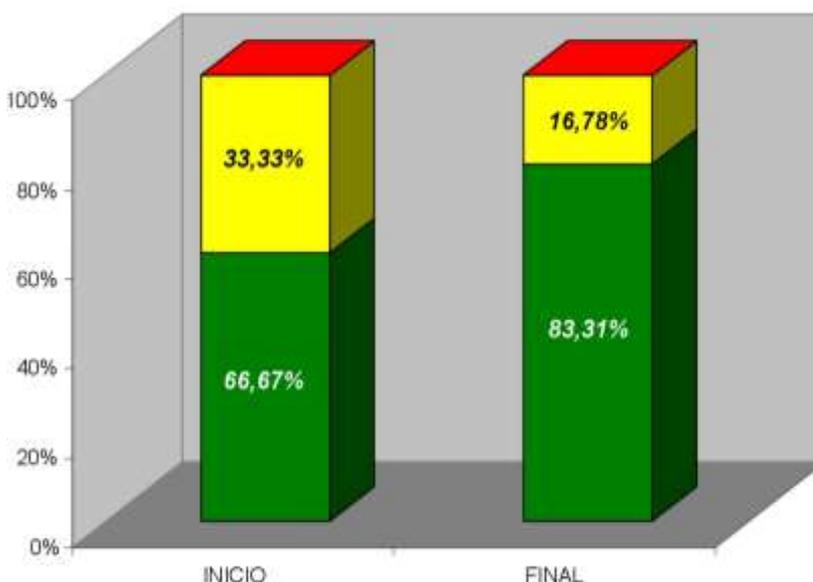


Fig. 40 Grupo C (PMCFA). Estudio bacteriológico. Cada color en la gráfica de barras apiladas representa un grado de desarrollo bacteriano: Categoría 0 = $<10^2$ UFC/ml, Categoría 1 = 10^3 UFC/ml, Categoría 2 = 10^4 UFC/ml, Categoría 3 = 10^5 UFC/ml. Cada segmento representa el porcentaje de elementos dentarios que presentaban cada uno de los grados de desarrollo bacteriano.



Resumiendo, en los dientes tratados con NaClO (Grupo A) y con IPI (Grupo B), los resultados mostraron una disminución estadísticamente significativa en el grado de desarrollo de bacterias aerobias y anaerobias al finalizar el tratamiento ($p \leq 0.05$), mientras que en los tratados con PMCFa (Grupo C) la disminución no fue significativa ($p > 0.05$), aun cuando este agente antiséptico mostró ser efectivo sobre bacterias aerobias y un tanto irregular sobre las anaerobias (Fig.28 Tabla I, Fig.29 Tabla II y Fig. 30 Tabla III). Algunas bacterias anaerobias presentes al inicio del tratamiento se mantuvieron hasta el final, otras desaparecieron, y algunos que no se evidenciaron al inicio, aparecieron al final del mismo (Fig. 31, 33, 35, 37, 39 y 41).

Formación de la barrera apical - Evaluación clínica inmediata y a distancia - Estudio longitudinal.

Los tratamientos, en su totalidad ($n=21$) se realizaron sin inconvenientes y los controles clínico-radiográficos se hicieron dentro de los plazos preestablecidos.

En el primero de ellos, efectuado 8 días después de realizada la primera sesión clínica, donde sólo se obtuvieron las muestras bacteriológicas y se instrumentaron y desinfectaron los conductos, se comprobó que en todos los casos hubo silencio clínico, aun cuando en ninguno de ellos se indicó medicación antibiótica, antiinflamatoria o analgésica ni antes ni después de la intervención. Esto significa que durante los días que siguieron al tratamiento no se registraron situaciones clínicas que indicaran una agudización.

En el segundo control, efectuado 48 hs después de haber reinstrumentado y desinfectado el o los conductos y obturados con una pasta a base de Ca(OH)_2 , la situación fue la misma, ya que tampoco se consignaron complicaciones clínicas postoperatorias.

El control siguiente se hizo 60 días después y consistió en un exhaustivo examen clínico-radiográfico. Al igual que en los controles precedentes, no se registraron manifestaciones clínicas que indicaran complicaciones o fracasos. El estudio radiográfico permitió establecer si era necesario o no la renovación de la obturación alcalina provisoria.

En lo sucesivo, los controles y recambios de obturación se hicieron hasta conseguir la desaparición de la lesión periapical y la formación de la barrera apical, lo que fue determinado según criterios preestablecidos.



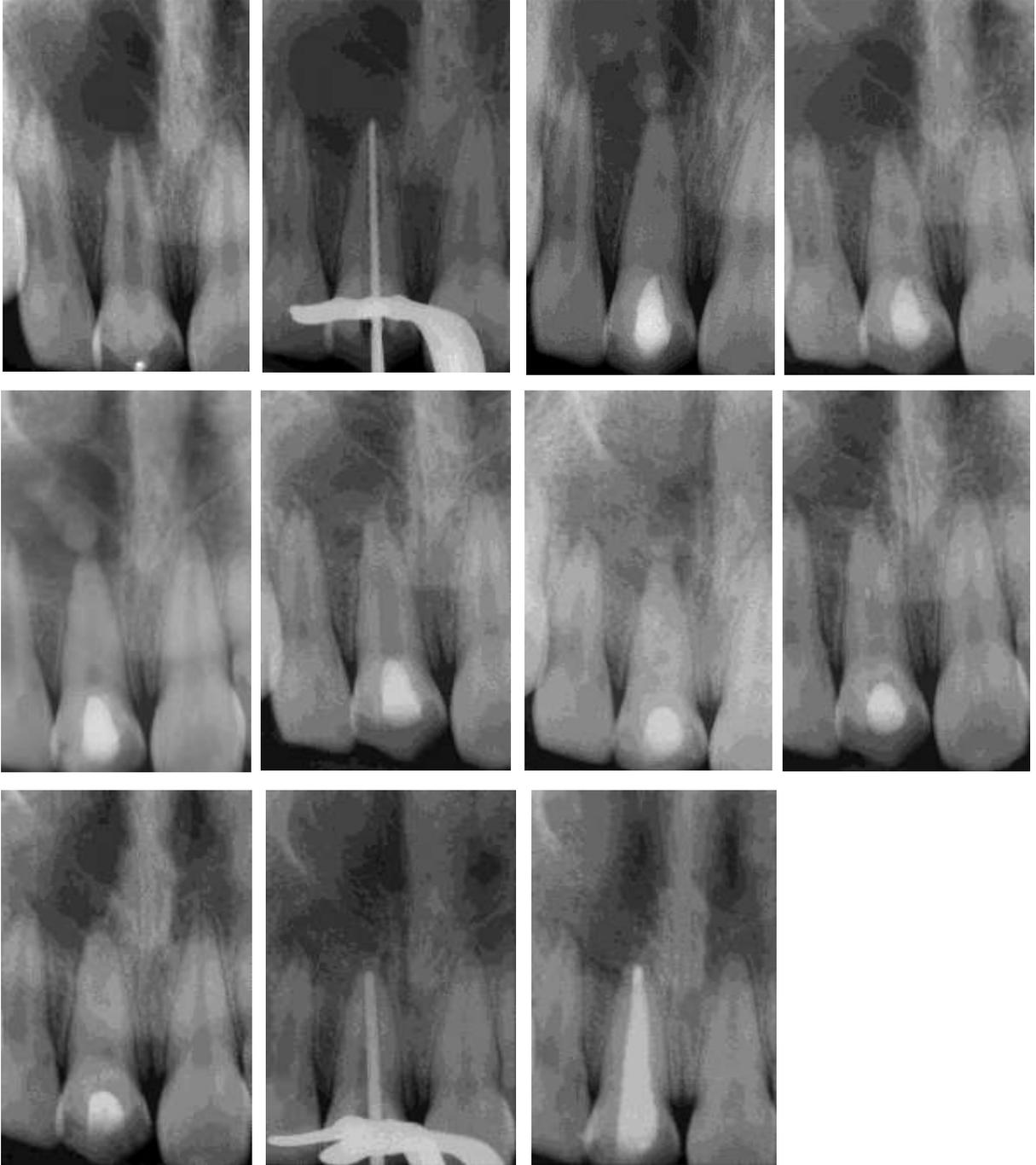
De esta manera se evaluó la involución de los signos patológicos y la evolución de los procesos reparativos y constructivos, y se estableció, además, dentro de cada grupo, el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento hasta su finalización.

Logrado el cierre apical, se realizó la obturación definitiva del conducto radicular y la reconstrucción de la pieza dentaria. Desde ese momento, los controles a distancia continuaron pero en períodos más prolongados.

En las fig. 41, 42 y 43 se muestran las secuencias de distintos tratamientos con sus correspondientes controles radiográficos.

