# Biofilms en Endodoncia

2009

Descripcion estructural, mecanismo de formación, crecimiento, implicancia clínica y posibilidades terapéuticas de los biofilms en endodoncia

#### Gustavo H. Lopreite

- Profesor Regular Adjunto Catedra de Endodoncia Facultad de Odontologia Universidad de Buenos Aires
- Dictante Coordinador Carrera Principal de Especialización en Endodoncia Facultad de Odontologia Universidad de buenos Aires
- Ex Presidente Sociedad Argentina de Endodoncia

## BIOFILMS EN ENDODONCIA

La infección endodontica se presenta siempre como una patología de características complejas por su organización y su terreno de implicancia. La flora predominantemente mixta y con asociaciones e interrelaciones, se manifiesta con cuadros dependientes de las propiedades de las especies microbianas infectantes, del tiempo de permanencia de las mismas, de las condiciones de los tejidos de la pulpa y de los factores de defensa del hospedante.

El estudio de la mayoría de los microorganismos encontrados en la naturaleza demeuestra que se encuentran asociados entre ellos, y con la superficie que los rodea, formando organizaciones microbianas denominadas biofilms o biopelículas. Estos términos hacen referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados en un exopolimero de glicocalix y que se organizan en forma de colonias adheridas a superficies animadas o inanimadas.

Gran cantidad de enfermedades del ser humano se encuentran relacionadas a este tipo de organización infecciosa, las otitis, ciertas lesiones musculo esqueléticas, la endocarditis bacteriana, algunas neumonías y estrictamente relacionadas a la odontología la caries dental y la enfermedad periodontal. El cuadro que se acompaña ejemplifica la relación de esta estructura de infección con algunas enfermedades del ser humano.

Ejemplos de algunas enfermedades humanas en las que se encuentran involucrados biofilms bacterianos

Infección o enfermedad	Especie bacteriana formadora de biofilm
Caries dental	Cocos Gram positivos acidogénicos (e). Streptococcus)
Periodonditis	Bacterias anacróbicas orales Gram negativas
Otitis media	Cepas no tipables de Haemophilus influenzae
Infecciones del músculo-esqueleto	Cocos Gram positivos (ej. staphylococos)
Fascitis necrotizante	Streptococos Grupo A
Osteomelitis	Varias especies bacterianas y fúngicas, generalmente mezcladas
Prostatitis bacteriana	E. colt y otras bacterias Gram negativas
Endocarditis de la válvula nativa	Streptococos del grupo viridans
Neumonía por fibrosis quística	Pseudomonas aeruginosa y Burkholderia cepacia
Meloidosis	Pseudomonas pseudomallet
Infecciones nosocomiales	
Neumonía (cuidados intensivos)	
Suturas	Staphylococcus epidermidis y S. aureus
Orificios de salida	S. epidermidis y S. aureus
Vías arteriovenosas	S. eptdermidis y S. aureus
Bucles esclerales	Cocos Gram positivos
Lentes de contacto	P aeruginosa y cocos Gram positivos
Cistitis por catéteres urinarios	E. colt y otros bacilos Gram negativos
	Una variedad de bacterias y hongos
DIII	Actinomyces israelli y muchos otros
Tubos endotraqueales	Una variedad de bacterias y hongos
Catéteres litckman	S. eptdermidis y Candida albicans
Catéteres centrales venosos	S. epidermidis y otros
Válvulas mecánicas del corazón	S. eptdermidis y S. aureus
Injertos vasculares	Cocos Gram positivos
Bloqueo del conducto biliar	Una variedad de bacterias entéricas y hongos
Dispositivos ortopédicos	S. eptdermidis y S. aureus
Prótesis del pene	S. eptdermidis y S. aureus

Tomado de: Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999; 284: 1318-1322.

Desde los años 70, sin comprender completamente su estructura o metabolismo, se relacionaron este tipo de comunidades a los efectos que mostraron sobre los ambientes que habitaban. Es asi que la teoría sobre biofilms fue descripta en 1978 (1). Esta presento una hipoteis que habla de que la mayoría de las bacterias crecen en una matriz adherida a las superficies de los ecosistemas, presentando una gran diferencia con sus homologas que subsisten en forma planctónica. (1). Al dia de hoy, gracias a las metodologías actuales, se han podido comprender la ultraestructura, las reacciones metabolicas, la dinámica y los efectos patógenos que provocan.

Hoy podemos definir al biofilm o biopelicula como un ecosistema microbiano sesil organizado, conformado por estructuras complejas de microorganismos pertenecientes a diferentes géneros y especies con un fenotipo alterado de su tasa de crecimiento y transcripción genética, asociados irreversiblemente a una superficie viva o inerte y que se caracteriza por la excreción de una matriz de polisacáridos extracelulares adhesiva protectora.

La formación de biofilms no se encuentra restringida a ningún grupo específico de microorganismos (2), pudiendo ser el resultado de adaptaciones morfológicas o fisiológicas, cambios del medio ambiente, cambios nutricionales o químicos que crean condiciones en las cuales estos deben generar adaptaciones para sobrevivir. Siendo entonces el stress del medio un factor desencadenante de este tipo de asociaciones que brindad a sus integrantes cierto grado de protección y homeostasis. (3)

El proceso de formación y crecimiento de un biofilm se inicia con la aparición sobre una superficie húmeda de una capa de polímeros del medio, que varian su naturaleza dependiendo de la superficie expuesta, la que acondiciona la superficie para la llegada

de microorganismos en estado planctónico, ofreciendo nutrientes y promoviendo la adhesión selectiva de algunos de ellos(4-5). Como mecanismos iniciales de unión utilizarán fimbrias, lipopolisacaridos extracelulares, polímeros extracelulares, flagelos o proteínas (2-3). Resulta esta película condicionada, por sus individuales caracteristicas, un factor determinante en la composición microbiana del biofilm. (5).

