

Estudio histológico descriptivo de la colonización de bacterias en los túbulos dentinarios de dientes extraídos con necrosis pulpar.

Descriptive histological study of the colonization of bacteria in the dentinal tubules of extracted teeth with pulp necrosis.

Salvador Ávila Villegas,* Gerardo Rosas González,* José A Pujana García Salmones,*
Nadime Rosas Bernal,** Eduardo Llamosas Hernández***

RESUMEN

Antecedentes: Uno de los objetivos del tratamiento endodóntico consiste en lograr la eliminación de los microorganismos residentes en los conductos radiculares. Sin embargo, los microorganismos presentes en la necrosis pulpar se adaptan a las condiciones de los conductos necróticos penetrando en los túbulos dentinarios, lo que complica el pronóstico del tratamiento. **Objetivo:** El propósito de esta investigación fue describir histológicamente las zonas de formación y distribución de la biopelícula tanto en los conductos como en los túbulos dentinarios de dientes extraídos con patología pulpo-periapical. **Material y métodos:** Se estudiaron 34 muestras de dientes extraídos con lesiones periapicales. Ninguno de los especímenes tenía tratamiento de conductos previo, ni lesión endoperiodontal, ni fractura longitudinal o fractura de la raíz. Los dientes fueron descalcificados en ácido fórmico al 5% en formol amortiguado durante siete semanas. Se realizó el procedimiento histológico de rutina para inclusión de las muestras en parafina. Se obtuvieron cortes seriados longitudinales del conducto pulpar para someterlos a tinción con hematoxilina y eosina, tinción de ácido peryódico de Schiff, metenamina de plata y de Gram & Taylor Brown-Brenn para identificar los túbulos dentinarios, la presencia de hongos y bacterias. **Resultados:** De los 544 cortes estudiados, 75% (405) tuvieron colonización microbiana. No se encontraron evidencias de la presencia de hongos. Con respecto a la profundidad de penetración de los microorganismos en los túbulos se identificaron 194 cortes (35.6%) con presencia de bacterias en 150 µm y 211 muestras (38.7%) en los que la penetración fue más allá de 500 µm. **Conclusiones:** En los conductos radiculares de dientes con pulpa necrótica que presentan lesiones periapicales se concentra una considerable cantidad de bacterias que logran penetrar en los túbulos dentinarios, lo que debe tenerse en cuenta cuando se realizan procedimientos del tratamiento de conductos radiculares.

Palabras clave: Microorganismos, necrosis pulpar, túbulos dentinarios.

ABSTRACT

Background: One of the main goals of endodontic treatment is to achieve the elimination of resident microorganisms in the root canal. However, the microorganisms involved in the pulp necrosis adapt to the conditions of necrotic canals, penetrating the dentinal tubules, which complicates treatment. **Objective:** The purpose of this research was to histologically describe the areas of formation and distribution of biofilm in both the canals and the dentinal tubules of teeth extracted with pulp and periapical pathology. **Material and methods:** 34 samples of teeth with periapical lesions were studied. None of the specimens had prior canal treatment, endoperiodontal injury, fracture nor longitudinal root fracture. Teeth were decalcified with 5% formic acid and buffered with formalin for 7 weeks. Histological routine procedure for including samples in paraffin was conducted. Longitudinal serial sections were obtained of the pulp canal space for submission to staining with hematoxylin and eosin, peryodic acid Schiff, methenamine silver, and Gram & Taylor Brown-Brenn, to identify dentinal tubules and the presence of fungi and bacteria. **Results:** Of the 544 histological sections under study 75% (405) showed microbial colonization. No evidence of fungi was found. 194 histological sections (35.6%) had microorganisms penetrating the dentinal tubules to a depth of 150 microns, and 211 histological sections (38.7%) had microorganisms penetrating the dentinal tubules for more than 500 µm. **Conclusions:** There are a large number of bacteria that manage to penetrate the dentinal tubules in the root canals of necrotic teeth. This should be taken into account when root canal treatment procedures are performed.

Key words: Microorganisms, pulp necrosis, dentinal tubules.

* Profesor de la Carrera de Cirujano Dentista, FES Iztacala, UNAM.

** Profesora del Postgrado, Universidad Latinoamericana.

*** Profesor del Postgrado, FES Iztacala UNAM.

Con apoyo del Laboratorio 1 de Histología de la UMF, UNAM, FES Iztacala.