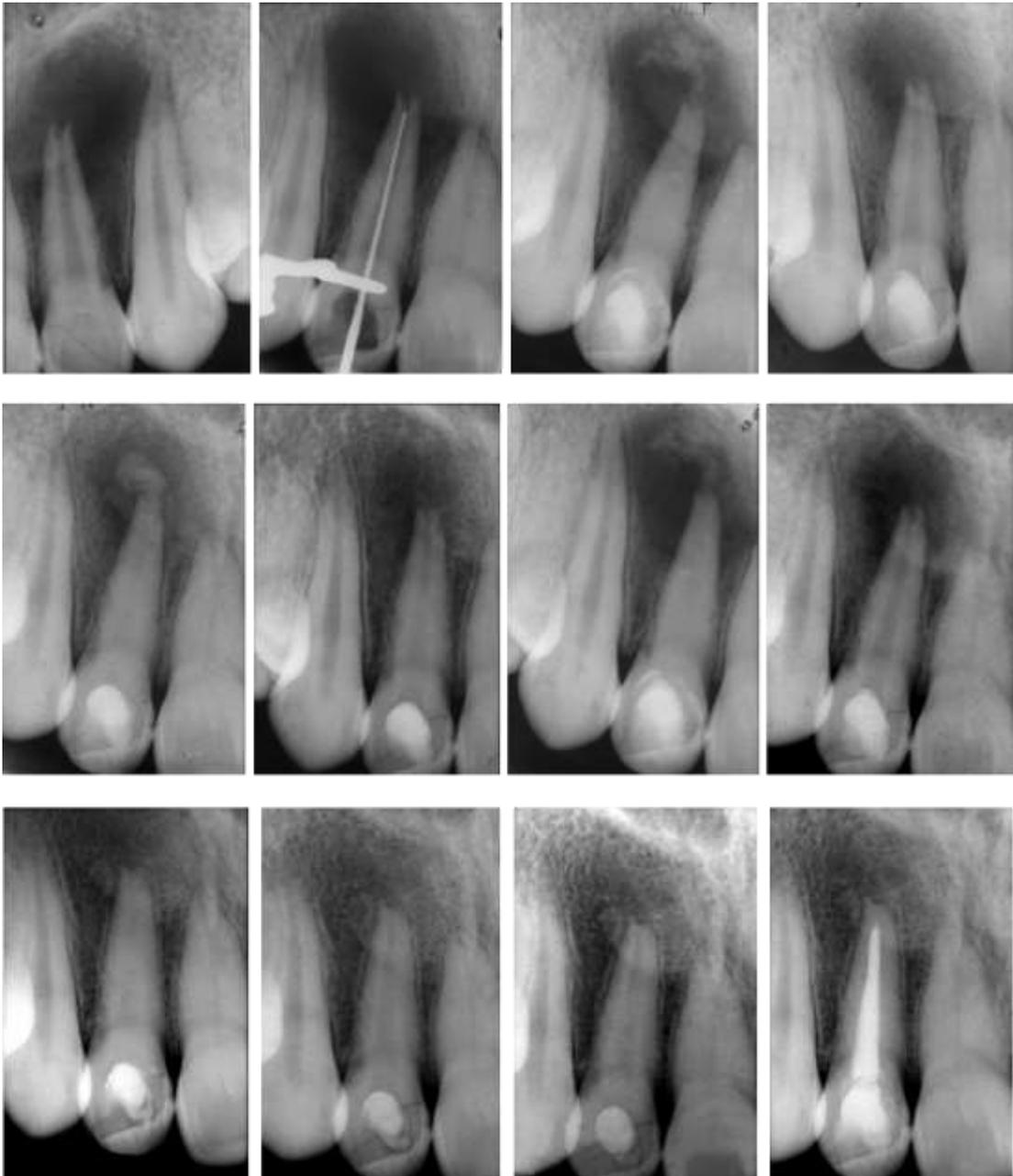


GRUPO A – Caso N° 3
Hipoclorito de Sodio 5%



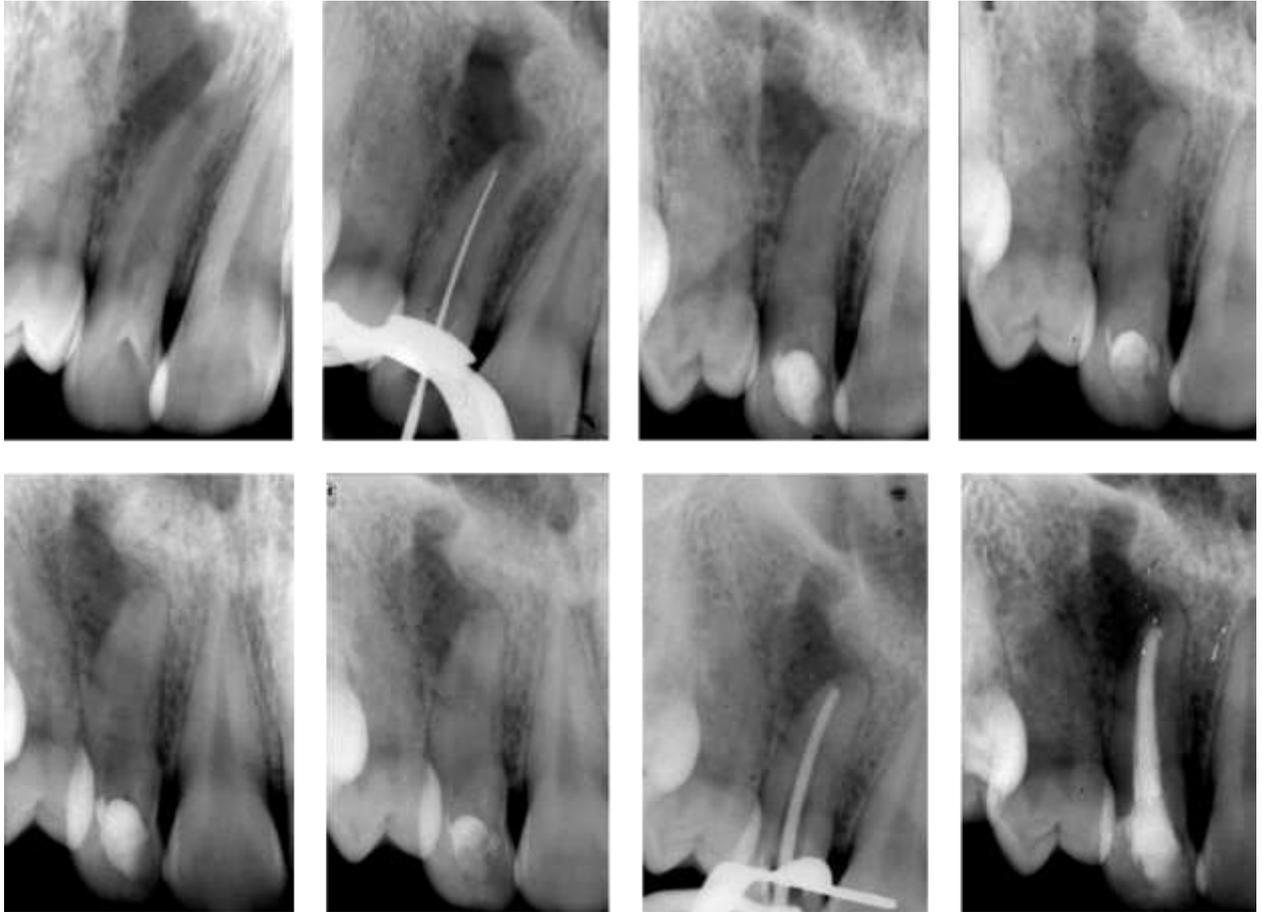


GRUPO A – Caso Nº 5
Hipoclorito de Sodio 5%





GRUPO A – Caso N° 7
Hipoclorito de Sodio 5%



Formación de la barrera apical en piezas dentarias con ápice inmaduro.

Grupo B = Yodo Yoduro de Potasio

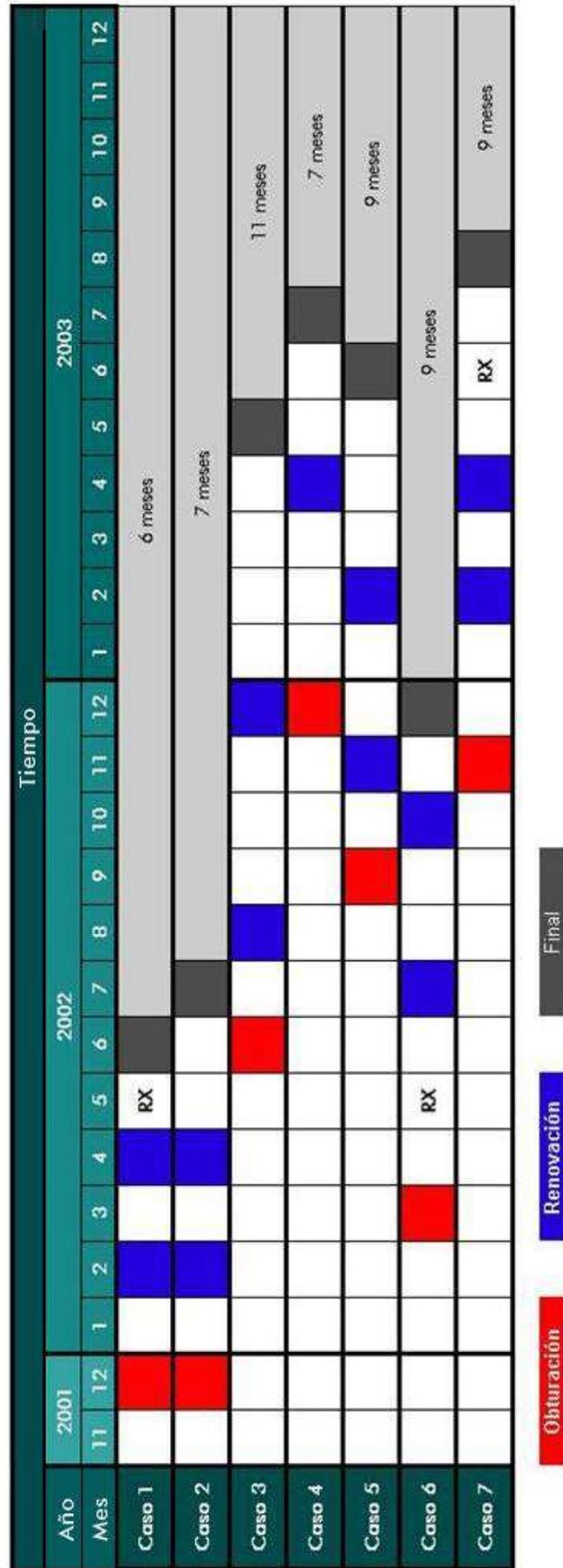
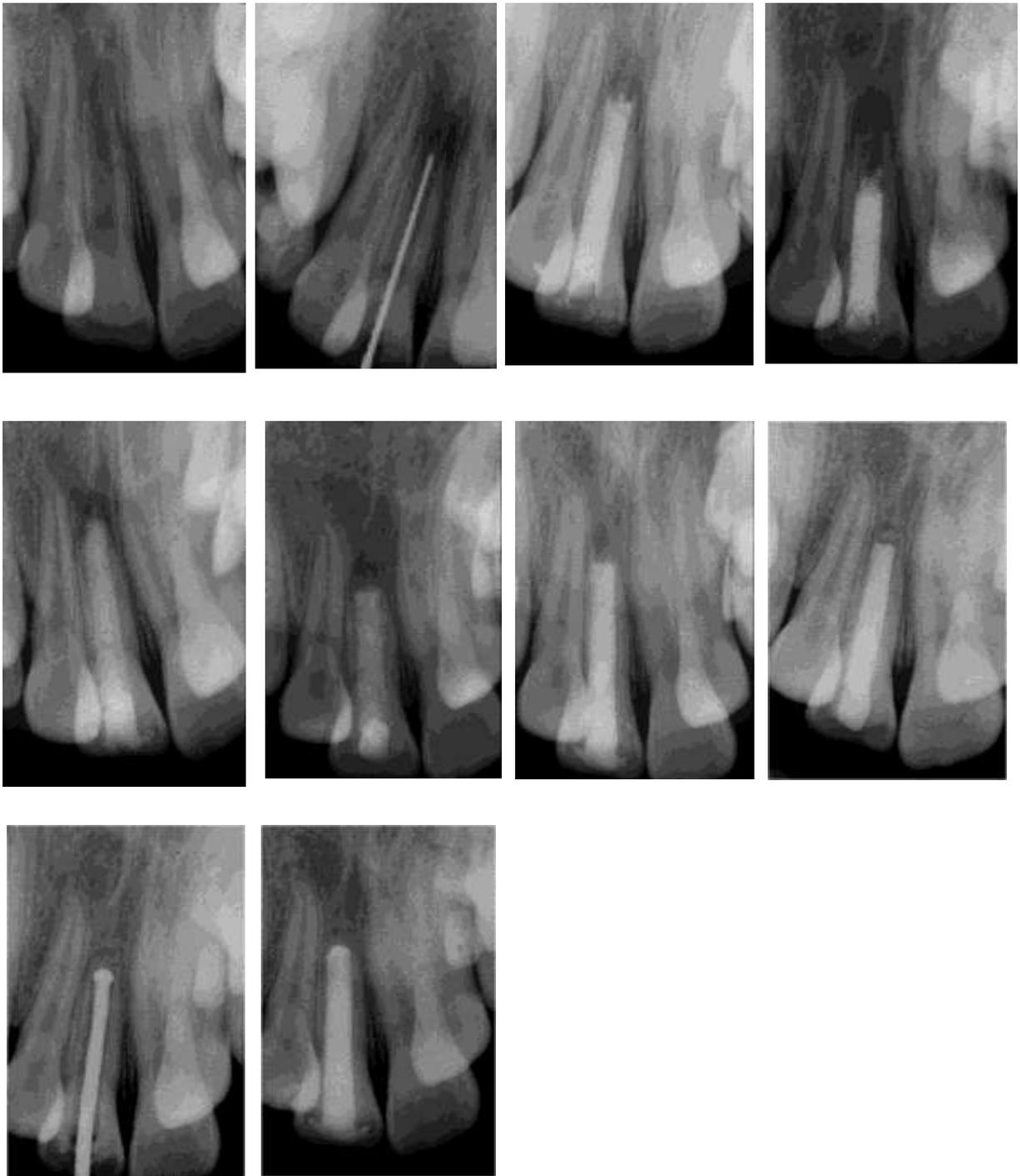


Fig. 42



GRUPO B – Caso N° 1
Yodo Yoduro de Potasio





GRUPO B – Caso N° 2
Yodo Yoduro de Potasio





GRUPO B – Caso N° 6
Yodo Yoduro de Potasio



Formación de la barrera apical en piezas dentarias con ápice inmaduro.