Luego de su adhesión las bacterias inician su multiplicación, formándose a partir de los nuevos individuos microcolonias (2). Posteriormente éstas comienzan a generar una matriz conformada por exopolisacaridos típicos de cada especie, condicionados a su vez por las características ambientales presentes, pudiendo producir distinto tipo de polisacárido como componente de la matriz. (2).

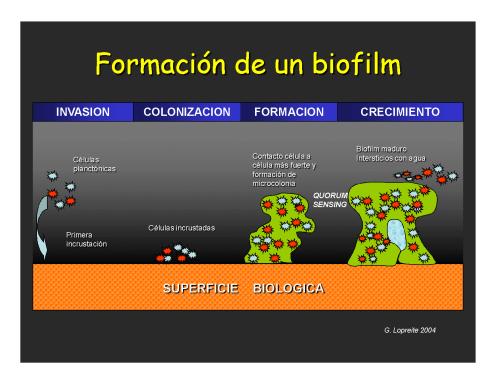
Se continúa con un período de reconocimiento y adhesión a especies genéticamente distintas por medio de adhesinas, dando a cada biofilm una arquitectura particular y única. Esta etapa se conoce como de co-agregacion.

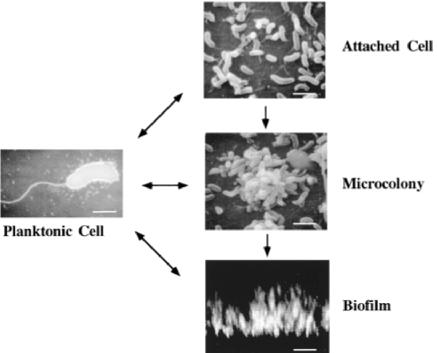
Los microorganismos unidos comparten su metabolismo y comienzan su multiplicación otorgando al biofilm una estructura mixta y organizada. Cada uno de estos pasos de formación se ven expuestos a factores como pH, osmolaridad, tensión de oxigeno, temperatura (7) que unidos a las características inherentes a los microorganismos influencian el crecimiento y sucesión de la población dentro del biofilm(5).

La regulación del crecimiento de un biofilm es un proceso dinamico y cíclico, donde las condiciones externas producen alteraciones genéticas de sus individuos, durante la maduración del mismo.

Por último algunos microorganismos se desprenden de la matriz que los reúne colonizando nuevas superficies. Esto se produce por diferentes razones como ser el desprendimiento de células hijas, separación por alteración de niveles nutricionales, por señales genéticas o por efectos del flujo ambiental en que se desarrolla el biofilm. (6)

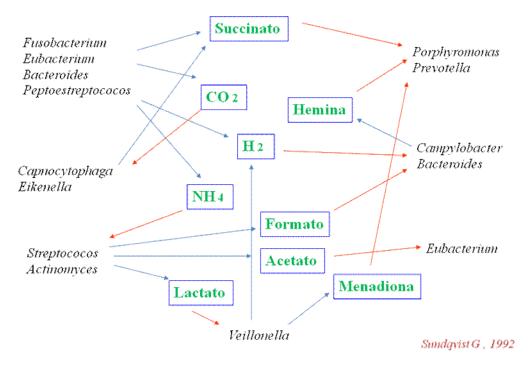
Esquemas de las fases de desarrollo de un biofilm





www. Googleimages.com

La estructura de estas comunidades microbianas varía desde monocapas de individuos dispersos a espesas capas celulares, hasta poder alcanzar tamaños de estructuras de dimensiones macroscópicas (7). Esto esta dado por la característica de heterogeneidad que presentan los biofilms, lo que los transforma en organizaciones únicas posiblemente conformadas por bacterias, hongos y protozoos con una estructura influenciada por las propiedades de la superficie, interfase, disponibilidad de nutrientes composición de la población e hidrodinámica del medio.(3)



Interrelaciones metabólicas entre las diferentes especies bacterianas-Adaptado de Sundquist 1992

Al desarrollarse en un medio liquido-solido la velocidad del liquido que lo atraviesa influye en el desarrollo, transporte de nutrientes, desechos y desprendimiento de microorganismos. (8-9)

En cuanto a su conformación final, aunque en general variable., el componente principal es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de ella y células bacterianas, la matriz del biofilm es un complejo de exopolisacaridos. (10)Menor proporción representan proteínas, ADN y productos de la lisis bacteriana (2-10-11)

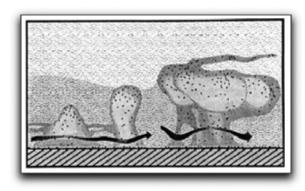
La matriz extracelular revela diferentes características ante bacterias Gram negativas o Gram positivas, siendo polímeros neutrales o polianionicos para las primeras y principalmente cationicos y de características muy diferentes para las segundas.(6) Se hace relevante el papel de la matriz en la agregación, estabilidad mecánica y en muchas de las propiedades físicas finales de la estructura. Además interveniene en sus mecanismos de defensa oponiéndose a la fagocitosis por las defensas organicas y otorgando resistencia al corte, ya que en su madurez se presenta como altamente viscoelastica comportándose de manera elástica (7)

Han sido propuestos diversos modelos morfológicos de las estructuras de un biofilm maduro. El concepto actual, es denominado modelo de champignon o tulipán o también de los canales de agua. Describe una estructura en forma de champignon con un tallo mas delgado en su parte superior, la que suele fusionarse dejando canales por los cuales discurren fluidos, nutrientes, productos de desechos y señales químicas. (2-6-7-12).

