

Biofilm en infecciones endodónticas

Juan Diego López¹, Esteban Valencia², Marcela Bedoya²
Luisa Restrepo², Sandra Castaño²

Resumen: El propósito de este artículo es realizar una revisión de literatura para reconocer cómo las bacterias realizan la formación del biofilm, la estructura y su relación con las infecciones endodónticas. Las diferentes teorías sobre el tema se agruparon en ideas que concluyan gran parte de la información, lo cual sirve como fuente de consulta para aprender a utilizar correctamente los irrigantes como el NaOCl, clorhexidina y EDTA, según las investigaciones realizadas por los diferentes autores, teniendo en cuenta la taxonomía de las bacterias en este tipo de infecciones. Las bacterias utilizan varios mecanismos de supervivencia que las hacen resistentes a influencias externas adversas, incluyendo: pH, temperatura, nutrición y antibióticos; estudios *in vivo* e *in vitro* han detectado que éstas presentan varios estadios en el proceso de desarrollo del biofilm, que influyen directamente en la forma como se genera la infección. La ciencia ha demostrado el proceso de desarrollo del biofilm, por esto, se desea agrupar la literatura iniciando desde el proceso biológico celular básico, su interacción con la infección y finalmente la forma más eficiente de erradicarlas del conducto radicular.

Palabras clave: Biofilm, infección endodóntica, resistencia bacteriana

Biofilm in endodontic infections

Abstract: the aim of this review is to recognize how bacterias make the formation of biofilm, the structure and its relationship with endodontic infections.

Different theories on the subject were grouped in ideas that conclude great part of the information, which serves as source of consultation to have a correct use of irrigants such as: NaOCl, chlorhexidine and EDTA, considering the taxonomy of this kind of infections according to the investigations made by different authors.

Bacterias use several survival mechanism which makes them resistant to adverse external influences, including: pH, temperature, nutrition and antibiotics; *in vivo* and *in vitro* studies have detected that bacterias, have several stages of development, which influences directly, the way how the infection generates.

Science has shown this process. Therefore we would like to group the literature, starting from the basics of cellular biology, its interaction with infection and finally to the most efficient way to eradicate them from the root canal.

Key words: biofilm, endodontic infection, bacteria resistance

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Introducción

El reto más grande de la endodoncia es eliminar la infección bacteriana en el conducto radicular; los estudios de éxito y fracaso se enfocan en buscar cuales son las técnicas mas adecuadas para eliminar estos microorganismos, ya que estos se comportan de forma diferente de acuerdo al ambiente que los rodea y se debe conocer no sólo cuales pueden ser las reacciones de un huésped ante un biofilm con ciertas características biológicas, sino también, verificar si ese biofilm es fácil de remover.

Conocer las causas y consecuencias de la aglomeración de estos microorganismos en los conductos radiculares, permite o ayuda a evaluar: Primero, las cepas de microorganismos prevalentes en estas infecciones endodónticas en dientes no vitales, segundo, los mecanismos que utilizan para generar resistencia a los tratamientos de conductos y tercero, como afecta esto el estado final del procedimiento.

Es importante entender que; las bacterias en su forma planctónica son menos resistentes que su forma agrupada, y también sus diferencias fenotípicas, el quórum sensing, y como aumentan su virulencia cuando están en biofilms.

Las bacterias son las responsables directas de las infecciones endodónticas. Día a día se publican investigaciones que buscan comprender con más profundidad, la estructura, el funcionamiento, la fisiopatología, la genética, la forma de cooperación y la taxonomía de estas bacterias. Aun así, sigue la inquietud por conocer más acerca de las asociaciones bacterianas en biofilms. Entender su estructura, su formación y su fisiología, será para el presente y futuro del manejo de las infecciones, una gran oportunidad.

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Microbiología

Es la rama de la biología que estudia los organismos que sólo son visibles a través del microscopio y su interacción con los seres humanos, ayudando de ésta manera, al diagnóstico de patologías causadas por éstos ^(1, 2).