Grupo C = PMCFCA

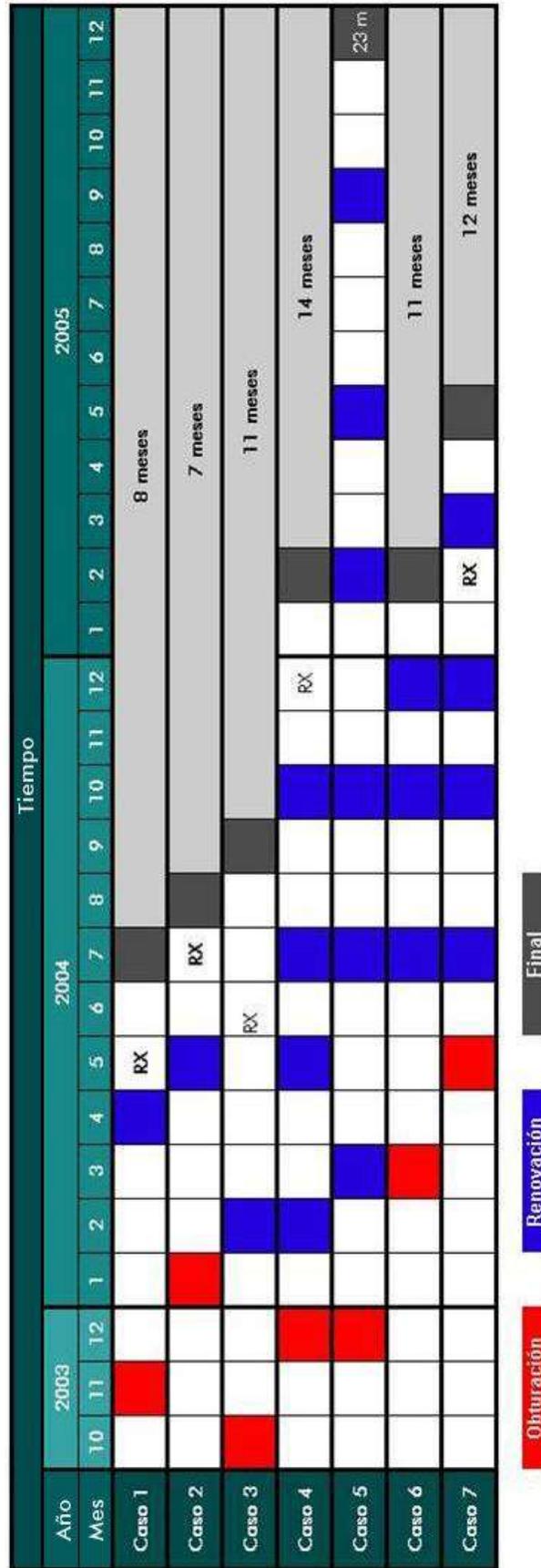


Fig. 43



GRUPO C – Caso N° 14
Paramonoclorofenol Alcanforado



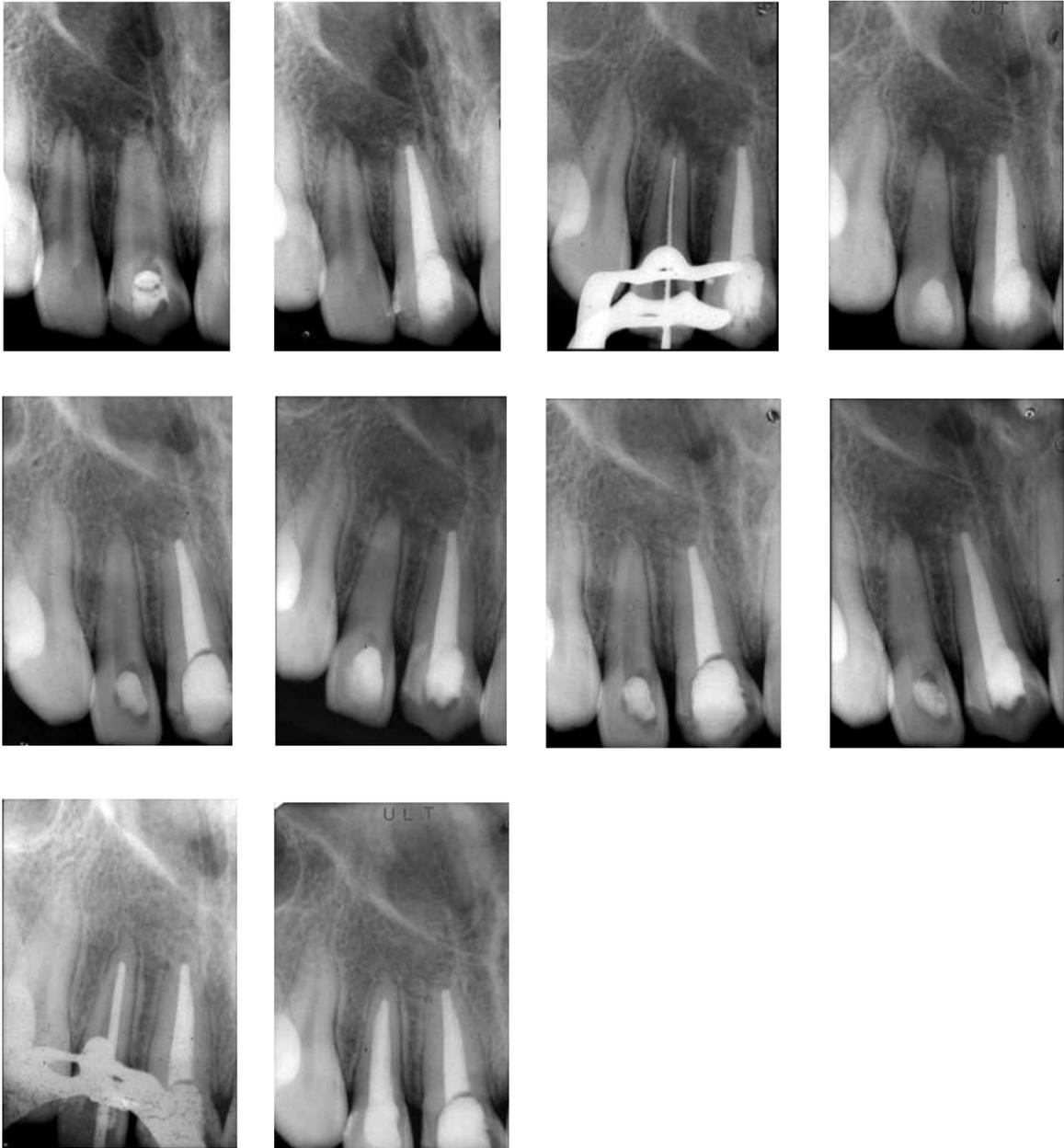


GRUPO C – Caso N° 15
Paramonoclorofenol Alcanforado





GRUPO C – Caso N° 18
Paramonoclorofenol Alcanforado





El tiempo medio requerido para la formación de la barrera apical o apexificación, - diagnosticada mediante estudio radiográfico y exploración clínica- fue de 7 meses para los casos tratados con IPI (Grupo B), y de 9 meses para los dientes tratados con NaClO (Grupo A) lapso que resultó significativamente menor ($p=0.045$) respecto al que necesitaron los dientes tratados con PMCFa (Grupo C) que fue de 15 meses (Fig. 44).

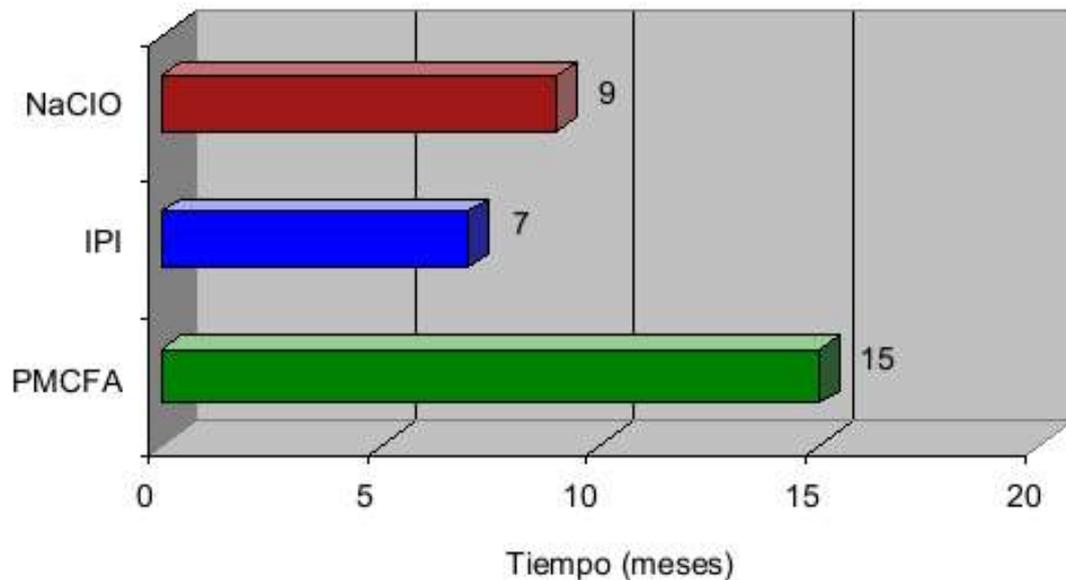


Fig. 44 Tiempo requerido para la formación de la barrera apical o apexificación en piezas dentarias con ápice inmaduro y diagnóstico de necrosis pulpar, tratadas con distintos agentes antisépticos. Los valores representan la mediana del tiempo que necesitaron para su reparación.

Con respecto a la relación entre tiempo requerido para la apicoformación y el grado de disminución del desarrollo bacteriano, se observó que entre ambos existía una relación estadísticamente significativa ($p = 0.026$).

En síntesis, los dientes tratados con IPI (Grupo B) –que necesitaron para la formación de la barrera apical un tiempo medio de 7 meses- mostraron, además, en los estudios bacteriológicos, una marcada disminución de las UFC/ml que era de 10^5 al inicio del tratamiento a 10^4 al final de los mismos, tanto en los microorganismos aerobios como anaerobios. A este grupo le siguió en orden de eficacia el tratado con NaClO (Grupo A) con una media de 9 meses y con un comportamiento similar al anterior en cuanto al desarrollo microbiológico. El uso de PMCFa resultó ser el menos efectivo en relación al tiempo de formación de la barrera apical, y también, en la disminución de bacterias anaerobias en los tres grupos analizados tal como se puede observar en la Fig. 46 y Tabla VIII.



Grupo	Tiempo de Formación de la Barrera Apical (meses)	Microorganismos					
		Grado de Desarrollo		Tipo microorganismo			
				Aerobio		Anaerobio	
		I	F	I	F	I	F
A (NaClO)	9	2 (10⁴)	1 (10³)	<i>Streptococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	Cocos gram (+) <i>Fusobacterium</i> <i>Prevotella</i> <i>Propionibacterium</i>	Cocos gram (+) <i>Fusobacterium</i> <i>Prevotella</i>
B (IPI)	7	3 (10⁵)	2 (10⁴)	<i>Streptococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Corynebacterium</i>	<i>Prevotella</i> Bacilo gram (-)	<i>Prevotella</i>
C (PMCFA)	15	1 (10³)	0 (<10²)	<i>Streptococcus</i> Bacilos gram (+) <i>Peptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Streptococcus</i> Bacilos gram (+)	<i>Peptococcus</i>	<i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i>

Tabla. VIII : Relación entre el tiempo de formación de la barrera apical y el grado de desarrollo bacteriano y el tipo de bacterias aisladas al final de cada antiséptico aplicado.

DISCUSIÓN





La presencia de bacterias en los túbulos dentinarios puede representar un importante reservorio microbiano con capacidad de promover infección o reinfección en los conductos radiculares antes o después de la terapia endodóntica (Ferrari y col. 2005).

El papel de las bacterias en la etiopatogenia de las patologías pulpares y perirradiculares se conoce desde fines del siglo XIX, pero, según Grossman (1959), todas las investigaciones sobre dientes desulpados efectuadas antes de los estudios que Fish & Mc Lean hicieron en 1936, carecen de validez.

Desde entonces, han sido numerosos los trabajos publicados e importantísimo el avance alcanzado en el campo de la microbiología. A mediados del siglo XX, con los estudios efectuados por Kakehashi y col. (1965), quedaron claramente establecidos distintos planteamientos que fueron difundidos y expandidos, años más tarde, por investigadores como Naidorf (1972), Moller y col. (1981), Fabricius y col. (1982), Sundqvist y col. (1989), Sundqvist (1992), Gomes y col. (1996), Baumgartner y col. (1999), Jacinto y col. (2003), Gomes y col. (2004), quienes determinaron la estrecha relación que existe entre el desarrollo de lesiones apicales y la presencia de microorganismos en el interior del conducto radicular.

Estudios microbiológicos realizados por Winkler y van Amerongen (1959), sugerían que la microflora endodóntica estaba constituida por especies aerobias y anaerobias, y posteriormente, autores tales como, Sundqvist y col. (1989), Sundqvist (1992), Baumgartner y col. (1999), Hancock y col. (2001), Peters y col. (2002), lo confirmaron.

Es importante resaltar que la mayoría de los trabajos de investigación microbiológica realizados hasta el año 1972, en conductos radiculares infectados, se circunscribían a la incubación aerobia. Por tal motivo, no se tenían en cuenta las especies anaerobias estrictas, las que actualmente son consideradas, quizás, como las principales protagonistas en infecciones endodónticas.

Gracias a esos estudios hoy se sabe que la flora microbiana de los conductos es muy variada, como así también, que entre los gérmenes aerobios se encuentran *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Acinetobacter* spp., Bacilos gram positivos y entre los anaerobios, *Fusobacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Peptococcus* spp., *Prevotella intermedia* y Cocos gram positivos.

No obstante, son escasos en la literatura los trabajos en los que se ha estudiado “in vivo” y en forma secuencial antes, durante y al finalizar el tratamiento,



el estado bacteriológico del conducto radicular en dientes permanentes inmaduros con diagnóstico de necrosis pulpar.

MacDonald y col. (1957), estudiaron “*in vivo*” los microorganismos alojados en conductos radiculares infectados, en un rango de 3 a 34 años de edad. Los resultados mostraron que el número de cepas aisladas variaba de 1 a 6; que el 32% de las mismas eran anaerobias; que no siempre se encontraban evidencias microbiológicas que demostraran relación con la imagen radiográfica.

En una experiencia “*in vivo*”, pero con una metodología distinta a la empleada en este estudio, Cvek (1976), hizo una evaluación radiográfica, microbiológica y clínica del efecto del hidróxido de calcio en incisivos permanentes maduros e inmaduros infectados, y concluyó que el tratamiento efectuado en una única sesión podía ser realizado en forma rutinaria. Estos autores, en el mismo año realizaron otro estudio, en el que compararon el efecto antimicrobiano que producía la instrumentación en los conductos radiculares de dientes inmaduros no vitales, con la que se obtenía en dientes maduros, utilizando como irrigación solución salina, hipoclorito de sodio al 0,5% y al 5%. Los resultados demostraron que en conductos radiculares inmaduros, con los instrumentos disponibles, no siempre es posible lograr una adecuada desinfección. Esta situación no debe ser compensada mediante el empleo de altas concentraciones de antisépticos, ya que éstos, si bien poseen un marcado efecto, suelen ser tóxicos para los tejidos periapicales.

Autores como Hashioka y col. (1992), Abou-Rass y Bogen (1998), Craig Baumgartner y col. (1999), Noda Mamoru y col. (2000), estudiaron “*in vivo*” los microorganismos en lesiones periapicales de dientes maduros. Los resultados obtenidos indican lo difícil que, a veces, resulta erradicar los microorganismos del conducto radicular durante el tratamiento, generalmente por factores anatómicos que impiden una correcta limpieza, o porque las bacterias colonizaron en la zona periapical, impidiendo, en consecuencia, la curación. Además determinaron un predominio de microorganismos anaerobios y una estrecha relación entre síntomas clínicos y la presencia de bacterias anaeróbicas.

Abou-Rass y Bogen (1998) estudiaron la presencia de microorganismos en lesiones periapicales cerradas. Los resultados mostraron la imposibilidad de erradicar, en todos los casos, los microorganismos del conducto radicular durante el tratamiento. En ello influye, tal como lo dijéramos, ciertos aspectos anatómicos que permiten la colonización bacteriana en zonas inaccesibles, o en los tejidos periapicales circundantes.



Hashioka y col. (1992), evaluaron la relación entre síntomas clínicos y la presencia de bacterias anaeróbicas. Los resultados obtenidos permitieron establecer una relación estrecha entre microorganismos anaerobios y dolor, en tanto la presencia de *Porphyromonas* (Bacteroides) fue relacionada con dolor y olor en conductos infectados. Años más tarde Craig Baumgartner y col. (1999), estudiaron la presencia de BPN en infecciones endodónticas, comprobando que el 55% de las muestras tomadas de conductos radiculares, contenían bacteroides pigmentados de negro.

Cabe aclarar que los resultados obtenidos en los estudios precedentes, que coinciden con los de Noda Mamoru y col. (2000) y Gomes y col. (2004), fueron realizados “in vivo”, pero en la mayoría de los casos en dientes maduros.

El objetivo fundamental -y tal vez el más importante- en el tratamiento de la necrosis pulpar en dientes con ápices inmaduros, es erradicar la microflora bacteriana, que es muy rica y variada, del conducto radicular y de sus ramificaciones, y ello sólo se consigue mediante el tratamiento químico-quirúrgico de la cavidad pulpar.

Entre las bacterias anaerobias facultativas aisladas en esta experiencia de los conductos, están las pertenecientes a los géneros *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., Bacilos gram positivos aerobios, y entre las anaerobias estrictas, *Fusobacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp. y *Prevotella intermedia*.

Con respecto a la presencia de *Streptococcus* en conductos radiculares maduros con necrosis pulpar, se han informado diferentes porcentajes. Ando y Hoshino (1990), Abou Rass y Bogen (1998), Siqueira y col. (2002), Chávez De Paz (2002), los encuentran entre el 13% y el 18%. Leavitt y col. (1958), Melville y Birch (1967) y Fox e Isemberg (1967) los describen entre el 33% y el 40%, porcentajes éstos con los que coincidimos, ya que en nuestro estudio se los detectó en un 33.33% de los casos, mientras que otros autores como Noda y col. (2000) reportaron cifras que llegaban al 54%.

En lo referente al género *Staphylococcus*, en esta experiencia el porcentaje fue del 46.61%, el que sin duda fue más alto que los hallados por, Winkler y van Amerongen (1959), Abou-Rass y Bogen (1998) y Pinheiro y col. (2003), ya que ellos los describieron entre el 10% y el 19%.