La posibilidad de intercambio de nutrientes con el medio externo, la eliminación de los desechos por intermedio de estos canales y la matriz, que le confiere propiedades de

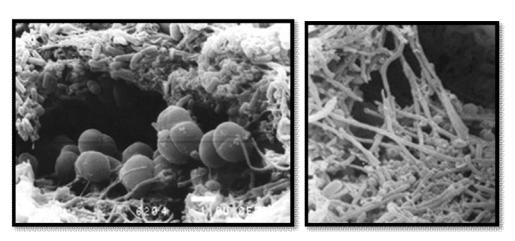
protección contra las defensas y los mecanismos de erradicación microbiana, representan las estrategias de supervivencia del biofilm.

### Esquema del modelo estructural de champignon o canales de agua



Tomado de Wimpenny y Colassanti, 1997

### Biofilms: se observan las diferentes morfologías bacterianas asociadas



Tomado de INGAR – Instituto de Desarrollo y Diseño CONICET

En estas comunidades mixtas sus diferentes habitantes presentan requerimientos dispares y realizan distintas funciones metabolicas, siendo generalizado el comensalismo, los miembros se ven favorecidos por la coexistencia comunal a través de la división de carga metabólica y la transferencia genética. La proteomica y genómica han permitido identificar genes y proteínas que se encienden y apagan con el objetivo de realizar cambios en la estructura y metabolismo de las bacterias, a través de las diferentes etapas del desarrollo de la comunidad.

Las labores se ven reguladas por comunicaciones intercelulares que permiten el reconocimiento e intercambio de metabolitos, genes y diversas moléculas (13). Las

relaciones que se establecen entre los individuos se realizan a través de señales químicas denominadas quórum sensing, las que regulan la expresión de genes en las diferentes partes de la comunidad comportándose como tejidos dentro de un organismo pluricelular. Esta comunicación involucra la regulación y expresión de genes específicos a través de moléculas de señalización. Esta característica es dependiente de la densidad celular que existe en un determinado biofilm.

Las comunicaciones intraespecies se realizan a traves del quórum sensing dado el alto grado de especificidad de las moléculas actuantes. En la relación interespecies se ha descripto un segundo mecanismo, denominado sistema autoinductor2. (13-14-15)

En los biofilms se encuentran alteradas por ejemplo la tasa de reproducción y crecimiento bacterianos por intermedio de estas señales de transcripcion genética, cosa que no sucede con los mismos individuos al encontrarse en estado planctónico.

Las comunicaciones entre los microorganismos y su transferencia genética actúan en la regulación de la virulencia, indirectamente en la formación del biofilm y directamente representan un medio de beneficioso para los microorganismos en cuanto al aumento de su capacidad de resistencia antibiótica. (6) Permite además la supervivencia en medios cambiantes, logrando adaptarse gracias a su flexibilidad genética.

Todo esto les confiere una característica propia de resistencia, asociada a que las colonias organizadas e inmersas en exopolimero forman una capa impermeable en la cual solo los microorganismos superficiales pueden verse comprometidos por las defensas del hospedero o los agentes antimicrobianos.

Por otro lado, si las bacterias siempre estuvieran embebidas en la matriz extracelular no podrían invadir o colonizar otros ámbitos o infectar otros hospederos. Por lo que debe existir algún mecanismo que determine la desagregación de algunas bacterias independizandose de la masa principal de biofilm.

El quórum sensing es un mecanismo autoinductor a través del cual las bacterias regulan su densidad poblacional por intermedio de determinadas moléculas sensoras, el sistema AGR relacionado al quórum sensing, encontrado en cultivos de Streptococus aureus por B.R. Boles y A.R. Horswill, regula ante su represión la adhesión y ante su activación el desprendimiento de las células en un biofilm, por intermedio de proteasas extracelulares que destruyen la matriz.

Los procesos por los cuales los biofilm desarrollan enfermedad se ven asociados a:

Desprendimiento de células o conjuntos de ellas, de la masa principal del biofilm como producto de su crecimiento o por erosion hidrodinámica de su superficie (16).