Recibido: 10 Marzo 2017. Aceptado para publicación: 28 Marzo 2017.

INTRODUCCIÓN

Para comprender el proceso de la enfermedad endodóntica así como para establecer las maniobras necesarias para eliminarla, se requiere en primer lugar

conocer la ubicación y organización de las bacterias dentro de los conductos.

Leeuwenhoek a finales del siglo XVII observó mediante un microscopio rudimentario abundante presencia de material en los conductos de dientes extraídos que según describió «parecía estar vivo». En 1894 Miller publicó un estudio microbiológico pionero en el que informaba la posible asociación entre las bacterias y las lesiones periapicales y establecía las diferencias entre la microbiota de los conductos radiculares de acuerdo con sus diversos tercios.¹

Takehashi y cols.² en su estudio clásico realizaron exposiciones pulparenses en ratas tanto de microbiota normal como en otras libres de gérmenes y demostraron la relación causal entre los microorganismos y las lesiones periapicales, puesto que las pulpas expuestas al medio bucal convencional desarrollaron lesiones periapicales, mientras que las ratas libres de gérmenes no presentaron esta patología e incluso mostraron reparación de tejido duro.

Peters y cols.³ comprobaron que existe invasión de bacterias dentro de los túbulos dentinarios que debido a un amplio lumen permiten la penetración de una enorme cantidad de bacterias. Se ha reportado que la infección de los túbulos está presente entre 70 y 80% de los casos en los que hay evidencia de lesión periapical. Siqueira demostró que la penetración de las bacterias dentro de los túbulos puede alcanzar hasta 300 micrómetros de profundidad dentro de la dentina.⁴

Por ello, el objetivo fundamental del tratamiento de conductos en los que hay patología periapical consiste en lograr la máxima eliminación posible de los microorganismos residentes dentro de los conductos radiculares de los dientes afectados (*Figura 1*).

Mientras que las bacterias presentes en los conductos radiculares permanezcan en forma planctónica (libres) su eliminación es más sencilla, pero cuando se organizan en conglomerados denominados biofilm o biopelícula que se adhieren a las paredes dentinarias, se sitúan en

los istmos de los conductos, en los conductos laterales o dentro de los túbulos dentinarios su eliminación resulta más complicada. Debido a lo anterior, cuando ya se ha instaurado la necrosis séptica del tejido pulpar es mucho más difícil eliminar, o al menos reducir, el número de microorganismos presentes en el sistema de conductos a una cantidad tal que sea incapaz de producir patología y evitar su reinfección.⁵⁻⁹

El medio que más eficazmente logra cumplir este objetivo es la combinación de la instrumentación (limpieza, conformación biomecánica de las paredes dentinarias mediante instrumental endodóntico estandarizado) y la irrigación de los conductos mediante soluciones que posean capacidad antiséptica, pero no irritantes en exceso para el tejido conectivo periapical.¹⁰⁻¹²

Aun así, los microorganismos de la biopelícula pueden ser capaces de sobrevivir a los procedimientos de desinfección, resistir las medicaciones intraconductos y adaptarse a un ambiente donde la disponibilidad de nutrientes sea limitada o escasa, logrando permanecer remanentes en un conducto debidamente obturado, lo que incide en el porcentaje de éxito del tratamiento de conductos en pulpas necróticas.^{11,13,14}

La organización de los agregados bacterianos ocurre en forma de una biopelícula o biofilm que consiste en la estructura de una o varias estirpes bacterianas embebidas en una matriz de polisacáridos autoproducida, proliferante y enzimáticamente activa, adherida a una superficie y que en el caso de las estructuras dentales y periodontales se desarrollan preferentemente en tejidos necróticos.^{8,9,12}

Varios autores afirman que existe la posibilidad de reducir la cantidad de agentes patógenos alterando su entorno, desestabilizando el metabolismo bacteriano e inhibiendo su capacidad de producir patología.^{11,13,15}

Razón por la cual el objetivo de la presente investigación fue describir histológicamente las zonas de formación y distribución de la biopelícula tanto en los conductos como en los túbulos dentinarios en dientes extraídos con patología pulpo-periapical.