Otros microorganismos facultativos capaces de crecer y de sobrevivir en ambientes difíciles, ya que pueden subsistir prácticamente en cualquier ecosistema y han adquirido gran importancia en conductos infectados, son *Enterococcus* spp.,



que presentan una resistencia innata a la mayoría de los antibióticos y mínima sensibilidad a algunas de las sustancias utilizadas para su eliminación (Murria 1990).

Desde el punto de vista endodóntico, *Enterococcus faecalis* ha adquirido importancia en los últimos tiempos, debido, fundamentalmente, a que esta bacteria resulta difícil de eliminar del conducto con los medicamentos que actualmente se utilizan con ese fin. Algunas investigaciones han encontrado que *Enterococcus faecalis* forma parte, aunque en proporciones bajas, de la microbiota de dientes con pulpa necrótica sin tratar, por lo que, en coincidencia con Hancock y col. (2001), consideramos que su incidencia puede deberse a la entrada del microorganismo durante la terapia endodóntica, por un descuido en la asepsia. En el presente estudio no se detectó la presencia de *Enterococcus faecalis*.

Diversos autores han obtenido porcentajes disímiles en cuanto a la presencia de microorganismos anaerobios estrictos. Brown y Rudolph (1957), Aderhold (1981), Waltimo y col. (2003) los encontraron entre un 24% y un 28%; Leavitt y col. (1958) en un 33%; Oguntebi y col. (1982), Pinheiro y col. (2003) los detectaron en un 42,6% e Iwu y col. (1990) en un 45%. Sunde y col. (2002) lo hicieron en el 51%, cifra ésta que resulta muy cercana a la obtenida en nuestros resultados, ya que fue del 53.33%. Otros autores como Sabinston y col. (1976), Keudell y col. (1976), Zavistosky y col. (1980), Baumgartner y Falkler (1991), Gomes y col. (1994), Gomes y col. (1996), Abou-Rass y Bogen (1998) describieron porcentajes que oscilaban entre el 60% y el 66%. Wittgow y Sabiston (1975), Lewis y col. (1986) encontraron valores comprendidos entre un 70% y el 75%; Ando y Hoshino (1990), Le Goff y col. (1997) reportaron el 80%, en tanto que el porcentaje más elevado -95%- fue presentado por Sundqvist (1994).

Dentro de los anaerobios estrictos, en este estudio también se encontraron microorganismos pertenecientes al género *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* y *Prevotella*, tal como lo detectaran autores como Haapasalo y col. (1986), Sundqvist y col. (1989), Sundqvist (1992), van Winkelhoff y col. (1992), Hashioka y col. (1992) Lana y col. (2001), Peters y col. (2002), Siqueira JF y col. (2002), Jacinto y col. (2003).

Kantz y Henry (1974) y Moraes y col. (2002) señalan que del total de microorganismos anaerobios aislados, del 31% al 39% correspondía a *Fusobacterium nucleatum*, mientras que Siqueira y col. (2002) encontraron sólo un 14,3%, cifra que se aproxima a la obtenida en este trabajo, que fue del 19,04%. Los autores citados, al igual que Fabricius y col. (1982), Chávez de Paz (2002),



relacionaron la presencia de *Fusobacterium* spp. con ciertos síntomas y signos y con agudizaciones endodónticas en piezas infectadas durante el tratamiento.

Contrariamente a estas observaciones, en ninguno de los casos tratados en esta experiencia se presentaron síntomas típicos de agudizaciones como edema, dolor o fístula, aun cuando este tipo de microorganismo estaba presente y en ningún caso se medicó con antibiótico, ni antes de iniciar el tratamiento, ni durante ni después.

Diferentes especies de *Peptostreptococcus* se han identificado en conductos radiculares, a veces asociados con sintomatología dolorosa (Gomes y col.1994, Jacinto y col.2003). Estudios realizados por Siqueira y col. (2003) determinaron la presencia de este microorganismo en infecciones primarias, comprobando un porcentaje del 28%.

En la experiencia que nos ocupa, también se detectó la presencia de *Peptostreptococcus* spp., pero en porcentajes menores, ya que fue del 9,52% al inicio del tratamiento, y del 4,76% al final del mismo, porcentaje que fue observado en un solo caso.

Una de las especies que en todos los tratamientos de este estudio permaneció en el mismo grado de desarrollo, tanto al comienzo como al finalizarlo, pese a la aplicación de antimicrobianos, fue *Prevotella*. Esta bacteria anaerobia estricta no esporulada, es reconocida por Castillo Pérez (2002) por su patogenicidad en los procesos infecciosos pulpares.

Sundqvist, y col. (1989) informan que su accionar patogénico no es bien conocido, pero se cree que participa en los procesos infecciosos conjuntamente con otras bacterias. Este modo de funcionar en conjunto podría permitir una acción infecciosa sinérgica, lo que hace difícil su eliminación o disminución, al contrario de lo que sucede con las mono-infecciones de anaerobios obligados.

Según Love y Jenkinson (2002) el medio anaeróbico y la posible presencia de componentes tisulares como hemina, favorecerían el crecimiento y la sobrevivencia de estas bacterias.

Numerosas investigaciones microbiológicas sobre patologías apicales han evidenciado que los hongos pueden ser aislados de conductos radiculares en cultivos puros y junto con bacterias. Los más frecuentes pertenecen al género de las *Candidas*.

Al igual que lo que ocurre con otros microorganismos, los porcentajes son muy variados. Fox e Isemberg (1967) y Cheung y Ho (2001) los detectaron en un 2%; Pinheiro y col. (2003) en un 3,33%; Slack (1958), Molander y col. (1998) en el



5%, Waltimo y col. (1997) en el 7%, Leavitt y col. (1958) entre el 12% y el 16%, Grossman (1952) en un 17%, mientras que Najzar-Fleger y col. (1992), reportaron que el 55% de los conductos infectados contenían *Candidas*.

En un estudio realizado por Waltimo y col. (2003), llevado a cabo por métodos de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), no se evidenció la presencia específica de esta especie, poniendo en tela de juicio los resultados anteriormente obtenidos con otras técnicas de identificación microbiológica. En el presente trabajo, tampoco se detectó la presencia de hongos en ninguno de los casos tratados.

Estrela (1997) sostiene que a lo largo de los años se ha demostrado que la eficacia de la instrumentación mecánica, asociada al empleo de sustancias antimicrobianas, es lo que verdaderamente lleva a la recuperación de los tejidos periapicales, y por ende, al éxito del tratamiento

En el presente estudio, que es eminentemente clínico, se experimentaron tres antisépticos: Grupo A: hipoclorito de sodio (NaClO) al 2,5% como irrigante del conducto radicular y al 5% como medicación tópica; en el Grupo B: yodo yoduro de potasio (IPI), como irrigante y medicación tópica y en el Grupo C, paramonoclorofenol alcanforado (PMCFa), como medicación tópica, además de NaClO al 2,5% como irrigante.

En general, estos antimicrobianos permitieron un marcado descenso en el desarrollo bacteriano. Por otra parte, no provocaron una disminución en el desarrollo de todas las especies bacterianas aisladas, ya que algunas no modificaron su desarrollo desde el comienzo al final del tratamiento, mientras que otras disminuyeron significativamente.

En cuanto al NaClO, Canalda (2001) considera que es un agente antibacteriano muy eficaz, ya que puede destruir los microorganismos presentes en conductos radiculares, aun cuando estén en forma de esporas. Posee baja tensión superficial, lo que facilita su penetración a través de las múltiples irregularidades del sistema del conducto radicular. Además, disuelve el tejido orgánico y por su pH alcalino (11,8), neutraliza la acidez del medio, creando un ambiente inadecuado para el desarrollo bacteriano. Delpon (2004), expresa que por su acción detergente, actúa sobre los ácidos grasos a los que saponifica y transforma en jabones solubles. Mondragón Espinosa (1995) resalta sus propiedades decolorantes y efecto desodorizante; considera además que su acción irritante es escasa, siempre que se lo utilice en concentraciones moderadas, esto último debido a su acción oxidante sobre las bacterias



Los interrogantes en torno a su empleo se centran en establecer la concentración apropiada, en el método de administración y en el posible daño celular que puede ocasionar cuando la sustancia es impulsada hacia los tejidos perirradiculares, más aún cuando se trata de dientes permanentes que no han completado su formación radicular, tal como ocurre en los casos que nos ocupa.

En estudios realizados por Jeansonne y White (1994), Yang y col. (1996), Kuruvilla y Kamath (1998), Yamashita y col. (2003), se analizaron comparativamente soluciones al 2,5% y 5% de NaClO, y comprobaron que estas concentraciones pueden contribuir a la eliminación de la mayor parte de los remanentes de tejido que quedaron en el conducto, y que ambas reducen significativamente el número de unidades formadoras de colonias (UFC/ml).

En esta experiencia clínica quedó evidenciada la efectividad de la solución de NaClO al 5%, aun cuando no se utilizó como agente irrigante sino como medicación tópica, ya que provocó una disminución significativa en el desarrollo bacteriano, tanto sobre bacterias aerobias (10^4 inicio, 10^3 final) como anaerobias (10^3 inicio, 10^2 final), sobre todo en estas últimas.

En este aspecto, los resultados coinciden con las observaciones de Fisher y Huerta (1984), quienes comprobaron que esa concentración era muy efectiva sobre microorganismos anaerobios presentes en conductos radiculares infectados.

Ayhan y col. (1999), Gomes y col. (2001), Silva y col. (2002), Sassone y col. (2003), Oncag y col. (2003), señalan que en una concentración al 5%, el NaClO es capaz de eliminar totalmente *Fusobacterium*. Sin embargo, en nuestra experiencia no se obtuvo una supresión total de este tipo de bacteria anaerobia, aun cuando su disminución fue significativa. Su reducción se observó en el 50% de los casos y fue de 10^4 UFC/ml en el inicio y de 10^3 UFC/ml al finalizar el tratamiento.

Grossman (1981) recomendaba utilizar soluciones al 5% de NaClO como irrigante del conducto, pero esta concentración, poco a poco, fue reemplazada por soluciones más bajas, posiblemente porque al ser tan alta, también era alto el riesgo que se corría cuando se lo utilizaba. Baumgartner y Cuenin (1992), determinaron que la concentración mínima de hipoclorito de sodio para que fuera efectiva es del 1%. En tanto, Cunningham y Balekjian (1980) concluyeron que una concentración al 2,5% era eficaz para disolver el tejido necrótico y reducir el número de bacterias presentes en los conductos radiculares. En esta experiencia hemos recobrado la concentración al 5%, pero no como agente de irrigación, sino, como medicación tópica, recuperando, de esta manera su eficacia y evitando muchos de los posibles inconvenientes y accidentes que pudieran ocurrir.



El IPI, muy utilizado en los países escandinavos, se caracteriza por ser un compuesto orgánico con alto contenido de yodo al que libera lentamente. Este medicamento posee, según Safavi y col. (1985), excelente acción antimicrobiana, mínima toxicidad y escasa acción irritante sobre los tejidos, y de acuerdo a la opinión de Delpón (2004), es un potente germicida y fungicida, puesto que destruye bacterias sin acción selectiva, incluyendo esporas, amebas y virus. Puede ser utilizado en casos resistentes al tratamiento (Canalda 2001). En pacientes alérgicos debidamente comprobados, el uso del yodo está contraindicado. En dientes anteriores se debe utilizar con precaución por sus características tintóreas.

En pruebas realizadas tanto “in vivo” como “in vitro”, para evaluar la toxicidad e irritación que provocan los diferentes agentes antimicrobianos de uso endodóntico sobre los tejidos periapicales, el yodo yodurada de potasio al 2% resultó ser el medicamento que produjo menos cambios en los tejidos y un insignificante incremento de células inflamatorias (Spangberg y col. 1979).

Su eficacia antibacteriana fue evaluada por Gencoglu y Lekci (1992) sobre algunos microorganismos anaerobios como *Peptostreptococcus* spp., quienes lo consideraron no efectivo. Sin embargo, en nuestro estudio, el IPI produjo una disminución significativa, observándose valores por debajo de 10^2 UFC/ml, al igual que los Bacilos gram negativos anaerobios no pigmentados, esto permitió corroborar con claridad la excelente actividad antimicrobiana que presenta este medicamento.

En diversos estudios realizados por Spangberg y col. (1973), Hasselgren y Stromberg (1976), Lamers y col. (1980), Safavi y col. (1985) se lo consideró como un buen fármaco para ser empleado entre sesiones, puesto que posee gran poder antibacteriano.

El PMCFA es un compuesto que posee acción antiséptica y sedativa y es capaz de destruir gran parte de los microorganismos presentes en los conductos infectados. Su acción antibacteriana, según Canalda (2001), deriva de los dos radicales que lo componen: el fenol y el cloro. Posee un notable efecto antimicrobiano, aunque es tóxico para los tejidos vitales, por lo que su aplicación podría retardar la reparación apical. Su efectividad es inhibida por la presencia de sangre o de tejidos necróticos. Harrison y Madonia (1970-1971) y Chang y col. (1999), consideran que pierde efectividad entre tres a cinco días. Canalda (2001) expresa que el efecto antiséptico se reduce en un 90% en las primeras 24hs.



Soekanto y col. (1996) lo consideran como uno de los antimicrobianos más potentes y como un agente citotóxico, especialmente sobre los fibroblastos de la pulpa.

En la actualidad el PMCFa es el medicamento de elección para realizar la antisepsia de los conductos radiculares infectados. En nuestro estudio el PMCFa mostró ser muy efectivo sobre las bacterias aerobias (10^3 inicio, 10^2 final), no así respecto a las anaerobias. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Raiden y col. (1998), quienes expresan que PMCFa tiene una importante acción sobre los microorganismos aerobios más resistentes al tratamiento; que comparativamente es menos activo sobre anaerobios y que es prácticamente no irritante en condiciones de uso clínico. Salaverry y col. (2005), comprobaron que posee actividad antiséptica bactericida ante ciertas cepas anaerobias tales como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*.