Intercambio de plasmidos entre los individuos (6)

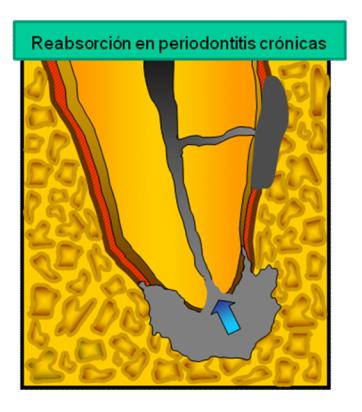
Menor susceptibilidad a los agentes antimicrobianos producto de su convivencia en comunidad (6)

Los biofilms con predominio de bacterias Gram negativas producen endotoxinas, desencadenando respuesta inmune del hospedero (17)

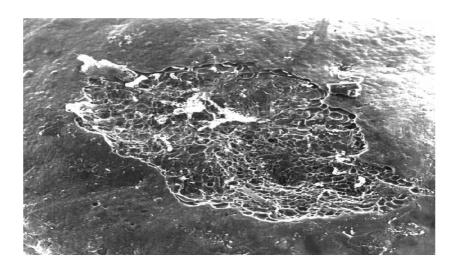
La resistencia que presentan los biofilms a ser removidos por el sistema inmune del hospedero. (6-9-17)

Ante una colonización bacteriana el organismo pone en marcha respuestas inmunes defensivas(18). Pueden acarrearse en este mecanismo zonas de reabsorción de tejidos duros, las que aprovechadas por microorganismos ordenados y organizados en asociaciones con producción de polisacáridos extracelulares protectores, los ponen en condiciones de resistir las medicaciones tópicas, los antibióticos y al sistema inmune.

Ha sido demostrada por *M.R.Leonardo* la formación y persistencia de nichos en areas reabsortivas del apice radicular en piezas dentarias con necrosis pulpar con o sin compromiso periapical radiográfico evidente (19).



G. Lopreite



Zonas de reabsorción del cemento apical en piezas con periodontitis crónica, terreno propicio para adhesión de biofilms - gentileza M.R.leonardo

Otro de los hallazgos relevantes en cuanto al comportamiento de determinados tipos de biofilm, encontrado en piezas dentarias con infecciones resistentes a medicaciones intraconducto con hidróxido de calcio y antibioticoterapia asociada, fue la presencia de granulos de azufre relacionados a microorganismos del genero actinomices entre ellos israelli, viscosus, naeslundi, junto a bacterias gram positivas y negativas(20). Estos gránulos podrían actuar en la adhesión de nuevas especies en biofilms organizados.

Ricucci D, y col (21) reportan dos casos clínicos en donde fue encontrado material semejante a calculo en la superficie exterior de la raiz de un diente extraido y en otro apicectomizado, los cuales fueron tratados por infecciones refractarias pos tratamiento endodontico. La histologia de ambos casos mostro material calcificado similar al cálculo dental en la superficie apical externa de la raíz. Los autores concluyen que la presencia de este material sugiere que contribuiria a los mecanismos de fracaso de tratamiento



**Biofilm apical.** Cocos a 1150 X - gentileza M.R.Leonardo.

La característica distintiva de las infecciones a biofilm es su resistencia al tratamiento con antibióticos, antisépticos y germicidas (2-9-14-17-22-23), presentando

crecimiento aun ante elevados niveles de los mismos. Es informado que los niveles de concentración de antimicrobianos deben ser elevados radicalmente, hasta 100 veces su valor, para obtener un mismo resultado sobre un determinado grupo de bacterias que se encuentren en biofilm en vez de su estado planctónico (23).

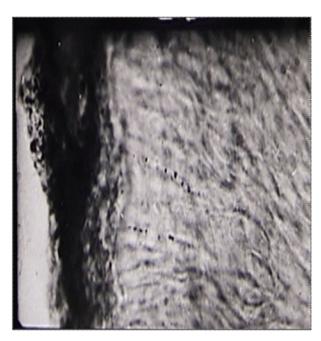
Aquí debe tenerse en cuneta un factor muy importante en relación a que las concentraciones subinhibitorias de medicaciones antibióticas producen situaciones en las cuales se crean condiciones para la expresión de fenotipos y plasmidos de resistencia a la droga. Encontramos aquí la explicación posible a que las infecciones agudas rápidamente responden a antibioticoterapia, siendo las infecciones a biofilm no completamente eliminadas por los mismos tratamientos, y causales de reagudizaciones recurrentes. Tornándose además con el paso del tiempo mas resistentes al medicamento y a los mecanismos de defensa del organismo. (14)

En resumen los bifilm presentan ciertas condiciones de resistencia a los tratamientos que podrían reseñarse asi:

- La matriz retarda la difusión de los antibioticos. (2-9-14-17-22)
- Reducida susceptibilidad del biofilm a los agentes antibacterianos por su estado de latencia
- Cambios biomoleculares producidos en las bacterias con la adaptación fisiológica de las mismas en cada tipo de biofilm
- Cambios genéticos relacionados su sobrevivencia y propagación, relacionados a su virulencia y regulados por señales de quórum sensing. (24)
- Producción de nuevas camadas de células microbianas persistentes, las que sobreviven al antimicrobiano y son mantenidas por el mismo
- Microambientes antagónicos a la acción de antimicrobianos (2-23)

El factor determinante a largo plazo del fracaso endodontico es la persistencia de infección dentro del conducto radicular (25-26-27-28-29-30-31-32) y su relación con la mantención de lesion perirradicular. (27-33). La invasión de luz del conducto, la dentina de sus paredes, la de las ramificaciones anatomicas y el cemento radicular pueden originar la reabsorción osea y la infección perirradicular. (18-19-26-34). Un tracto fistulo aporta nutrientes y especies mas resistente provenientes del medio externo, colaborando a mantener la lesión perirradicular (18)

La habilidad de persistir no solo en el conducto sino también en el espacio perirradicular se ve directamente asociada a la posibilidad de formación de biofilms.