Las bacterias se clasifican según tres parámetros básicos: morfología, metabolismo y pared celular; en la primera encontramos los cocos, bacilos y formas helicoidales, en la segunda se presentan como anaerobios, aerobios y facultativos, en la última, hay dos diferentes tipos de pared celular denominados Gram positivos y Gram negativos, este nombre se deriva de la reacción de la pared celular a la tinción de Gram, método tradicionalmente empleado para clasificar las paredes bacterianas. Las Gram positivas tienen una pared celular gruesa con numerosas capas de péptidoglicano, en las que se insertan ácido teicoico. Las Gram negativas poseen una pared relativamente fina, que consistente en pocas capas de péptidoglicano, rodeada por una segunda membrana lipídica que contiene lipopolisacáridos y lipoproteínas; esta última actúa como una endotoxina siendo responsable de la capacidad patógena del microorganismo ^(3, 4, 5). Tradicionalmente los microorganismos Gram negativos anaerobios, han tenido cierta popularidad en microbiología por poseer ciertos aspectos en su pared celular que los hace patógenos; la cápsula es un ejemplo de ello, ya que es una estructura rígida formada por una serie de polímeros orgánicos que se depositan en el exterior de dicha pared celular, que contiene glicoproteínas brindándole propiedades de antigenicidad, adherencia, protección, virulencia y patogenicidad, el citoplasma, estructura igual de importante rodeada por una membrana citoplasmática le brinda características de: permeabilidad, transporte, quimiotaxis, división celular, síntesis de ADN, plásmidos, resistencia, y síntesis de proteínas ^(1,2). Las bacterias que presentan un metabolismo anaerobio, producen una pequeña cadena de ácido lipídico incluyendo ácidos: propiónico, butírico e isobutírico que tienen efectos sobre el sistema de defensa causando inhibición de quimiotaxis de neutrófilos, degranulación, quimioluminiscencia y fagocitosis. En estudios recientes se demostró que el ácido butírico causa un efecto de inhibición de osteoblastos, estimulado así la interleuquina 1, la cual está asociada con reabsorción ósea ⁽⁶⁾.

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Infeción Endodóntica

Infeción endodóntica primaria es una lesión que aparece como consecuencia directa del ataque de las bacterias a dientes que no han sido tratados endodónticamente⁽⁷⁾.

Es causada por una necrosis pulpar no tratada que con el tiempo los microorganismos proliferan de una manera incontrolada en los conductos radiculares extendiendo la infección a la zona perirradicular. Aunque se realice el tratamiento endodóntico adecuado y se sigan los protocolos de desinfección, la recuperación histológica y radiográfica, como aposición de hueso en una lesión apical, va a depender de la eliminación oportuna de los patógenos, la habilidad del operador, la capacidad de cicatrización y la respuesta regenerativa del periodonto^(7, 8).

La prevalencia de bacterias en infecciones endodónticas primarias, según estudios actuales han sugerido que en el 95% de estas infecciones están presentes los Bacteroides, entre los que se encuentran los conocidos *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythensis*. En un 90% de las infecciones se encuentran las Espiroquetas que corresponden a *Traponema denticola* y *Treponema médium*. En un 80% el grupo Firmicus donde se encuentran *Streptococcus oralis*, *mitis*, *sanguis*, *mutans* y *sobrinus*, *Enterococcus faecalis* y *Staphilococcus aureus*. En un 47% de las infecciones se han aislado las Proteobacterias, tales como, *Escherichia coli*, y *agreggatibacter actinomycetemcomitans* (antes *Actinobacillus actinomycetemcomitans*). En un 40% el grupo Actinobacteria, como el más significativo, *Actinomyces israeli*; y por ultimo en un 24% las Fusobacterias, el más conocido la *Fusobacterium nucleatum*^(9, 10, 11). Frecuentemente esta lista taxonómica de microorganismos cambia con el tiempo renombrando los ya existentes, o porque se encuentran nuevos microorganismos en los estudios organizados.

La tecnología de hoy en día permite el cultivo de más bacterias, no solamente en el área de microbiología oral sino también en medicina, siendo la gastroenterología un claro ejemplo de los grandes avances en los estudios moleculares y la importancia de los microorganismos y su participación en los ciclos de salud y enfermedad del paciente. En odontología el avance ha sido igual de exitoso cultivándose alrededor de 800 tipos de bacterias en estudios *in-vitro*, pero realizando un análisis sobre los estudios microbiológicos han demostrado que cada individuo presenta aproximadamente 100 a 200 de las 800 bacterias encontradas en la cavidad oral, lo que refleja una cierta variedad entre un individuo y otro⁽¹²⁾. Estudios actuales sobre microbiología endodóntica han aislado otros grupos de bacterias que hacen parte de las infecciones endodónticas primarias: Sinergistas, como el clon BA121 y el clon W090, las proteobacterias, como la *Eikenella Corrodens* y la *Campylobacter Rectus*, las

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

TM7 como el clon I025, y las SR1 como el clon X112 ^(11, 13). En el mismo estudio de Rolph H.J y Siqueira Jr, detectaron microorganismos predominantes de las diferentes infecciones endodónticas, llegando a la conclusión que las bacterias: *Fusobacterium Nucleatum*, *Treponema Denticola* y los sinergistas clon BA11 son prevalentes en la infecciones endodónticas primarias.