De los agentes antisépticos utilizados en esta experiencia, el IPI mostró ser el más efectivo en cuanto a su efecto antibacteriano. Le siguió el NaClO y por último, el PMCFa. Masillamoni y col. (1981) obtuvieron resultados similares, y ubican también al PMCFa como el menos efectivo. Sin embargo, hay varios estudios que encuentran en él la misma efectividad que demostraron tener los otros dos agentes probados (Chávez de Paz 2002, Ferrari y col. 2005, Salaverry y col. 2005).

Las ventajas observadas en el IPI respecto a las otras sustancias se debe a que posee, según Stringberg (1956), Safavi y col. (1985), Spangberg y col. (1973-1979), importantes propiedades antimicrobianas sobre bacterias tanto aerobias como anaerobias. Es además, biocompatible con los tejidos y no tiene efecto tóxico. Sin embargo, a pesar de que se lo considera como un buen antimicrobiano, es un agente poco utilizado debido a que puede producir reacciones alérgicas y que posee características tintóreas (Delpon 2004). Por lo tanto, puede ser utilizado siempre que se confeccione una minuciosa historia clínica y en piezas dentales donde no importa el aspecto estético.

En el presente estudio utilizamos tres antisépticos: NaClO, IPI y PMCFa. El objetivo final del tratamiento endodóntico en el diente permanente joven con pulpa necrótica, es lograr la formación de una barrera que cierre el ápice, proceso que se conoce como apexificación o apicoformación (Rule y Patel 1999).

Östby, en el año 1961, con una visión muy particular, consideraba como fenómeno biológico de apexificación, no colocar ningún medicamento activador en el conducto para estimular la producción de un tejido cementario a nivel del ápice



del diente, pero recomendaba lacerar, durante la preparación quirúrgica, los tejidos periapicales, a los efectos de provocar sangrado y formación de un coágulo que induciría a un depósito de tejido semejante al cemento, logrando de esta manera la formación de la barrera apical.

Chawla y col. (1980), Das (1980) y Moller y col. (1981) consideraban que la pulpa necrótica infectada producía una severa reacción inflamatoria en los tejidos periapicales, por lo tanto, si ella era removida, se creaba un medio adecuado que permitiría la formación de la barrera apical sin el uso de un medicamento en el interior del conducto.

Por otra parte, autores como Erdogan (1997), Caliskan y col. (1997), Sheehy y Roberts (1997), Gupta y col. (1999), Whittle (2000), Dominguez Reyes y col. (2005), Felipe y col. (2005), Rafter (2005), ven a la apexificación como un proceso natural que debe ser estimulado por un activador biológico, recurriendo al hidróxido de calcio como medicación más efectiva.

Esta visión, que es aun la aceptada, requiere de la remoción del tejido pulpar necrótico infectado del interior del conducto; de la utilización de agentes que coadyuven a la disminución de los microorganismos presentes en él y del empleo de un material en su interior que induzca la formación de la barrera apical como factor crítico en la apexificación.

El seguimiento de los tratamientos realizados en este trabajo y el análisis del proceso evolutivo que experimentaban a través del tiempo, permitió constatar y valorar la importancia que tiene crear en el conducto, mediante la limpieza mecánica y la desinfección con agentes antisépticos adecuados, un ambiente propicio, como también utilizar materiales que estimulen o simplemente, que preparen el terreno para que se produzca la ápico-formación.

Varios medicamentos han sido empleados con este fin, siendo, sin duda, el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ el más utilizado. Es un polvo granular, amorfo y fino, que posee un pH muy alcalino, aproximadamente de 12.4 a 13, lo cual le confiere propiedades bactericidas (Lasala 1992, Nerwich y col. 1993, Mondragón Espinosa 1995). Su densidad es de 2.1, puede disolverse ligeramente en agua, es insoluble en alcohol y algo en glicerina. Cuando se utiliza éste último vehículo, mejora sus propiedades, ya que le confiere densidad a la pasta y le permite penetrar en profundidad (Rivera y William 1994, Gomes y col. 2002).

El hidróxido de calcio, para muchos autores (Binnie y Rowe 1973, Heithersay 1975, Cvek y col. 1976, Andreasen 1981, Byström y col. 1985, Çaliskan y col. 1998, Wadachi y col. 1998) posee una importante capacidad



ostegénica u osteoinductora y, en los últimos años, se ha convertido en el material más utilizado dentro del campo de la endodoncia. Su empleo deriva de los efectos beneficiosos que posee, tales como control microbiano, disolvente de material orgánico, efecto antiinflamatorio, como control del exudado de la zona periapical y de la reabsorción radicular que normalmente se produce en las lesiones periapicales crónicas, reabsorciones inflamatorias externas producidas por traumatismos, luxaciones e implantes; como control de la reabsorción dentinaria interna; también en el manejo de las perforaciones y cuando se desee estimular la formación de tejido duro. Además, es usado como material de obturación temporaria entre citas.

En estos momentos, el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en forma de pasta o integrando otros compuestos medicamentosos, es el material de elección para lograr el cierre apical.

A fines del siglo pasado, Torabinejad (1993) introdujo el empleo del “mineral trioxide aggregate” (MTA) que posee alto contenido de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al que libera lentamente. Es un polvo que consta de partículas finas hidrofílicas que endurece en presencia de humedad, compuesto principalmente por silicato tricálcico, aluminato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato férrico tetracálcico, óxido de bismuto, y sulfato de calcio dihidratado. Es un cemento muy alcalino, con un pH de 12,5, muy similar al $\text{Ca}(\text{OH})_2$, por lo que posee efectos antibacterianos (Torabinejad y col. 1995). Otras características del MTA son su baja solubilidad y su radiopacidad que es mayor que la de la dentina (Shah y col. 1996), es estable, biocompatible y se lo ha utilizado como barrera apical para permitir la obturación del conducto radicular en una única sesión operatoria (Shabahang y col. 1997).

El éxito de la apexificación con el uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ es bastante elevado. Sheehy y Roberts (1997) y Mackie y Hill (1999) lo lograron en el 86% de los casos; Azul (1990) en el 94%, Ghose y col. (1987) en el 96% y Domínguez Reyes y col. (2005) en el 100%. Nuestros resultados coinciden con los de estos últimos autores, ya que en los 21 dientes tratados con esta técnica se logró tanto la reparación periapical como la formación de la barrera a nivel del ápice, lo que equivale al 100%.

El tiempo requerido para lograr el cierre apical dependería, para algunos autores, de la frecuencia con que es renovada la obturación con hidróxido de calcio. Maisto (1975) está entre estos autores, ya que consideraba que su acción se limitaba sólo a la zona donde el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ contactaba con los tejidos periapicales. Sin embargo, autores como Gupta y col. (1999) y Felipe y col. (2005) observaron que el puente calcificado se producía aun cuando el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ era colocado en una



única sesión. Por el contrario, Felipe y col. (2005) consideran, y como él muchos autores, que la renovación de la obturación favorecería las condiciones del tejido periapical.

En esta experiencia la formación de la barrera apical se logró obturando los conductos, en todos los casos, con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ vehiculizado con propilenglicol, renovándolo cuando en los controles radiográficos efectuados bimestralmente se observaba reabsorción de la pasta.

El vehículo citado, según estudios realizados por Simon y col. (1995), hace que se produzca una liberación controlada y sostenida de iones OH^- y Ca^+ , y esto permite mantener el pH en un nivel adecuado para que ocurra el cierre del ápice y la reparación de los tejidos adyacentes.

Existen discrepancias en cuanto al tiempo que debe transcurrir para que se forme la barrera apical. Para Ghose y col. (1987), Caliskan y col. (1997), Iwaya y col. (2001) es un tanto breve ya que lo establecen entre 3 y 15 meses, mientras que para Grossman (1981), Erdogan (1987), Sheehy y Roberts (1997), Finucane y Kinirons (1999), Gupta y col. (1999), Kinirons y col. (2001), Domínguez Reyes y col. (2005), entre otros, los períodos serían más largos y oscilarían entre 8 y 24 meses.

Según la evolución de los tratamientos realizados en los tres estudios clínicos que integran esta experiencia, el tiempo extendido entre el inicio del tratamiento y el de formación de la barrera apical, que fue determinado según los parámetros previamente establecidos, osciló entre 8 y 23 meses. Cabe remarcar que el lapso transcurrido parecía guardar relación con el tipo del agente antimicrobiano utilizado y el efecto que ellos producían sobre la flora bacteriana contenida en los conductos radiculares, ya que las medias correspondientes a cada grupo de estudio fueron distintas. Necesitó una media de 7 meses en el grupo donde se empleó IPI (Grupo B), de 9 meses cuando se empleó NaClO (Grupo A) y de 15 meses con el empleo de PMCFa (Grupo C).

La reducción del tiempo requerido para lograr visualizar y detectar el puente apical en el Grupo B, podría deberse no sólo a que se empleó IPI como antiséptico, lo que produjo una significativa disminución de bacterias tanto aerobias como anaerobias, sino también, a la incorporación de yodoformo a la pasta obturadora alcalina ($\text{Ca}(\text{OH})_2$ e yodoformo en partes iguales), tal como recomendaba Maisto y Capurro (1975).

El yodoformo, según Maresca y col. (2002), posee propiedades analgésicas y efecto antibacteriano prolongado, debido a que posee un 96% de yodo al que libera lentamente cuando entra en contacto con los líquidos orgánicos. Su acción



antiséptica es débil pero persistente y efectiva, es bien tolerado por los tejidos y presenta poca acción irritante.

Con respecto al NaClO, el cual ocupó el segundo lugar en cuanto a efectividad, presentó en los estudios microbiológicos, una disminución significativa, tanto sobre bacterias aerobias como anaerobias, similar a la hallada en los dientes donde se utilizó IPI. Esta respuesta sobre la microflora de conductos radiculares con ápice inmaduro, observada en los Grupos A y B permitió, sin lugar a dudas, mejorar las condiciones del medio, y de esta manera, favorecer la rápida formación de la barrera apical.

Los resultados bacteriológicos obtenidos en el Grupo C, donde se utilizó PMCFAs como agente antimicrobiano, mostraron un comportamiento efectivo sobre bacterias aerobias e irregular sobre anaerobias, y esto es coincidente con el retardo mostrado en el tiempo requerido para la apexificación. Podría considerarse, además, como causantes de esta demora, la toxicidad que este antiséptico presenta sobre los tejidos vivos, ya que su efecto puede ir más allá del foramen y actuar sobre los tejidos periapicales, o quizás también a la pérdida de su efectividad provocada por la presencia de sangre o de tejido necrosado, tal como lo señala Canalda (2001). No obstante, algunos autores (Chávez de Paz 2002, Ferrari 2005, Salaverry y col. 2005) sostienen que el PMCFAs es tan efectivo como los dos agentes previamente mencionados.

Es importante resaltar que mediante las técnicas aplicadas, no sólo se obtuvo éxito en el 100% de los casos, sino también, silencio clínico postratamiento en todos los casos, ya que ningún paciente presentó síntomas de reagudización, aun cuando ellos no eran medicados, ni antes, ni durante, ni después del tratamiento.

Las características del tejido calcificado que cierra la apertura apical son variadas.

Torneck y Smith (1970) señalan en su estudio que la formación de dicha barrera parece estar más relacionada con un incremento de trabeculado óseo que con un depósito de tejido duro dental. Por el contrario, Dylewski (1971) afirma que el tejido calcificado que cierra el ápice es una proliferación de tejido conectivo que se diferencia en una estructura que se asemeja a la dentina y al hueso, por lo que se identifica como osteodentina, la cual llega a continuarse con la predentina del ápice.

Estudios histológicos realizados en animales y humanos por Torneck (1970) y Yates (1988), mostraron que la reparación apical estaba constituida por un tejido



que presentaba características propias del cemento y del hueso, con inclusiones de tejido conectivo.

La barrera apical suele tener, según Torneck (1970), la apariencia de un estroma incompletamente calcificado, y esto indica, según Goldman (1974), que no es un tejido totalmente sólido. La génesis de este tejido, en ocasiones, puede tener relación con las células odontogénicas residuales de la pulpa y de la vaina epitelial de Hertwig, las cuales pueden haber sobrevivido al proceso inflamatorio.

Los estudios “*in vitro*” han contribuido ampliamente al conocimiento del accionar de los antimicrobianos respecto a su capacidad para disminuir -o inhibir- el desarrollo de diferentes tipos bacterianos alojados en los conductos radiculares. Sin embargo, la cavidad endodóntica -reconocida como un ecosistema- es muy compleja, y por lo tanto, los estudios “*in vivo*” aportan conocimientos que son imprescindibles para buscar la terapia acorde al problema, y de esta manera poder incrementar el éxito en el tratamiento endodóntico.

CONCLUSIONES





Los resultados obtenidos permiten concluir que:

- 1) La flora bacteriana detectada en conductos radiculares de dientes inmaduros con diagnóstico de necrosis pulpar fue polimicrobiana, con un número de 5 a 7 especies por conducto y un predominio de bacterias anaerobias.
- 2) Los microorganismos anaerobios encontrados con frecuencia y mayor inóculo bacteriano fueron: *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium spp.*, entre las bacterias gram negativas y *Propionibacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Peptococcus* entre las gram positivas. Dentro de las aerobias fueron los bacilos gram positivos *Corynebacterium spp.* y otros *Actinomycetales*, *Streptococcus* del grupo viridans y *Staphylococcus coagulasa negativa*.
- 3) La cepa anaerobia más fácil de eliminar fue *Propionibacterium spp.*, mientras que *Prevotella intermedia* no pudo ser erradicada con ninguno de los antisépticos empleados.
- 4) Los tres antisépticos utilizados mostraron ser eficaces para disminuir los UFC/ml de las cepas aisladas. Sin embargo, el más efectivo -tanto para bacterias aerobias como anaerobias- fue el yodo yoduro de potasio, siguiéndole en efectividad el hipoclorito de sodio, y por último, el paramonoclorofenol alcanforado que demostró ser efectivo ante bacterias aerobias y tener un comportamiento irregular frente a las anaerobias.
- 5) Los resultados obtenidos nos permiten aseverar que el tratamiento de apexificación requiere, como primera medida, aplicar, dentro del conducto radicular, una adecuada medicación tópica que elimine o disminuya la presencia de microorganismos, y sugerir, dadas sus propiedades y efectividad, el empleo del yodo yoduro de potasio o de hipoclorito de sodio al 5% para tal fin.
- 6) En la totalidad de los dientes tratados se obtuvo - según parámetros preestablecidos- reparación de las lesiones periapicales y formación de la barrera apical, independientemente del antiséptico utilizado y del tiempo transcurrido hasta dichas comprobaciones.