Bacterias adheridas a la dentina radicular y constituidas en la trama de conductillos dentinarios - Handt

En los casos más resistentes a la terapia endodóntica han sido aislados varios microorganismos, siendo los mas frecuentes los actinomices, enterococus faecalis y la candida albicans (20-35-36-37-38-39-40)

El enterococus faecalis ha sido profusamente estudiado por su resistencia a los procedimientos y medicaciones enodonticas. Esta bacteria resume la capacidad de agregación, adhesión a superficies, generación de hormonas sexuales, producción extracelular de gelatinasa y citolisinas toxicas, capacidad para rápida fluctuación e intercambio genético, además de invadir los conductillos dentinarios e incluso adherirse al colágeno (20-36-41). Todos estos factores de virulencia lo hacen un ejemplo del tipo bacteriano asociado a biofilms. Tanto es así que han podido ser desarrollados biofilms experimentalmente, en el interior de conductos de dientes extraidos, con cultivos puros de enterococcus faecalis (42-43)

La candida albicans es una levadura que al igual que el enterococus posee una serie de factores que le confieren sobrevida en el area periapical (44).

El sinergismo en este tipo de infecciones es crucial en la adaptación bacteriana, es asi que los microorganismos formando biofilm, logrando adherencia a las paredes libres de los conductos radiculares pueden sobrellevar los efectos de la preparacion quirúrgico-química y de las medicaciones intraconducto (5) tanto asi como en espacios remanentes y vacios que puedan quedar en conductos adecuadamente obturados.

En cuanto a la implicancia clínica terapeutica, el factor mas importante puede ser el hecho de que el clínico no puede determinar la presencia de biofilm en un caso en particular, podría si intuirse en las situaciones resistentes a tratamiento y/o de fracaso repetido(26). Se hace necesario conocer cual es su susceptibilidad a las distintas fases de tratamiento y cuales serian los mecanismos a poner en juego a fin de evitar las consecuencias que estos puedan llegar a producir.

Una sustancia ideal debería actuar sobre los biofilms en pos de tratar de evitar la adherencia a las superficies, disminuir o detener la reproducción bacteriana, eliminar sus componentes antigénicos como los lipopolisacaridos y peptidoglicanos, destruir la matriz de polisacáridos extracelulares, alterar sus mecanismos de regulación, cortar la comunicación bacteriana intra e interespecies, y en lo posible lograr concentración inhibitoria de antimicrobiano adecuada que se mantenga en el tiempo. Un desafio actual es el de encontrar la sustancia más competitiva para ser activa sobre todas las estructuras que conforman el biofilm y eliminen la posibilidad de que subproductos antigénicos de los mismos se perpetúen generando la liberación de mediadores de la inflamación. (43)

Este tipo de comunidades bacterianas presentan un alto grado de organización funcional, estructurado y coordinado que les permite a sus habitantes ser altamente resistente a los tratamientos antimicrobianos e incluso a las defensas del hospedero.

Desde el punto de vista clínico la determinación de presencia de biofilms en la clínica endodontica se hace un punto de dificil resolución, comprendiendo a la vez la posibilidad de poder hallar este tipo de estructuras tanto intra como extrarradicularmente.

Para su tratamiento se hace necesaria en primer término una terapia que mecánicamente produzca la desorganización de la matriz, remueva la mayor cantidad posible de masa bacteriana y exponga los microorganismos a la acción de agentes químicos antimicrobianos durante los procedimientos de irrigación y medicación de los conductos radiculares.

La instrumentación mecánica de los conductos radiculares con el propósito de eliminar la capa infectada de dentina en los espesores que alcanza la penetración bacteriana disminuye el número de bacterias viables en su interior (45-46). Cuando está asociada a la utilización de hipoclorito de sodio como irrigante aumenta su efectividad llegando a lograr niveles de disminución de la carga bacteriana comprobados por cultivos negativos de hasta un 80% (40-47).

La elección de hipoclorito de sodioen concentración de 2,5% o solución de Labarraque presenta propiedades utiles a los fines de la eliminación de la masa organica del interior de los conductos radiculares, es antiséptico, disolvente , aumenta la permeabilidad dentinaria, solubiliza proteínas, neutraliza los productos toxicos bacterianos, y tiene bajo efecto irritante.

El empleo de un agente bactericida en particular depende de la naturaleza del biofilm, del tiempo de contacto con el mismo, la dosis y la frecuencia de exposición (48).

Tanto el hipoclorito de sodio en 1%, 2,5% o 5,25% y el gluconato de clorhexidina al 2% presentan efectos sobre las endotoxinas bacterianas. (49)

La utilización del gluconato de clorhexidina como irrigante es otra opción recomendable en la terapéutica, apoyado en la sustantividad de la droga y en su capacidad de inhibir la adhesión inicial de los microorganismos y en potencialmente prevenir la recolonización de las paredes de los conductos por prolongados periodos de

tiempo (50-51). Ha demostrado ser muy efectiva al 2% en eliminar un biofilm de E. faecalis.

Un estudio más reciente también basado en técnica de cultivo reveló que no había diferencia significativa en la eficacia antibacteriana entre NaOCl al 2.5% y CHX líquida al 0.12% cuando fueron usados como irrigantesen el tratamiento de canales infectados (52)

Igualmente los yoduros en diferentes concentraciones han demostrado un gran potencial antimicrobiano gracias al amplio espectro bacteriano y al efecto residual de la droga sobre las superficies en las que actua.