Cuando un paciente tiene una infección endodóntica puede presentar o no dolor, esta situación clínica se ha estudiado a profundidad y ha mostrado que las bacterias son las responsables de esto y que dependiendo del tipo de especie que allí habite la infección será, o no sintomática, en el estudio realizado con 186 clones se clasificaron 42 tipos de bacterias, donde solo 23 eran cultivables (55%) y solo 7 se relacionaron con infecciones de tipo endodóntico, las de tipo sintomático se encontraron *F. nucleatum tipo 2*, *Prevotella intermedia*, *Dialister pneumosintes* y algunos filotipos, por lo que se deben realizar más estudios y esperar que con el tiempo se desarrollen nuevas técnicas de cultivo y clasificación para completar este estudio ^(14,15).

La infección endodóntica secundaria, persistente o de postratamiento se presenta cuando luego de realizar un tratamiento endodóntico convencional, este se contamina y falla, dando lugar a una lesión perirradicular ⁽¹⁰⁾. La causa principal de esta colonización y posterior infección es principalmente una restauración defectuosa, generando una microfiltración seguido de la contaminación del conducto y de todos sus componentes allí presentes, por otra parte, un protocolo deficiente de desinfección puede generar recidivas y falla endodóntica ^(10, 16, 17). La formación de los biofilm en infecciones endodónticas comparten características clínicas similares, es decir, se desarrollan bajo los mismos parámetros biológicos, sobre superficies o tejido muerto. El desarrollo de las infecciones secundarias es complejo, ya que las endotoxinas de las bacterias son las principales causantes de dicha infección, inhibiendo la quimiotaxis y fagocitosis, favoreciendo la producción de enzimas lisosómicas que hacen parte de la respuesta natural del sistema de defensa, dando como resultado la permanencia de lesiones periapicales que no sólo pueden estar ligadas al ápice, sino también en conductos laterales y túbulos dentinales. Estas bacterias extrarradiculares forman colonias rodeadas por un material extracelular (glucocálix), patrones biológicos similares en la formación de un biofilm, solo que la respuesta inmunológica ante dicha agregación es diferente por las bacterias y sus productos colaterales ^(18, 19).

Las bacterias presentes en infecciones secundarias al momento de la obturación y retratamiento son: *Propionibacterium Acnes*, *P. Propionicum*, *Actynomices Naeslundii*, *Actynomices Odontoiyticus*, *P. intermedia*, *Anaerococcus Prevotii*, *E. Fecalis*, *S. mitis*, *F. nucleatum*, *Eggerthela lenta*, *G. morbillorum*, *P.micra*, *S. anginosus*, *P. alactolyticus* y *C. albicans* ^(11, 13).

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

A pesar de que el patrón biológico de la formación biofilm es similar para ambos tipos de infección endodóntica cada una tiene características propias. Las infecciones endodónticas primarias presentan varios estadios, donde cada uno de ellos es dominado por diferentes especies bacterianas, pero si se deja un largo tiempo el conducto radicular séptico, habrá un cambio al interior del conducto; disponibilidad de nutrición, nivel de oxígeno y ph, que junto con los nutrientes exógenos (carbohidratos) van a afectar directamente la ecología microbiana que se encuentra en la pulpa infectada, este cambio hará que el medio interno sea dominado por un selecto grupo bacteriano, ya que los principales nutrientes se encuentran en el centro del conducto que contienen sustancias endógenas (proteínas y glicoproteínas) vitales para la formación de un biofilm maduro ⁽⁷⁾; por otra parte, las infecciones endodónticas secundarias, por infección intrarradicular, reacción alérgica del huésped, quistes, restauración desadaptada, o una cicatrización por tejido fibroso, van a presentar una colonización bacteriana por el oxígeno, que media el proceso de formación de biofilm ya que las únicos microorganismos capaces de sobrevivir en un ambiente hipóxico son bacterias Gram positivas facultativas y anaerobios estrictos, teniendo en cuenta que el *E. fecalis* es el más importante de este grupo, es el causante principal de estas infecciones de postratamiento ⁽²⁰⁾.