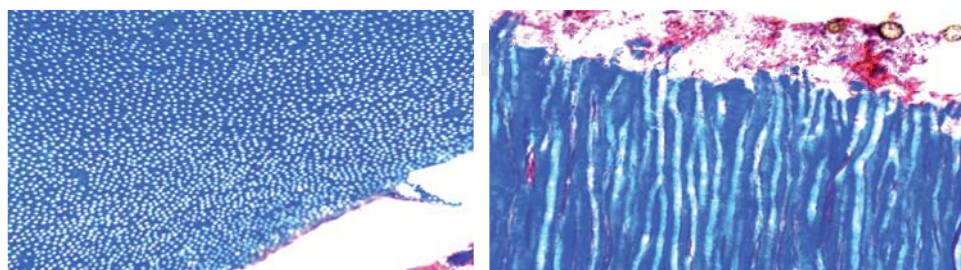


Figura 1.

Túbulos dentinarios libres de biopelícula, corte longitudinal y transversal, tinción PAS 100x y 400x. UMF, UNAM, FES Iztacala.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio descriptivo de 34 muestras de dientes extraídos, obtenidas de pacientes que acudieron a la FES Iztacala con lesiones periapicales adheridas a los ápices radiculares y que se extrajeron tras ser diagnosticados dientes sin posibilidad de restauración o debido a que los pacientes no deseaban tratamientos para mantener su diente. Ninguno de los especímenes tenía tratamiento de conductos previo. Se excluyeron del estudio los dientes en los que hubiese una lesión endoperiodontal, fractura longitudinal o fractura de la raíz. Todos los especímenes examinados fueron donados por los pacientes afectados, quienes dieron su consentimiento por escrito para que pudieran utilizarse con fines de investigación.

Todos los dientes fueron sometidos a la descalcificación en ácido fórmico al 5% en formol amortiguado y agitación continua por siete semanas con recambio de solución cada semana. Se realizó el procedimiento histológico de rutina para inclusión en parafina con el fin de obtener 16 laminillas por bloque, con cortes seriados de cinco cortes longitudinales al eje mayor del diente y del conducto pulpar por laminilla y cinco micras de espesor (544 muestras), separando alternadamente el total de laminillas en cuatro grupos, con 25% de los cortes obtenidos en cada grupo para someterlos a tinción con hematoxilina y eosina, ácido peryódico de Schiff, metenamina de plata y de Gram & Taylor Brown-Brenn para identificar los túbulos dentinarios, la presencia de hongos y bacterias, respectivamente.

Se revisaron los cinco cortes de cada laminilla a 40x y se registraron fotográficamente los cortes obtenidos con

un microscopio óptico Leica con cámara digital, se midió y registró la longitud mínima y máxima de los túbulos colonizados y localizados en un campo óptico con el programa Leica Application Suite.

RESULTADOS

La reacción pigmentaria de los colorantes usados para la detección de la presencia de túbulos dentinarios afectados por la presencia de microorganismos a lo largo del conducto radicular en los 544 cortes obtenidos para este estudio, mostró que 405 (75%) de las muestras presentaban colonización microbiana (Figura 2). No se hallaron evidencias de presencia de hongos.

Se identificaron 194 cortes (35.6%) en los que los microorganismos de los conductos infectados penetraron en los túbulos dentinarios a una profundidad de entre 150 μm (Figura 3) y 211 cortes (38.7%) con túbulos infectados a más de 500 μm (Figura 4). Se detectó que esta biopelícula estaba conformada por abundantes bacterias.

DISCUSIÓN

Como se menciona al inicio de este reporte, es fundamental comprender el proceso de la enfermedad endodóntica así como conocer la ubicación y organización de las bacterias dentro de los conductos.

En esta investigación descriptiva puede apreciarse la naturaleza de la biopelícula que hay en los conductos radiculares infectados que provocan lesiones periapicales. Se corroboró que la mayoría de los conductos, en este caso 75% de los cortes estudiados, contienen una

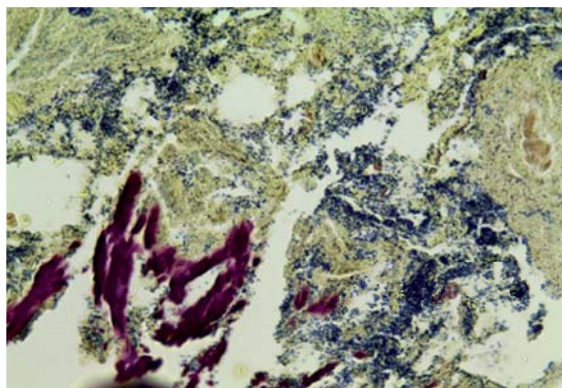


Figura 2. Pulpa dental radicular necrótica con abundante presencia de bacterias. 100x, tinción de Gram & Taylor Brown-Brenn. UMF, UNAM, FES Iztacala.