La posibilidad de que porciones de biofilms intrarradiculares subsistan a los tratamientos químico-mecanicos ocupando espacios no alcanzados por la instrumentación, como ser la profundidad de los tubulos dentinarios, las zonas anfractuosas no abordadas, conductos laterales, deltas apicales etc., se suma a la adaptabilidad de estos a cambios ambientales. Este tipo de circunstancias se relacionan a la posibilidad de persistencia de infección y fracaso endodontico, fundamentalmente agravado cuando encontramos biofilm extrarradiculares que no pueden ser alcanzados por la instrumentación mecánica.

Las estrategias actuales incluyen el empleo de algún tipo de medicación intraconducto cuando se encuentren sospechas de presencia de biofilms bacterianos en zonas inaccesibles a la instrumentación. El medicamento de elección ha sido el hidróxido de calcio por su elevado pH que le confiere muy buena y comprobada acción antibacteriana en conductos infectados, capacidad de disolución de tejidos necróticos remanentes e inactivación de las endotoxinas bacterianas. (51-53) Los hechos de que los biofilms bacterianos puedan encontrarse formados por microorganismos resistentes a elevados pH, como ser el caso de los enterococus faecalis, y que esta bacteria fue encontrada en alta frecuencia en los casos de fracasos endodónticos (54), e inclusive en conductos con medicación prolongada con hidróxido de calcio(42) hacen pensar que la utilización del mismo, en estas situaciones, no seria conveniente. (55-56-57). Debería ser de elección la aplicación de otro fármaco de comprobada efectividad antibacteriana por contacto y con sustantividad en los tejidos o la combinación de éste con el hidróxido de calcio.



Placa de Petri con desarrollo de biofilm de staphilococus

Estudios previos han comprobado el mantenimiento de alto pH en tiempos extendidos cuando el hidróxido de calcio fue combinado con halógenos (Yodopovidona) como medicación intraconducto (58-59-60). De acuerdo a los resultados obtenidos en estos trabajos el uso de hidróxido de calcio con un vehículo de yodo povidona al 1.25% seria un material que estadísticamente demostró mantener los valores de ph mas óptimos como medicamento intraconducto. En cuanto a este aspecto es destacable opinar que la utilización de drogas que buscan mantener alto pH a largo plazo desde el aspecto biológico se tornan cuestionables, fundamentalmente en cuanto a que por parte del organismo rápidamente se establecen mecanismos de tipo buffer buscando el mantenimiento de homeostasis en la zona de aplicación.

La posibilidad de lograr permeabilidad de las drogas antibacterianas a través de la dentina, fundamentalmente en el tercio apical donde el cemento es mas celular y por ende mas permeable, tratando de lograr un conducto radicular que actue como reservorio de antisépticos en busca de conseguir acción sobre las capas externas del diente desde dentro mismo de la pieza dental. De esa menara podría influirse contra las capas profundas del biofilm que se encuentran protegidas del medio externo por los mecanismos ya descriptos. La yodopovidona como irrigante y el yodoformo en pasta fueron analizados invitro con este objetivo, demostrando índices de permeabilidad de iodo en concentraciones adecuadas en periodos de tiempo de hasta 30 dias (61-62).

La utilización de drogas como la yodopovidona y la clorhexidina empleadas individualmente han demostrado un alto potencial para impedir la proliferación bacteriana de cepas de enterococus faecalis y stafilococus aureus, tanto en distintas concentraciones como así en los periodos de tiempo analizados, desde las 24 horas hasta los 30 días. Coincidiendo con autores que han encontrado similares resultados (63). No habiendo encontrando la misma efectividad en los casos en que fueran combinadas las drogas con el hidróxido de calcio, especialmente en combinación con yodopovidona, pudiendo de acuerdo a reacción química con los vehículos en estudio, crear subcompuestos que disminuyen su efectividad, obteniendo de la combinación un efecto antimicrobiano inferior en iguales periodos tiempo y concentraciones que el de la aplicación de las drogas puras.

Se podría inferir que la reacción química generada por estas combinaciones podría presentar un comportamiento no deseado en cuanto a su efecto antiséptico y que estos compuestos deben ser estudiados a nivel biológico con el propósito de evaluar potenciales genotoxicos y daño tisular generado por estas combinaciones.

La microbiología endodóntica cuenta hoy con técnicas como el microscopio laser confocal, los marcadores fluorescentes que analizan estructuras y cambios celulares en el biofilm, que podrían dilucidar los mecanismos de resistencia y adaptación bacterianos (64). Esto abre un camino potencialmente efectivo para el tratamiento terapéutico de los biofilms se encuentra en la inhibición de los mecanismos de comunicación entre las células microbianas a través del quórum sensing, alterando, disminuyendo o eliminando sus factores de virulencia (24).

Las sospechas clínicas pueden encontrar algún tipo de confirmación de existencia de biofilms cuando piezas aparentemente correctamente tratadas y obturadas presentan cuadros de fracaso. Estas circunstancias sustentarían una de las razones de mayor índice de fracaso en los retratamientos endodonticos. La complementación con técnicas quirúrgicas ofrece una correcta alternativa para la eliminación de los biofilms extrarradiculares.