El *E. fecalis* es un anaerobio facultativo, coco gram positivo, que hace parte de la microflora normal de la cavidad oral y gastrointestinal, esta bacteria predomina en casos de fracaso endodóntico, infecciones postratamiento y ocasionalmente en infecciones endodónticas primarias ^(21, 22), con la capacidad de colonizar conductos radiculares sin la ayuda de otras bacterias ya que presenta ciertas características que le permiten ser un microorganismo independiente y altamente patógeno. Estas características son: la sustancia agregatoria, es una feromona que sirve como intermediario para el intercambio de plásmidos; las adhesinas superficiales que son proteínas de alto peso molecular que han sido detectadas en pacientes con endocarditis infecciosa e importantes en la fijación primaria del enterococcus en la formación del biofilm; feromonas sexuales, gelatinasa, hialurodinasa, citolisina, ácido lipoteicoico y producción extracelular de superóxido el cual es un radical libre de oxígeno altamente reactivo, involucrado en el daño tisular y una gran variedad de desordenes celulares, incluyendo enfermedades inflamatorias ^(18, 23).

El AS-48 es un plásmido que codifica una proteína antibiótica que fue aislado inicialmente en el *E. fecalis* y se demostró que tiene una actividad lítica hacia una amplia gama de bacterias gram positivas y negativas, lo cual permite explicar en parte por qué, este microorganismo es dominante en la infecciones endodónticas secundarias, suprimiendo así el crecimiento de otras especies bacterianas ^(23, 24).

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Según algunos estudios el *E. Fecalis* puede ser eliminado con hipoclorito de sodio al 2.5% e hidróxido de calcio, pero no está totalmente demostrado *in vivo* que eliminen la cantidad total de este microorganismo, incluso medicamentos de uso común en odontología presentan este problema de resistencia bacteriana ^(25, 26); otros estudios *in vivo e in vitro* que se realizaron con el fin de probar la eficacia del hidróxido de calcio, paramonoclorofenol canforado, fenol canforado, combinaciones de esteroides-antibióticos y compuestos de yodina, en la eliminación de bacterias se encontró *que el E. fecalis* ⁽²⁷⁾ ante el hidróxido de calcio es la más resistente (después de la *candida albicans*), aunque estudios ⁽²⁸⁾ dicen que de 6 a 10 minutos de hidróxido de calcio puede ser erradicada, pero experimentos clínicos *in Vitro* ^(29, 30) demostraron que usando bloques de dentina inoculados con *E. fecalis*, es difícil de erradicar pero no imposible.

El NaOCl es efectivo en su erradicación, sin embargo un estudio reciente ⁽³¹⁾ *in vivo* indica que a pesar de su efectividad, la bacteria persiste en el canal radicular y solo sería erradicado por el NaOCl si se irriga en los primeros 30 minutos de incubación de la bacteria (lo cual es imposible ya que no tenemos signos, síntomas o un sistema que nos pueda decir en que estado de crecimiento se encuentra la cepa bacteriana), este mismo autor realiza un experimento tomando 2 muestras: en la primera, se realiza la erradicación de restos pulpares con instrumental endodóntico. La segunda toma se realiza con instrumentación e irrigante: limas Hedstroem, NaOCl al 2.5% y EDTA al 17% respectivamente, tomándose la muestra con puntas de papel. Después del análisis, tomando como referencia *The CFU counts* (Unidad formadora de colonias) mostraron que en la segunda muestra solo se mantuvo 1% por debajo del porcentaje de la primera muestra (donde 6 de 21 contenían *E. fecalis*); pero estudios realizados en pulpas necróticas de dientes jóvenes y adultos, encontraron que la combinación de EDTA al 17% mas NaOCl al 2,5%, reducen significativamente el biofilm de los conductos radiculares ⁽³²⁾.

El MTAD es una combinación de tetraciclina, ácido y detergente, que puede ser utilizado solo o en compañía del NaOCl. Estudios experimentales en superficies dentinales infectadas han demostrado que puede erradicar (junto con el NaOCl) bacterias como el *E. fecalis* ^(33, 34).

La clorhexidina actúa como bactericida en adecuadas concentraciones, es efectivo contra bacterias gram negativas como gram positivas, y ha sido demostrado que 30 segundos fueron requeridos para eliminar al *E. fecalis* completamente, con 0.2% de clorhexidina mezclado con agua destilada, comparado con los 5 minutos o más de el NaOCl en concentraciones por debajo 5.25% evitando así las infecciones secundarias ⁽³⁵⁾. Pero estudios recientes ^(36, 37) demostraron que con concentraciones incluso del

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

2,5% de clorhexidina no hay una modificación significativa en la membrana celular del *E. faecalis* y que definitivamente el NaOCl en concentraciones superiores al 1% son suficientes para erradicar la mayoría de bacterias embebidas en un biofilm.