- 7) Los dientes tratados con yodo yoduro de potasio requirieron una media de 7 meses para formar la barrera apical y mostraron una marcada disminución de microorganismos aerobios y anaerobios. Le siguieron los tratados con hipoclorito de sodio con una media de 9 meses y un comportamiento similar en cuanto al desarrollo microbiológico. Los casos medicados con paramonoclorofenol alcanforado necesitaron para reparar una media de 15 meses y se observó escasa efectividad sobre las bacterias anaerobias.
- 8) El tiempo requerido para lograr la reparación ápico-periapical parece guardar relación directa con la persistencia de gérmenes en el interior del conducto, ya que en los dientes tratados con yodo yoduro de potasio o con hipoclorito de sodio al 5%, el lapso transcurrido fue significativamente menor ($p= 0.045$) respecto a los que necesitaron los tratados con paramonoclorofenol alcanforado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS





- Abou-Rass M, Bogen G (1998) Microorganisms in closed periapical lesions. *Int Endod J* 31:39-47.
- Aderhold L, Knothe H, Frenkel G.(1981) The bacteriology of dentogenous pyogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 52: 583-587.
- Akpata ES, Blechman H (1982) Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. *J Dent Res.* 61:435-438.
- Ando N, Hoshino E (1990) Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. *Int Endod J.* 23: 20-27.
- Andreasen JO (1981) Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod.* 7:294-301.
- Avny WY, Heiman GR, Madonia JV (1973) Autoradiographic studies of the intracanal of aqueous and camphorated parachlorophenol in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 36:80-89.
- Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. (1999) Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J.* 32:99-102
- Azul AC.(1990) Apexificacao com hidroxido de calcio. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac.* 31:39-46.
- Barbosa CA, Goncalves RB, Siqueira JF Jr, De Uzeda M. (1997) Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *J Endod.* 23:297-300.
- Barnard D, Davies J, Figdor D. (1996) Susceptibility of *Actinomyces israelii* to antibiotics, sodium hypochlorite and calcium hydroxide. *Int Endod J.* 29:320-326.
- Barthel CR, Levin LG, Reisner HM, Trope M.(1997) TNF-alpha release in monocytes after exposure to calcium hydroxide treated *Escherichia coli* LPS. *Int Endod J* 30:155-159.
- Basson NJ, Tait CM. (2001) Effectiveness of three root canal medicaments to eliminate *Actinomyces israelii* from infected dentinal tubules in vitro. *SADJ* 56:499-501.
- Baumgartner JC, Cuenin PR. (1992) Efficacy of several concentrations of sodium hypochlorite for root canal irrigation. *J Endod.* 18: 605-612.
- Baumgartner JC, Falkler WA.(1991) Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals. *J Endod.*17: 380-383.
- Baumgartner JC, Khemaleelakul S. Xia T.(2003) Identification of spirochetes (treponemes) in endodontic infections.*J Endod.* 29:794-797.



- Baumgartner JC, Watkins BJ, Bae KS, Xia T.(1999) Association of black-pigmented bacteria with endodontic infections. J Endod 25:413-415.
- Berkiten M, Okar I, Berkiten R. (2000) In vitro study of the penetration of Streptococcus sanguis and Prevotella intermedia strains into human dentinal tubules. J Endod 26:236-239.
- Bibel DJ (1983) The discovery of the oral flora a 300-year retrospective. J Am Dent Assoc 107 : 569-570.
- Binnie WH, Rowe AH. (1973) A histological study of the periapical tissues of incompletely formed pulpless teeth filled with calcium hydroxide. J Dent Res 52: 1110-1116.
- Borovio Enciso MV, Perea Pérez EJ. Espiroquetas. Géneros Treponema, Borrelia y Leptospira. En: Microbiología oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1995, pp 281-295.
- Brown LR, Rudolph CE.(1957) Isolation and identification of microorganisms from unexposed canals of pulp-involved teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol.10: 1094-1099.
- Buckley JP (1904) The chemistry of pulp decomposition, with a rational treatment for this condition and secuelae. Dent Digest. 13: 1426-1438.
- Burket LW. (1938) Recent studies relating to periapical infections, including data obtained from human necroscopy studies. J Am Dent Assoc. 25: 260.
- Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G.(1985) The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. Endod Dent Traumatol. 1:170-175.
- Bystrom A, Happonen RP, Sjogren U, Sundqvist G.(1987) Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. Endod Dent Traumatol. 3:58-63.
- Bystrom A, Sundqvist G (1981) Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. Scand J Dent Res 89:321-328.
- Bystrom A, Sundqvist G.(1983) Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy.Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 55: 307-312.
- Caliskan MK, Turkun M, Turkun LS.(1998) Effect of calcium hydroxide as an intracanal dressing on apical leakage. Int Endod J. 31:173-177.
- Calt S, Serper A.(1999) Dentinal tubules penetration of root canal sealers after root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod 25: 431-433.



- Canalda C. Medicación intraconducto. En: Endodoncia: técnicas clínicas y bases científicas. Canalda C, Brau E. Masson, Madrid, 2001, pp. 184-193.
- Carrel A (1915) Abortive treatment of wound infection. Br Med J. 2:609.
- Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML, Sinai IH.(1984) A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. J Endod. 10: 359-363.
- Castillo Pérez AM, Liébana Ureña J, Andrés Gómez MT. Bacterias anaerobias estrictas de interés oral (I). Caracteres generales. Anaerobios esporulados. En: Microbiología oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 365-373.
- Castillo Pérez AM, Liébana Ureña J, Andrés Gómez MT. Bacterias anaerobias estrictas de interes oral (II). Anaerobios no esporulados. En: Microbiología oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 375-386.
- Chang YC, Tai KW, Chou LS, Chou MY. (1999) Effects of camphorated parachlorophenol on human periodontal ligament cells in vitro. J Endod. 25:779-781.
- Chávez de Paz Villanueva LE.(2002) Fusobacterium nucleatum in endodontic flare-ups. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 93:179-183.
- Chawla HS, Tewari A, Ramakrishnan E.(1980) A study of apexification without a catalyst paste. ASDC J Dent Child. 47:431-434.
- Cheung G, Ho M.(2001) Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions Oral Microbiol Immunol. 16: 332-337.
- Council on Dental Therapeutics. (1986) Guidelines for acceptance of chemotherapeutic products for the control of supragingival dental plaque and gingivitis. J Am Dent Assoc. 112: 529-532.
- Craig Baumgartner, Leif K. Bakland EI. Microbiología de la endodoncia y asepsia en la práctica endodóntica. En: Endodoncia. Ingle JI. McGraw-Hill Interamericana, México, 2003, pp 63-93.
- Crawford JJ, Shankle RJ. (1961) Aplicación de nuevas métodos para estudiar la importancia de los canales radiculares y la microbiota oral en endodoncia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 14:1109-1123.
- Cruz González E. Irrigación de los conductos radiculares. En: Endodoncia Mondragón Espinosa JD. McGraw-Hill Interamericana, México, 1995, pp 109-122.
- Cunningham WT, Joseph SW.(1980) Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 50: 569-571.



- Curtis H, Barnes S. Ecosistemas. En: Biología. Curtis H. Médica Panamericana, Buenos Aires, 2004, pp 1433-1459.
- Cvek M, Hollender L, Nord CE.(1976) Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. VI. A clinical microbiological and radiological evaluation of treatment in one sitting of teeth with mature or immature root. *Odontol Revy.* 27:93-108.
- Cvek M, Nord CE, Hollander L. (1976) Antimicrobial effect of root. A clinical and microbiologic study. *Odontol Revy* 27: 1-10.
- Cvek M. (1972) Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. I. Follow-up of periapical repair and apical closure of immature roots. *Odontol Revy.* 23:27-44.
- Dahlen G, Bergenholtz G. (1980) Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J Dent Res.* 59:1033-1040.
- Dakin HD (1915) The antiseptic action of hypochlorites: the ancient history of new antiseptic. *Br Med J.* 2: 809.
- Das S. (1980) Apexification in a nonvital tooth by control of infection. *J Am Dent Assoc.*100: 880-881.
- Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G.(1954) Di-4' chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother.* 9: 192-196.
- Delpón E, Tamargo J. Antisépticos. En: Lorenzo P, Moreno A, Leza JC. Velázquez *Farmacología básica y clínica.* Médica Panamericana, Buenos Aires, 2005, pp.871-879.
- Dietz HV.(1957) XP-7: a universal endodontic medicament.*Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 10: 1317-1322.
- Dominguez Reyes A, Muñoz Muñoz L, Aznar Martin T.(2005) Study of calcium hydroxide apexification in 26 young permanent incisors *Dent Traumatol* 21: 141-145.
- Dougherty WJ, Bae KS, Watkins BJ, Baumgartner JC. (1998) Black-pigmented bacteria in coronal and apical segments of infected root canals. *J Endod* 24: 356-358.
- Dylewski JJ. (1971) Apical closures of non-vital teeth. *Oral Surg* 32:82-89.
- Ellerbruch ES, Murphy RA.(1977) Antimicrobial activity of root canal medicament vapors. *J Endod.* 3:193-198.



- England M Jr. Apicoformación y apicogénesis. En: Endodoncia, principios y práctica. Walton RE, Torabinejad M. McGraw-Hill Interamericana, México, 1991, pp 397-411.
- England MC, Best E. (1977) Noninduced apical closure in immature roots of dogs teeth. J Endod. 3: 411-417.
- Erdogan G.(1997) The treatment of nonvital teeth with calcium hydroxide-sterile water paste: two case reports. Quintessence Int. 28: 681-686.
- Escobar Muñoz F. Protección pulpar y tratamientos de endodoncia en la fórmula temporal. En: Odontología Pediátrica. Escobar Muñoz F. Amolca, Caracas, 2004, pp 237-267.
- Estrela C, Pecora JD, Souza-Neto MD, Estrela CR, Bammann LL. (1999) Effect of vehicle on antimicrobial properties of calcium hydroxide pastes. Braz Dent J. 10: 63-72.
- Estrela C, Pesce HF.(1996) Chemical analysis of the liberation of calcium hydroxide and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in dogs Part 1. Braz Den J. 7: 41-46.
- Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL. (1998) In vitro determination of direct antimicrobial effect of calcium hydroxide. J Endod. 24:15-17.
- Estrela C, Pimenta FC, Ito IY, Bammann LL.(1999) Antimicrobial evaluation of calcium hydroxide in infected dentinal tubules. J Endod. 25: 416-418.
- Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felix JO.(1995) Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Braz Dent J.6:85-90.
- Estrela C, Sydney GB. (1997) EDTA effect at root dentin PH then exchange of calcium hydroxide paste. Braz Endod J. 2: 12-17.
- Fabra Campos H. Rodríguez Vallejos J. (2001) Apicoformación: otra forma de entender el problema (1ª parte). Ideas Trab Odontoestomatol. 2: 7-14.
- Fabricius L, Dahlen G, Holm SE, Moller AJ.(1982) Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. Scand J Dent Res 90: 200-206.
- Farber PA, Seltzer S. (1988) Endodontic microbiology I. Etiology. J Endod 14: 363-371.
- Felipe MC, Felipe WT, Marques MM, Antoniazzi JH. (2005) The effect of the renewal of calcium hydroxide paste on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. Int Endod J. 38:436-442.



- Ferrari PH, Cai S, Bombana AC.(2005) Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. *Int Endod J.* 38: 372-380.
- Ferreira C, Cortes B, Fröner I, Ito I. (1999) Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigating solutions in teeth with pulpal necrosis. *Braz Dent J* 10: 1-6.
- Ferreira CM, da Silva Rosa OP, Torres SA, Ferreira F, Bernardinelli N.(2002) Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. *Braz Dent J.*13:118-122.
- Finucane D, Kinirons MJ.(1999) Non-vital immature permanent incisors: factors that may influence treatment outcome. *Endod Dent Traumatol.*15: 273-277.
- Fischer R, Huerta J. (1984) Effects of pH on microbial flora of necrotic root canals. *J Endod.* 10:153-155.
- Fox J, Isenberg HD.(1967) Antibiotic resistance of microorganisms isolated from root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 23: 230-235.
- Fuss Z, Mizrahi A, Lin S, Cherniak O, Weiss EI.(2002) A laboratory of the effect of calcium hydroxide mixed with iodine or electrophoretically activated copper on bacterial viability in dentinal tubules. *Int Endod J.* 35: 522-526.
- García García F, Bernal Zamora MC, Aznar Martín J. Espiroquetas y otras bacterias de interés oral. En: *Microbiología oral.* Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 397-407.
- García Mendoza A, Liébana Ureña J. Metabolismo y división bacteriana. En: *Microbiología oral.* Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1995, pp 32-51.
- García Rodríguez JA, García Sánchez JE, García García MI. Morfología y estructura bacteriana. En: *Microbiología Oral.* Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1995, pp 12- 29.
- Gencoglu NK, Lekci G. (1992) Antibacterial efficacy of root canal medicaments. *J Nihon Univ Sch Dent.* 34: 1233 - 1236.
- Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmat YM.(1987) Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. *J Endod.* 13: 285-290.
- Gilbert B.(1983) Endodontic treatment of the open apex. *Quintessence Int Dent Dig.* 14: 293-299.
- Goldman M, Pearson AH.(1969) Postdebridement bacterial flora and antibiotic sensitivity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 28: 897-905.
- Goldman M.(1974) Root-end closure techniques including apexification. *Dent Clin North Am.* 18: 297-308.