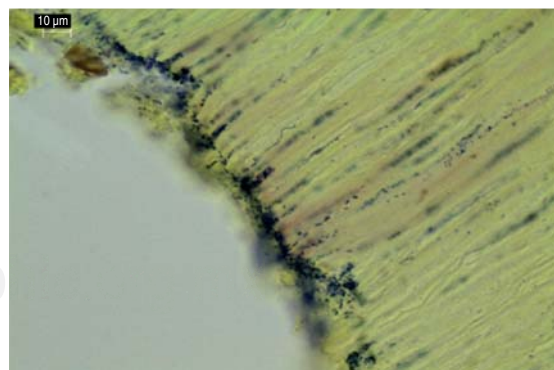


Figura 3. Biopelícula adherida a la superficie del conducto radicular que penetra en los túbulos dentinarios. 100x tinción de Gram & Taylor Brown-Brenn. UMF, UNAM, FES Iztacala.

considerable cantidad de bacterias bien organizadas que incluso penetran dentro de los canalículos dentinarios a gran profundidad, hasta 500 μm .

Si trasladamos estos hallazgos a la práctica clínica se refuerza la idea de que el propósito de la instrumentación de los conductos es remover la capa de dentina infectada que erradica los microorganismos allí contenidos. Resulta relevante analizar que aunque pudiera realizarse un ensanchamiento del conducto de 400 a 500 μm más que su diámetro inicial, éste no podría remover la totalidad de dentina infectada, pues en muchos casos las bacterias pueden penetrar en zonas muy profundas de los túbulos dentinarios imposibilitando su remoción mecánica (Figura 5).

Bajo estas circunstancias queda clara la importancia de la irrigación de los conductos, en especial con hipoclorito de sodio, que sin duda contribuye a la erradicación

de los microorganismos y sus productos dentro de los conductos principales, istmo, conductos laterales y los túbulos dentinarios.

Estos hallazgos también invitan a reflexionar sobre las nuevas propuestas de preparación de los conductos rotatorios que promueven cada vez con más frecuencia el uso de menos instrumentos. Si bien se está avanzando hacia la simplificación de la preparación de conductos, también puede producirse el efecto de no eliminar adecuadamente la biopelícula en los conductos radiculares infectados, situación que llevará al fracaso de los tratamientos de conductos.

CONCLUSIONES

En los conductos radiculares de dientes que presentan lesiones periapicales se concentra gran cantidad de bacterias, generalmente organizadas en una biopelícula. Estos microorganismos también penetran en los túbulos dentinarios donde difícilmente pueden erradicarse.

Cabe destacar que no se dispone de ninguna técnica de instrumentación capaz de remover toda la dentina infectada del conducto radicular. Consecuentemente, es probable que los microorganismos permanezcan en los túbulos dentinarios y otras variantes anatómicas después de la instrumentación, es esencial que estén inhabilitados y enclaustrados de tal manera que no provoquen la reinfección de los tejidos periapicales.

Clínicamente no es posible determinar la organización de una biopelícula; sin embargo, sabemos que las bacterias están presentes o persisten en los conductos radiculares necróticos con lesión periapical en los casos que no responden al tratamiento convencional de la limpieza y conformación de los conductos, en exposiciones dentinarias prolongadas por caries, en conductos con tratamiento endodóncicos deficientes y en dientes con trayectos fistulosos.