## Bibliografía

- 1.-Costerton, J. W., G. G. Geesey, and G. K. Cheng. How bacteria stick. Sci. Am, 1978, 238:86-95. Comment in: Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
- 2.-Lasa I, Del Pozo J, Penaldes J, Leiva J. Bacterial biofilms and infection. An Sist Sanit Navar, 2005, 28(2):163-75.
- 3.-Davey M, O'toole G. Microbial biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(4):847-67.
- 4.-Bowden G, Li Y. Nutritional Influences on Biofilm Development. Adv Dent Res, 1997, 11(1):81-99.
- 5.-Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. Endodontic Topics, 2004, 9:27-36.
- 6.-Donlan R. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. Emerg Infect Dis. 2002, 8(9):881-90.
- 7.-Wimpenny J, Manz W, Szewzyk U. Heterogeneity in Biofilms. FEMS Microbiology Reviews, 2000, (24):661-71.
- 8.-Marshall, K. Interfaces in microbial ecology. Harvard University Press, Cambridge, Mass, 1976:44-47. Comment in: Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
- 9.-Costerton J, Cheng G, Geesey T, Ladd J, Nickel M, Dasgupta M, Marrie T. Bacterial biofilms in nature and disease. Annu. Rev. Microbiol, 1987, 41:435-64.
- 10.-Sutherland I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology, 2001, 147:3-9.
- 11.-Whitchurch C, Erova T, Emery J, Sargent J, Harris J, Semmler A. Phosphorylation of the Pseudomonas aeruginosa response regulator AlgR is essential for type IV fimbria-mediated twitching motility. J Bacteriol, 2002, 184:4544-54.
- 12.-Wimpenny J, Colasanti R. A unifiying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models. FEMS Microbiology Reviews, 1997, (22):1-16.
- 13.-Kolenbrander P, Andersen R, Blehert D, Egland P, Foste J, Palmer R. Communication among Oral Bacteria. Microbiol Mol Biol Rev, 2002, 66(3):486-505.
- 14.-Scheie A, Petersen F. The biofilm concept: consecuences for future prophylaxis of oral disease?. Crit Rev Oral Biol Med, 2004, 15(1):4-12.

- 15.-de Kievit T, Iglewski B. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infect Immun, 2 000, 68:4839-49.
- 16.-Donlan R. "Biofilms Microbial life on surfaces Emerg Infect Dis 2002, 8(9) 881-90
- 17.-Donlan R, Costerton W. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 2002, 15(2):167-93.
- 18.-Ferreira F, Ferreira A, Gomes B, Souza-Filho F. Resolution of persistent periapical infection by endodontic surgery. Int Endodon J, 2004, 37:61-9.
- 19.-Leonardo M, Rossi M, Silva L, Ito I, Bonifácio K. EM evaluation of Bacterial Biofilm and Microorganism on the Apical External Root Surface of Human Teeth. J of Endodon 2002; 28(12): 815-8.
- 20.-Sunde P, Olsen I, Debelian G, Tronstad L. Microbiota of Periapical Lesions Refractory to Endodontic Therapy. J Endod, 2002, 28(4):304-310.
- 21.-Ricuci D,Martorano M,Bate AL, Pascon EA Calculus like deposit on the apical external root surface of teeth with post-treatment apical periodontitis: report of two cases Int Endod J. 2005 Apr; 38(4):262-71
- 22.-Gilbert P, Das J, Foley I. Biofilms susceptibility to antimicrobials. Adv. Dent. Res, 1997, 11:160-67.
- 23.-Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends Microbiol, 2001, 9:34-39. Comment in: Crit Rev Oral Biol Med, 2004, 15(1):4-12.
- 24.-de Kievit T, Iglewski B. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infect Immun, 2000, 68:4839&endash;49.
- 25.-Siqueira J, Lopes H. Bacteria on the apical root surfaces of untreated teeth with periradicular lesions: a scaning electron microscopy study. Int endodon J, 2001, 34:216-20.
- 26.-Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial Biofilms in refractary and Chronic Periapical Periodontitis. J Endod, 2002, 28(10):679-83.
- 27.-Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wink K. Factors Affecting the Long-term Results of Endodontic Treatment. J Endodon, 1990, 16(10):489-504.
- 28.-Friedman S, Abitbol S, Lawrence H. Treatment Outcome in Endodontics: The Toronto Study. Phase 1: Initial Treatment. J Endod, 2003, 29(12):787-93.
- 29.-Farzaneh M, Abitbol S, Lawrence H, Friedman S. Treatment Outcome in Endodontics-The Toronto Study. Phase II: Initial Treatment. J Endod, 2004; 30(5):302-9.
- 30.-Farzaneh N, Abitbol S, Friedman S. Treatmnent Outcome in Endodontics: The Toronto Study. Phases I and II: Orthograde Retreatment. J Endod, 2004; 30(9):627-33.
- 31.-Nair R, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K, Sundqvist G. 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 Endodon, 1990, 16(12):580-8.