- Gomes BP, Drucker DB, Lilley JD. (1994) Associations of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J.* 27: 291-298.
- Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. (2001) In vitro antibacterial activity of endodontic irrigants in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 34: 424-428.
- Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Rosalen PL, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.(2002) In vitro antimicrobial activity of calcium hydroxide pastes and their vehicles against selected microorganisms. *Braz Dent J.* 13:155-161.
- Gomes BP, Lilley JD, Drucker DB. (1996) Clinical significance of dental root canal microflora. *J Dent* 24:47-55.
- Gomes BP, Pinheiro ET, Gade-Neto CR, Sousa EL, Ferraz CC, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ.(2004) Microbiological examination of infected dental root canals. *Oral Microbiol Immunol.* 19: 71-76.
- Gomes IC, Chevitaese O, de Almeida NS, Salles MR, Gomes GC. (1996) Diffusion of calcium through dentin. *J Endod* 22: 590-595.
- Goncalves RB, Robitaille M, Mouton C.(1999) Identical clonal types of *Porphyromonas gingivalis* or *Prevotella nigrescens* recovered from infected root canals and subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol* 14:197-200.
- Goodman LS, Gilman A. Bases farmacológicas de la terapéutica. Unión Tipográfica Hispano Americana, México, 1957, pp 1236-1343.
- Grossman LI. *Práctica Endodóntica*. 4 ed. Mundi : Buenos Aires, 1981.pp.totales
- Grossman LI.(1952) The treatment of infected canals. *Int Dent J.* 2: 371.
- Grossman LI.(1959) Bacteriologic status of periapical tissue in 150 cases of infected pulpless teeth. *J Dent Res.* 38: 45-46.
- Gupta S, Sharma A, Dang N.(1999) Apical bridging in association with regular root formation following single-visit apexification: a case report. *Quintessence Int.* 30: 60-562.
- Gutiérrez JH.(1958) Presencia de microorganismos en pulpas dentarias con vitalidad. *Rev Fac Odontol (Concepción)* 5: 6-10.
- Haapasalo M, Ranta H, Rantah K. Shah H.(1986) Black- pigmented *Bacteroides* spp in human apical periodontitis. *Infect Immun.* 53: 149-153.
- Haapasalo M.(1989) *Bacteroides* in dental root canal infections. *Endod Dent Traumatol* 5:1-10.
- Haenni S, Schmidlin PR, Mueller B, Sener B, Zehnder M. (2003) Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. *Int Endod J.* 36: 100-105.



- Haesman PA, Seymour RA.(1994) Pharmacological control of periodontal disease. I. Antiplaque agents. J Dent. 22: 323-335.
- Ham JW, Patterson SS, Mitchell DF.(1972)Induced apical closure of immature pulpless teeth in monkeys. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 33: 438-449.
- Hancock HH 3rd, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. (2001) Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 91: 579-86.
- Hand RE, Smith ML, Harrison JW.(1978) Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. J Endod. 4: 60-64.
- Harrison JW, Madonia JV. (1975) Effect of neutralizing agent on aqueous parachlorophenol. Oral Surg. 40: 670-677.
- Harrison JW, Madonia JV.(1970) Antimicrobial effectiveness of parachlorophenol. Oral Surg. 30: 267-275.
- Harrison JW, Madonia JV.(1971)Toxicity of parachlorophenol. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 32: 90-99.
- Hashioka K, Yamasaki M, Nakane A, Horiba N, Nakamura H.(1992) The relationship between clinical symptoms and anaerobic bacteria from infected root canals. J Endod 18: 558-561.
- Hasselgren G, Olsson B, Cvek M.(1988) Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. J Endod. 14: 125-127.
- Hasselgren G, Stromberg T. (1976) The use of iodine as a contrast medium in endodontic therapy. Oral Surg. 41: 785-788.
- Haesman PA, Seymour RA.(1994) Pharmacological control of periodontal disease. I. Antiplaque agents. J Dent. 22 :323-335.
- Heithersay G, Bjerken E.(1962) The incidence of Staphylococcus Albus and Streptococcus Salivaruis in root canals cultures. Odontol Revy.13: 152-157.
- Heithersay GS. (1975) Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. J Br Endod Soc. 8: 74-93.
- Heithersay GS.(1970) Periapical repair following conservative endodontic therapy. Aust Dent J. 15: 511-518.
- Herbel AB. Tratamiento de la necrosis y de la necrosis con infección en dientes permanentes jóvenes traumatizados. En: Endodoncia y traumatología. Basrani E. Científica Interamericana, Buenos Aires, 1994, pp 189-202.



- Holland R, de Souza V, de Mello W, Nery MJ, Bernabe PF, Otoboni Filho JA.(1979) Permeability of the hard tissue bridge formed after pulpotomy with calcium hydroxide: a histologic study. J Am Dent Assoc. 99:472-475.
- Holland R, de Souza V, Nery MJ, Otoboni Filho JA, Bernabe PF, Dezan Junior E.(1999) Reaction of dogs' teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. J Endod. 25:728-730.
- Holland R, Gonzalez AC.(1999) Efecto de los medicamentos colocados en el interior del conducto, hidrosolubles y no hidrosolubles, en el proceso de reparación de dientes de perro con lesión periapical. Endod 17: 90-100.
- Holland R, Pinheiro CE, de Mello W, Nery MJ, de Souza I. (1982) Histochemical analysis of the dogs' dental pulp after pulp ca:ing with calcium barium and strontium hydroxides. J Endod. 8: 444-447.
- Holland R, Soares IJ, Soares IM.(1992) Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dogs teeth with apical periodontitis. Endod Dent Traumatol. 8: 229-233.
- Holland R, Souza V.(1980) Healing process of dogs dental pulp after pulpotomy and protection with calcium hydroxide. Rev Odont Unesp. 8: 67-73.
- Ingle JI. Endodoncia. McGraw-Hill Interamericana, México, 2003, pp totales.
- Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M.(2001) Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. Dent Traumatol.17:185-187.
- Iwu C, MacFarlane TW, MacKenzie D, Stenhouse D. (1990) The microbiology of periapical granulomas. Oral Surg Oral Med Oral Pathol.69: 502-505.
- Jacinto RC, Gomes BP, Ferraz CC, Zaia AA, Filho FJ.(2003) Microbiological analysis of infected root canals from symptomatic and asymptomatic teth with periapical periodontitis and the antimicrobial susceptibility of some isolated anaerobic bacteria. Oral Microbiol Immunol.18: 285-292.
- Jackson GS, Halder AR. (1963) Incidence of yeats of root canal during therapy. Br Dent J. 115: 459-460.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. Infecciones causadas por bacterias anaerobias. En: Microbiología médica. Jawetz. El manual moderno, México, 1992, pp 273-278.
- Jeansonne MJ, White RR. (1994) A comparison of 2.0% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontic irrigants. J Endod. 20: 276-278.
- Jung IY, Choi B, Kum KY, Yoo YJ, Yoon TC, Lee SJ, Lee CY.(2001) Identification of oral spirochetes at the species level and their association with other bacteria in



endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 92: 329-334.

■ Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. (1965) The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 20: 340-349.

■ Kalfas S, Figdor D, Sundqvist G. (2001) A new bacterial species associated with failed endodontic treatment: identification and description of *Actinomyces radidentis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 92:208-214.

■ Kantz WE, Henry CA. (1974) Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol* 19: 91-96.

■ Kawahara CM, Regan PF, Tenca JI, Pelleu GB Jr. (1975) Antimicrobial efficacy of reduced concentrations of parachlorophenol in extracted teeth. *J Endod.* 1: 48-52.

■ Keudell K, Conte M, Fujimoto L, Ernest M, Berry HG. (1976) Microorganisms isolated from pulp chambers. *J Endod* 2 :146-148.

■ Kinirons MJ, Srinivasan V, Welbury RR, Finucane D. (2001) A study in two centres of variations in the time of apical barrier detection and barrier position in nonvital immature permanent incisors. *Int J Paediatr Dent.* 11: 447-451.

■ Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. (1995) In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J.* 28: 285-289.

■ Kontakiotis E, Nakou M, Georgopoulou M. (1995) In vitro study of the indirect action of calcium hydroxide on the anaerobic flora of the root canal. *Int Endod J.* 28: 285-289.

■ Korzen BH, Krakow AA, Green DB. (1974) Pulpal and periapical tissue responses in conventional and monoinfected gnotobiotic rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 37: 783-802.

■ Kuruvilla JR, Kamath MP. (1998) Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined as endodontic irrigants. *J Endod.* 24: 472 -476.

■ Lambert RA. (1916) The comparative resistance of bacteria and human tissue cells to certain common antiseptics. *J Exp Med.* 24: 683.

■ Lamers AC, Mullem Van PJ, Simon M. (1980) Tissue reactions to sodium hypochlorite and iodine potassium iodide under clinical conditions in monkey teeth. *J Endod.* 6: 788 - 792.



- Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BK, Hamdan JS, Nicoli. (2001) Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 16:100-105.
- Lasala A. Farmacología y terapéutica de los antisépticos. En: *Endodoncia*. Lasala A. Salvat, Barcelona, 1979, pp 155-167.
- Lasala A.(1983) Terapéutico tópico en endodoncia. *Rev Esp Endodoncia.* 1: 45-51.
- Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. (1997) Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* 12: 318-322.
- Leavitt JM, Naidorf IJ, Shugaevsky P.(1958) The bacterial flora of root canals as disclosed by a culture medium for endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 11: 302-308.
- Lewis MA, MacFarlane TW, McGowan DA.(1986) Quantitative bacteriology of acute dento-alveolar abscesses. *J Med Microbiol.* 21:101.
- Liébana Ureña J, Castillo Pérez AM, Rodríguez-Avial López-Dóriga C. Género *Streptococcus* y bacterias relacionadas. En: *Microbiología oral*. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 325-344.
- Liébana Ureña J, González Rodríguez MP, Liébana Cabanillas MJ, Parra Alonso LE. Composición y ecología de la microbiota oral. En: *Microbiología oral*. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 515-525.
- Liébana Ureña J, Prats Pastor G . Introducción al estudio de la microbiología oral. En: *Microbiología oral*. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1995, pp 1-10.
- Litter M. Antisépticos, fungicidas y parasiticidas externos. En: *Farmacología experimental y clínica*. Litter M. El Ateneo, Buenos Aires, 1983, pp.1451-1498.
- Llamas R, Segura JJ, Jiménez Rubio A, Jiménez Planas A.(1997) In vitro effect of parachlorophenol and camphorated parachlorophenol on macrophages. *J Endod.*23: 728 - 730.
- Love RM, Jenkinson HF.(2002) Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 13:171-183.
- Macdonald JB, Hare GC, Wood AW. (1957) The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be nonvital following trauma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 10: 318-322.



- Machado de Oliveira JC, Siqueira JF, Alves GB, Hirata R, Andrade AF.(2000) Detection of Porphyromonas endodontalis in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. J Endod 26:729-732.
- Mackie IC, Hill FJ. (1999) A clinical guide to the endodontic treatment of non-vital immature permanent teeth. Br Dent J.186: 54-58.
- Maisto OA. Endodoncia. Mundi, Buenos Aires, 1975, pp. Totales.
- Marcantonio Júnior E, Lia R, Comelli C, Marcantonio E, Benatti Neto C, Gabrielli M FR.(1984) Implantes subcutâneos de tubos de dentina preenchidos com materiais à base de hidróxido de cálcio: estudo histológico em ratos. Rev. Odont UNESP Sao Paulo. 13: 39-49.
- Maresca BM, Fernández Monjes J, Taddei E. (2002) El yodo en la terapia endodóntica. Electronic Journal of Endodontics.1(2)
<<http://www.endojournal.com.ar/contenidos02.html>>
- Masillamoni CRM, Ketering JD, Torebinejad M.(1981) The biocompatibility of some root canal medicaments and irrigants. Int Endod J. 14: 115-120.
- Melville TH, Birch RH. (1967) Root canal and periapical floras of infected teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 23: 93-98.
- Mentz TC. (1982) The use of sodium hypochlorite as a general endodontic medicament. Int Endod J. 15: 132-136.
- Miller WG.(1894) En: Microbiología oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, 2ª Edición Madrid, 2001, pp 9-24.
- Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T.(1998) Microbiological status of root- filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J. 31: 1-7.
- Molander A, Reit C, Dahlen G. (1999) The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. Endod Dent Traumatol. 15: 205-209.
- Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G. (1981) Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. Scand J Dent Res 89: 475-484.
- Mondragón Espinosa JD. Endodoncia. McGraw-Hill Interamericana, México, 1995, pp Totales.
- Moraes SR, Siqueira JF Jr, Colombo AP, Rjcas IN, Ferreira MC, Domingues RM.(2002) Comparison of the effectiveness of bacterial culture, 16S rDNA directed polymerase chain reaction, and checkerboard DNA-dNA hybridization for detection of Fusobacterium nucleatum in endodontic infections. J Endod. 28: 86-89.



- Morse FW, Yates WF.(1941) Follow up studies of root canal filled teeth in relation to bacteriologic findings. J Am Dent Assoc. 28: 956-960.
- Murray B. (1990) The life and times of the Enterococcus. Clin Microbiol Rev. 3: 46-65.
- Naidorf IJ.(1972) Inflammation and infection of pulp and perapical tissues. Oral Surg. 34: 486.
- Nair PN, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G.(1990) Intraradicular bacteria and fungi in root-filled asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endod 16: 580-588.
- Najzar-Fleger D, Filipovic D, Prpic G, Kobler D.(1992) Candida in root canal in accordance with oral ecology. Int Endod J. 25: 40.
- Nerwich A, Figdor D, Messer HH.(1993) pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. J Endod. 19: 302-306.
- Noda M, Komatsu H, Inoue S, Sano H. (2000) Antibiotic susceptibility of bacteria detected from the root canal exudate of persistent apical periodontitis J Endod. 26: 221-224.
- O'Grady JF, Reade PC. (1988) Periapical actinomycosis involving Actinomyces israelii J Endod.14: 147-149.
- Oguntebi B, Slee AM, Tanzer JM, Langeland K.(1982) Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. J Clin Microbiol. 15: 964-966.
- Ohora P, Torabinejad M, Kettering JD.(1993) Antibacterial effects of various endodontic irrigants on selected anaerobic bacteria. Endod Dent Traumatol. 9: 95-100.
- Oncag O, Hosgor M, Hilmioglu S, Zekioglu O, Eronat C, Burhanoglu D.(2003) Comparison of antibacterial and toxic effects of various root canal irrigants. Int Endod J. 36: 423-432.
- Oppenheimer S, Miller GS, Knopf K, Blechman H. (1978) Periapical Actinomycosis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol.46: 101-106.
- Orstavik D. Medicación intracanal. En: Endodoncia en la práctica clínica. Harty FJ. McGraw-Hill Interamericana, México, 1999, pp 106-122.
- Ostby BN.(1961) The role of the blood clot in endodontic therapy. An experimental histologic study. Acta Odont Scand. 19: 323-346.
- Oster KA, Giarman NJ. Quimioterapia de las infecciones bacterianas I: Antisépticos y germicidas. En: Farmacología médica. Drill VA. La prensa médica Mexicana, México, 1969, pp 1403 - 1442.