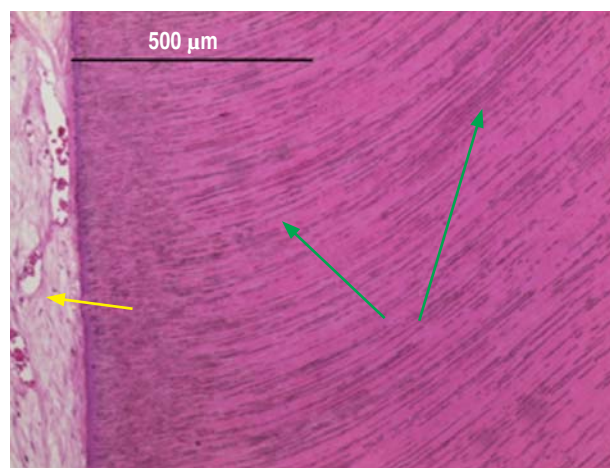


Figura 4. Pulpa dental necrótica (flecha amarilla) y dentina que muestra el desplazamiento de bacterias que penetran en los túbulos dentinarios (flechas verdes) en distancias mayores de 500 micrómetros. 40x tinción de Hematoxilina y Eosina. UMF, UNAM, FES Iztacala.

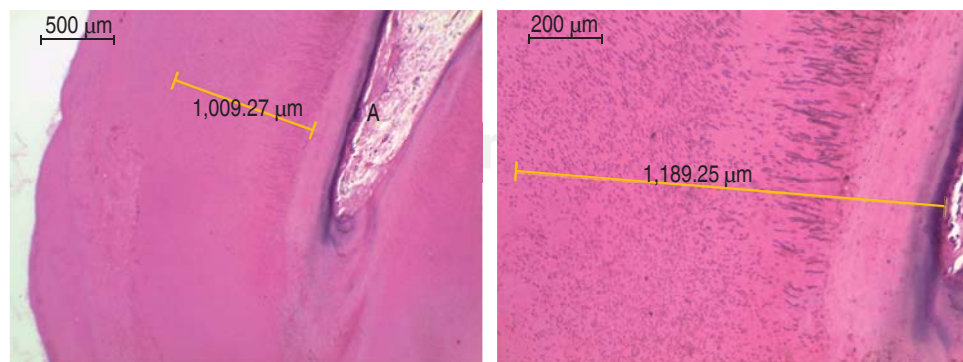


Figura 5.

Corte longitudinal de la misma muestra con proliferación y desplazamiento de bacterias que penetran en los túbulos dentinarios en distancias mayores de 500 micrómetros. 10 x y 40x tinción de Hematoxilina y Eosina. UMF, UNAM, FES Iztacala.

De acuerdo con la información recopilada y las evidencias de este estudio, todo diente en estas condiciones debe considerarse como portador de biopelícula y por lo tanto debe tratarse para erradicar la máxima cantidad posible de bacterias y realizar una obturación adecuada que impida la reactivación de la proliferación bacteriana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ricucci D, Siqueira J. Endodontology. An integrity biological and clinical view. United Kingdom: Quintessence Publishing; 2013. pp. 147-160.
2. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulp in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965; 20 (3): 340-349.
3. Peters LB, Wesselink PR, Buijs JF, van Winkelhoff AJ. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. J Endod. 2001; 27 (2): 76-81.
4. Siqueira JF Jr, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002; 93 (2): 174-178.
5. Sjogren U, Hagglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. J Endod. 1990; 16 (10): 498-504.
6. Vera J, Siqueira JF Jr, Ricucci D, Loghin S, Fernández N, Flores B et al. One- versus two-visit endodontic treatment of teeth with apical periodontitis: a histobacteriologic study. J Endod. 2012; 38 (8): 1040-1052.
7. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005; 99 (2): 231-252.
8. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999; 284 (5418): 1318-1322.
9. Duggan JM, Sedgley CM. Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2007; 33 (7): 815-818.
10. Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod. 2006; 32 (5): 389-398.
11. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC et al. *In vitro* antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. Int Endod J. 2006; 39 (11): 878-885.
12. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. J Endod. 2002; 28 (10): 689-693.
13. Siqueira JF Jr, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009; 107 (6): 870-878.
14. Chugal NM, Clive JM, Spångberg LS. Endodontic treatment outcome: effect of the permanent restoration. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007; 104 (4): 576-582.
15. Wu MK, Dummer PM, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. Int Endod J. 2006; 39 (5): 343-356.

Correspondencia:

Salvador Ávila Villegas

Av. De los Barrios Núm. 1,
Col. Los Reyes Ixtacala, 54090,
Tlalnepantla, Edo. de México.
Tel: 55 1831 8434
E-mail: s007avila@hotmail.com