- 32.-Chugal N, Clive J, Spängberg L. Endodontic infection: Some biologic and treatment factors associated with outcome. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2003, 96:81-90.
- 33.-Siqueira J. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. Int Endodon J, 2001, 34(1):1-10.
- 34.-Lomcali G, Sen B, Cankaya H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. Endod Dent Traumatol, 1996, 12: 70-6.
- 35.-Chavez de Paz L. Gram-positive organisms in endodontic infection. Endodontics Topics, 2004, 9:79-96.
- 36.-Sedqley C, Clawell D. Bacterial Plasmids in the oral and endodontic microflora. Endodontic Topics, 2004; 9:37-51.
- 37.-En prensa: Gomes B, Pinheiro E, Souza E, Jacinto R, Zaia A, Ferraz C, Souza-Filho F. Enterococcus faecalis in dental root Canals detected by culture and by polymerase Chain reaction análisis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006.
- 38.-Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. Int Endodon J, 1997, 30:96-101.
- 39.-Egan M, Spratt D, Ng Y, Lam J, Moles D, Gulabivala K. Prevalence of Yeast in saliva and root Canals of teeth associated with apical periodontitis. Int Endodon J, 2002; 35:321-9.
- 40.-Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Orstavik D. Clinical efficacy of tretment procedure in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. J Endod, 2005; 31(12):863-6.
- 41.-Love R. Enterococcus faecalis &endash; a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endodon J, 2001; 34: 399-405.
- 42.-Distel J, Hatton J, Gillespie J. Biofilm Formation in Medicated Root Canals. J Endod, 2002, 28(10):689-93.
- 43.-Clegg M, Vertucci F, Walker C, Belanger M, Britto L. The effect of exposure to irrigant solutions on apical dentin biofilm in vitro. J Endod, 2006, 32(5):434-7.
- 44.-Waltimo T, Kuusinen M, Järvensivu A, Nyberg P, Väänänem A, Richardson M, Salo T, Tjäderhane L. Examination on Candida Spp. In refractory periapical granulomas. Int Endodon J, 2003, 36:643-7.
- 45.-Wu M, Bummer P, Wesselink P. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. Int Endodon J, 2006, 39:343-56.
- 46.-Haapasalo M. Control and Elimination of Endodontic Infection. Roots, 2006, 1:15-22.
- 47.-Shuping G, Orstavik D, Sirgurdsson A, Trope M. Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotatory instrumentation and various medications. J Endod, 2000; 26:751-55.
- 48.-Spratt D, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilm of root canal isolates. Int Endodon J, 2001, 34:300-7.

- 49.-Siqueira J, y col Efficacy os instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals J. Endod 28. 181-184
- 50-Komorowski, R. G, H. W, X. Y.,, Friedman S.Antimicrobial Substantivity Of Chlorhexidine-Treated Bovine Root Dentin. J.Endod;26: 315,2000.
- 51.-Waltimo T, Haapasalo M, Zehnder M, Meyer J. Clinical aspects related to endodontic yeast infection. Endodontic Topics, 2004; 9:66-78.
- 52.-Siqueira JF, Jr., Paiva SS, Rocas IN. Reduction In The Cultivable Bacterial Populations In Infected Root Canals by A Chlorhexidine-BasedAntimicrobial Protocol. J Endod;33:541, 2007.
- 53.-Siqueira J, Lopes H. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. Int Endodon J, 1999, 32:361-9.
- 54.- Peciuliene V,Reynaud AH,Balciumiene I, Haapasalo M Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis *Int Endod J. 2001 Sep 34(6):429-34*
- 55.- Pacios MG, Silva C, Lopez M. Influencia del recambio de pastas de CaOH, en la eliminación de Enterococcus faecalis. Cátedra de Química Biológica .Facultad de Odontología. Cátedra de Bacteriología, facultad de Bioquímica, química y farmacia.UNT, San Miguel de Tucumán .Argentina 2005. Boletín informativo. Sociedad Argentina de Endodoncia. Nº 26 Mayo 2006.
- 56.-Evans M, Davies JK, Figdor D. Mechanism involved in the resistance of enterococcus faecalis to calcium hydroxide. Int Endod J 2002; 35:221-28.
- 57.- Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: Su rol en el fracaso del tratamiento de conductos y conceptos actuales en retratamientos. Journal of endodontics 2006; 32(2):93-98.
- 58.- Lopreite G, Raimondo S, Millán G, et al. Comportamiento del pH del hidróxido de calcio en solución iodófora. Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Bs. As.2005. Boletín informativo. Sociedad Argentina de Endodoncia. Nº 26 Mayo 2006.
- 59.- Sierra L, Lopreite G, Basilaki J et al. Variación de los niveles de pH de diferentes soluciones de hidróxido de calcio en parámetros de tiempos extendidos. Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires 2005. Boletín informativo. Sociedad Argentina de Endodoncia. Nº 26 Mayo 2006.
- 60.- Lopreite G, Zurimendi A, Sierra Let al. Variación de los niveles de pH de diferentes presentaciones comerciales de hidróxido de calcio. Cátedra de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de buenos Aires. Boletín informativo. Sociedad Argentina de Endodoncia. Nº 26 Mayo 2006.
- 61- Custo G., Lopreite G. y col Evidencia del transporte de yodo a través de los conductos radiculares en dientes humanos por TRXRF *VIII Seminario Latinoamericano de Análisis por Técnicas de Rayos X. Brasil. 2002*

- 62- Lopreite G., y col Determinacion de pasaje de iodo al area de influencia del conducto radicular
- IADR. Sociedad Argentina de Investigación Odontologica. Buenos Aires 2002
- 63.-Lopreite G, Michelena G, Basilaki , Tobias M, Sierra L Accion antimicrobiana de la clorhexidina y la yodopovidona y sus combinaciones con HO2Ca en diferentes tiempos y concentración in vitro revista Canal Abierto Nro 20 setiembre 2009 pag. 40-45
- 64.- Chavez de paz L. Técnicas para estudiar la adaptación microbiana en los biofilms Canal Abierto Nro 20 setiembre 2009 pag 2-5