- Ostrander FD. The development of antiseptics and antibiotics for use in endodontics. En: Transactions of the second international conference on endodontics. Grossman LI. Harcourt, Philadelphia, 1958, pp 64-80.
- Pallares Sabater A.(2000) Retratamiento en un caso de apexificación. RCOE. 5: 175-180.
- Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M.(2001) Isolation of yeasts and enteric bacteria in root - filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J. 34: 429-434.
- Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ. (2002) Combinations of bacterial species in endodontic infections. Int Endod J. 35: 698-702.
- Piekoff MD, Trott A.(1976) Apexification: report of case. J Endod. 2:182-185.
- Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. (2003) Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol. 18: 100-103.
- Pisano JV, Weine FS. Microbiología Endodóncica. En: Tratamiento Endodóncico. Weine FS. Harcourt Brace, Madrid, 1997, pp 694-711.
- Prieto J, Guardiola L. (1997) Microbiología de la cavidad oral. Av Odontoestomatol.13: 9-16.
- Quindós Andrés G, Escobar Lara T, Pontón San Emeterio J. Hongos de interés oral. En: Microbiología oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 2002, pp 487-496.
- Radien G, Alincastro I. (1998) Respuesta clínica a la medicación tópica endodóncica con hidróxido de calcio o paramonoclorofenol alcanforado. Endodoncia. 16: 86-90.
- Rafter M. (2005) Apexification: a review. Dent Traumatol. 21:1-8.
- Ramachandran Nair PN.(1987) Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. J Endod.13: 29-39.
- Raphael D, Wong TA, Moodnik R, Borden BG (1981) The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite. J Endod. 7: 330-334.
- Raphael D, Wong TA, Moodnik R, Borden BG.(1981)The effect of temperature on the bactericidal efficiency of sodium hypochlorite. J Endod. 7:330-334.
- Rivera EM, William K. (1994) Placement of calcium hydroxide in simulated canals : comparison of glycerine vs water. J Endod. 20: 445-448.
- Ruddle CJ. Limpieza y remodelado del sistema de conductos radiculares. En: Vías de la pulpa. Cohen S, Burns RC. Elsevier, Madrid, 2002, pp 227-287.



- Rule D, Patel S. Endodoncia en niños. En: Endodoncia en la práctica clínica. Pitt F. McGraw-Hill Interamericana, México, 1999, pp 270-283.
- Rupf S, Kannengiesser S, Merte K, Pfister W, Sigusch B, Eschrich K.(2000) Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. Endod Dent Traumatol. 16: 269-275.
- Sabiston CB Jr, Grigsby WR, Segerstrom N.(1976)Bacterial study of pyogenic infections of dental origin. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 41:430-435.
- Safavi KE, Dowden WE, Introcaso JH, Langeland K.(1985) A comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine-potassium iodide. J Endod 11:454-456.
- Safavi KE, Nichols FC.(1993) Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. J Endod.19:76-78.
- Safavi KE, Spangberg SW, Langelang K (1990) Root canal dentinal tubules disinfection. J Endod. 16: 207-210.
- Salaverry G, Canzani JH, Fernández Caniggia L, Dadamio J, Bianchini H. (2005) Efecto antimicrobiano del paramonoclorofenol alcanforado como medicación endodóntica temporaria. Rev Asoc Odontol Argent. 93: 303-307.
- Salle AJ, McOmie WA, Schechmeister JL. (1937) A new method for the evaluation of germicidal substances. J Bacteriol. 34: 267.
- Sassone LM, Fidel RA, Fidel SR, Dias M, Hirata RJ. (2003) Antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine using a contact test. Braz Dent J. 14: 99 -102.
- Sciaky I, Pisanti S. (1960) Localization of calcium placed over amputated pulps in dogs' teeth. J Dent Res. 39: 1128-1132.
- Semmelweis. Citado en: Endodoncia. Ingle JI, Traintor. Interamericana, México, 1988.
- Sen BH, Piskin B, Demirci T.(1995) Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. Endod Dent Traumatol 11:6-9.
- Shah PM, Chong BS, Sidhu SK, Ford TR.(1996)Radiopacity of potential root-end filling materials.Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 81: 476-479.
- Shabahang S, Torabinejad M. (1997) Apexification in immature dog teeth using osteogenic protein-1, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. J Endod 23:265.
- Shay DE.(1947) The selection of a suitable medium for culturing root canals. J Dent Res. 26: 327-330.



- Sheehy EC, Roberts GJ.(1997) Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature teeth : a review. Br Dent J. 183: 241-6.
- Shih M, Marshall FJ, Rosen S.(1970) The bactericidal efficiency of sodium hypochlorite as an endodontic irrigant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 29: 613-619.
- Shue-Fen Y, Rivera E, Baumgardner K, Walton R, Stanford C. (1996) Capacidad del hidróxido de calcio y el hipoclorito de sodio para disolver tejido anaerobio. J Endod (Ed.español). 2: 65-69.
- Silva ARP, Franco de Carvalho EMO, Chavaco JK, Pires MAV, Robazza CRC. (2002) Actividade antimicrobiana de algunas substâncias químicas utilizadas no preparo canais radiculares. Pesqui Odontol Braz 16 Suppl: 92.
- Simon ST, Bhat KS, Francis R.(1995)Effect of four vehicles on the Ph of calcium hydroxide and the release of calcium ion Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 80: 459-464.
- Simonián S. Aspectos éticos de la profesión odontológica.[Tesis Doctoral]. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba; 1998.
- Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Oliveira JC, Santos KR. (2001) Polymerase chain reaction of Treponema denticola in endodontic infections within root canals. Int Endod J. 34: 280-284.
- Siqueira JF Jr, Rocas IN, Favieri A, Santos KR.(2000) Detection of Treponema denticola in endodontic infections by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol.15: 335-337.
- Siqueira JF Jr, Rocas IN, Lopes HP Magalhaes FA, de Uzeda M.(2003) Elimination of candida albicous infection of the radicular dentón by intracanal medications. J Endod. 29: 501-504.
- Siqueira JF Jr, Rocas IN, Magalhaes FA, de Uzeda M.(2001) Antifungal effects of endodontic medicaments. Aust Endod J. 27:112-114.
- Siqueira JF Jr, Rocas IN, Souto R, de Uzeda M, Colombo AP. (2002) Actinomyces species, streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canals infections. J Endod. 28: 168-172.
- Siqueira JF, Lopes HP.(1999) Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endod J. 32: 361-369.
- Siqueira JF, Rocas IN, Oliveira JC, Santos KR.(2001) Detection of putative oral pathogens in acute periradicular abscesses by 16SrDNA-directed polymerase chain reaction. J Endod. 27:164-167.



- Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. (1997) Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int Endod J.* 30: 91-95.
- Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. (1990) Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod.* 16:498-504.
- Slack GL.(1958) The bacteriology of infected root canals and in vitro penicillium sensitivity. *Br Dent J.* 95: 211-214.
- Soekanto A, Kasugai S, Mataki S, Ohya K, Ogura H.(1996) Toxicity of camphorated phenol and camphorated parachlorophenol in dental pulp cell culture. *J Endod.* 22: 284-289.
- Spangberg L, Engstrom B, Langeland K.(1973) Biologic effect of dental materials. III. Toxicity an antimicrobial effects of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 36: 856-871.
- Spangberg L, Engstrom B. (1968) Studies on root canal medicaments. IV. Antimicrobial effect of root canal medicaments. *Odontol Revy.* 19: 187-195.
- Spangberg L, Rutberg M, Rydinge E.(1979) Biologic effects of endodontic antimicrobial agents.*J Endod.* 5:166-175.
- Spangberg L. Medicación Intracanal. En: *Endodoncia.* Ingle JI, Taintor JF. Interamericana, México, 1988, pp 585-596.
- Staehle H, Spiess V, Heinecke A, Muller H.(1995) Effect of root canal filling materials containing calcium hydroxide on the alkalinity of root dentin. *Endod Dent Traumatol.* 11:163-168.
- Stevens RH, Grossman LI.(1983) Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. *J Endod.* 9:372-374.
- Straffon LH, Han SS.(1970) Effects of varying concentrations of formocresol on RNA syntesis of connective tissue in sponge implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 29: 915-925.
- Strindberg IZ. (1956) The dependence of the results of pulp therapy on certain factors *Acta Odontol Scand.* 14: 1-175.
- Stuart KG, Miller CH, Brown CE Jr, Newton CW.(1991) The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral Surg.* 72: 101-104.
- Sukawat C, Srisuwan T. (2002) A comparison of the antimicrobial efficacy of three calcium hydroxide formulations on human dentin infected with *Enterococcus faecalis.* *J Endod.* 28:102-104.
- Sunde PT, Olsen I, Debelian GJ, Tronstad L.(2002) Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J Endod.* 28: 304-310.



- Sundqvist G, Johansson E, Sjogren U. (1989) Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. J Endod 15: 13-19.
- Sundqvist G, Reutering (1980) Isolation of actinomyces israeli from periapical lesion. J Endod. 6: 602-606.
- Sundqvist G. (1992) Associations between microbial species in dental root canal infections. Oral Microbiol Immunol.7: 257-262.
- Sundqvist G.(1992) Ecology of the root canal flora. J Endod. 18:427-430.
- Sundqvist G.(1994) Taxonomy ecology and pathogenicity of the root canal flora. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 78: 522-530.
- Sydney GB, Estrela C. (1996) The influence of root canal preparation on anaerobic bacteria in teeth with asymptomatic apical periodontitis. Braz Endod J. 1: 12-15.
- Tanriverdi F, Esener T, Erganis O, Belli S. (1997) An in vitro test model for investigation of disinfection of dentinal tubules infected with Enterococcus faecalis. Braz Dent J. 8:67-72.
- Taylor GN, Madonia JV, Wood NK, Heuer MA. (1976) In vivo autoradiographic study of relative penetrating abilities of aqueous 2% parachlorophenol and camphorated 35% parachlorophenol. J Endod. 2: 81-86.
- Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. (1995) Antibacterial effects of some root end filling materials. J Endod. 21: 403-406.
- Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. (1993) Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. J Endod. 19: 591-595.
- Torneck CD, Smith J. (1970) Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth. I. Effect of partial and total pulp removal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 30: 258-266.
- Torneck CD, Smith JS, Grindall P. (1973) Biologic effects of endodontic procedures on developing incisor teeth. IV. Effect of debridement procedures and calcium hydroxide-camphorated parachlorophenol paste in the treatment of experimentally induced pulp and periapical disease. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 35:541-554.
- Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. (1981) pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. J Endod. 7:17-21.
- Uchin RA, Parris L (1963) Antibacterial activity of endodontic medications after varying time within the root canal. Oral Surg. 16: 608-612.



- Valle Rodriguez JL, Gómez-Lus Centelles ML, Prieto Prieto JE, Liébana Ureña J. Cap 29. En: En: Microbiología Oral. Liébana Ureña J. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, 1995. pp 402-407.
- van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJ, de Graaff J.(1992) Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis: its role in endodontal infections. J Endod 18:431-434.
- Vicente Gómez A, Miñana Laliga R.(1990) La gutapercha termoplástica en apicoformaciones. Endodoncia. 8: 159-173.
- Wadachi R, Araki K, Suda H(1998) Effect of calcium hidroxide on the dissolution of soft tissue on the root canal wall. J Endod. 24: 326-30.
- Waltimo T, Kuusinen M, Jarvensivu A, Nyberg P, Vaananen A, Richardson M, Salo T, Tjaderhane L.(2003) Examination on candida spp. In refractory periapical granulomas. Int Endod J. 36: 643-647.
- Waltimo TM, Siren EK, Orstavik D, Haapasalo MP. (1999) Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro. Int Endod J 32:94-98.
- Waltimo TM, Siren EK, Torkko HL, Olsen I, Haapasalo MP.(1997) Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. Int Endod J 30: 96-101.
- Walton R, Langeland K.(1978) Migration of materials in the dental pulp of monkeys. J Endod 4:167-177.
- Walton RE, Torabinejad M. Principios y práctica clínica. McGraw-Hill Interamericana, México, 1994, pp 397-411.
- Weine F. Alternativas al tratamiento endodóntico convencional. En: Tratamiento endodóntico. Weine F. Harcourt Brace, Madrid, 1997, pp 714-755.
- Wesley DJ, Marshall FJ, Rosen S. (1970) The quantitation of formacresol as a root canal medicament. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 29: 603-612.
- Whittle M. (2000) Apexification of an infected untreated immature tooth. J Endod. 26: 245-247.
- Williams BL, McCann GF, Schoenknecht FD. (1983) Bacteriology of dental abscesses of endodontic origin. J Clin Microb.18: 770-774.
- Winkler KC, Van Amerongen J. (1959) Bacteriologic results from 4000 root canal cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 12 : 857-875.
- Wittgow WC, Sabiston CB. (1975) Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. J Endod 1: 168-171.
- Yamashita JC, Tanomaru Filho M, Leonardo MR, Rossi MA, Silva LA. (2003) Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root canal irrigant. Int Endod J 36: 391-394.



- Yang SF, Rivera EM, Walton RE, Baumgardner KR. (1996) Canal debridement: effectiveness of sodium hypochlorite and calcium hydroxide as medicaments. J Endod 22: 521-525.
- Yates JA.(1988) Barrier formation time in non-vital teeth with open apices. Int Endod J 21: 313-319.
- Zavistoski J, Dzink J, Onderdonk A, Bartlett J.(1980) Quantitative bacteriology of endodontic infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 49: 171-174.