Biofilm

Definido como una o más comunidades de microorganismos embebidos en una matriz extracelular llamada glucocálix que se adhieren a la superficie dental o de cualquier otra ⁽³⁸⁾. Antes de este agrupamiento en biofilms, las bacterias se encuentran flotando libremente en saliva o fluido crevicular y son llamadas microorganismos planctónicos ^(7, 18), estas sirven como recurso primario para la formación de un biofilm específico ya que la excreción de sustancias adhesivas como polisacáridos y proteínas es crucial para la unión inicial de microorganismos, y así, estos microorganismos colonizan la superficie para formar una estructura compleja, la cual por sí sola va a proveer de protección y le va a permitir resistencia a influencias externas adversas comparándolo en su estado planctónico ^(7, 39, 40).

Cuando la bacteria interactúa con diversos factores ambientales como disminución o aumento de la disponibilidad de nutrientes y de hierro, cambios de la osmolaridad, el pH, la tensión de oxígeno y la temperatura, conlleva al paso de una forma planctónica, a una forma aglomerada, donde la actividad, organización y colonización bacteriana, es dependiente del ambiente donde se desarrolla ya que la transición de una forma planctónica a biofilm varía de un microorganismo a otro ^(7, 39, 40).

Los microorganismos pueden presentarse en dos formas diferentes: planctónica independiente, o hacer parte integral de un sistema biológico con un alto nivel de organización, formando estructuras coordinadas y comunidades funcionales, muchas de estas juegan un papel importante en la infección; entender el comportamiento del biofilm permitirá un mejor manejo de las patologías que causa, así como la implementación de medidas que conduzcan a su prevención y a la generación de medicamentos para su tratamiento ^(7, 18, 41). Las causas de la formación del biofilm se dan porque el medio ambiente oral es propenso a este tipo de aglomeraciones, ya que la capa adquirida de saliva del huésped (glucoproteínas), la dieta, y el hecho de que en el medio oral hay una flora normal de bacterias, son condiciones necesarias y suficientes para la colonización y posterior formación del biofilm, que no solo se concentra en la superficie dental sino también en las paredes de los conductos radiculares ^(7, 18). Si se permite el avance de esta formación de microorganismos las consecuencias no solo será la caries y enfermedad periodontal, sino también, los

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

problemas pulpaes como las infecciones endodónticas que aparecen en el diente necrótico, generando así lesiones perirradiculares ^(41, 42, 43, 44).

La estructura, organización, composición y actividad celular de los biofilm dependiendo del sistema biológico donde se desarrollen serán diferentes, pero, su formación o adhesión a la superficie será básicamente la misma, aposición de una película acondicionadora o adquirida, adhesión y colonización de microorganismos planctónicos en una matriz polimérica, co-adhesión de otros microorganismos y desagregación de microorganismos del biofilm ⁽⁷⁾. La etapa temprana o inicial en la formación del biofilm implica la adsorción de macromoléculas en la superficie previamente acondicionada por los microorganismos planctónicos, donde se dará una unión reversible, para después realizar una unión irreversible; el acondicionador de superficie es un substrato formado por proteínas y glicoproteínas de la saliva y fluido crevicular, al cual se unirá un selecto grupo de microorganismos sensibles a los componentes bioquímicos de la superficie, llamados colonizadores iniciales ⁽²⁶⁾. La segunda etapa, en el cual la unión de los colonizadores iniciales ya adheridos es fuerte, se produce un proceso en el cual uniones activas como los pili sexual, flagelos, fimbrias etc. promueven la co-adhesión de diferentes especies bacterianas, siendo los primeros, cruciales en esta etapa. La tercera etapa es el metabolismo y replicación celular, que da como resultado el éxito de dicha estructura formada por diferentes especies bacterianas, que con sus características innatas van a hacer parte de un complejo altamente patógeno y resistente ^(7, 45). En esta misma etapa se produce la disgregación celular donde las bacterias del biofilm empiezan un proceso de desprendimiento por enzimas que ellas mismas producen para la colonización de otras zonas de la superficie. En estudios actuales sobre biofilm se dice que no es claro este proceso y solo se “piensa que” o “se cree que”, por tanto debe ser reevaluado e investigado ^(7, 45, 46).

En salud, se presenta un equilibrio ecológico entre el huésped y el microorganismo (simbiosis), ya que el biofilm hace parte de los mecanismos naturales de defensa del huésped, previniendo la aparición de microorganismos oportunistas que generan una infección real y haya un desbalance en la homeostasis normal, siendo irónicamente el principal factor etiológico asociado a la caries dental y periodontitis ⁽⁴⁷⁾. El estudio y entendimiento de la microbiología humana ha sido reevaluado en los últimos años, ya que a pesar de provenir de un mismo hábitat e incluso de una misma familia se ha encontrado, que la microflora de cada individuo es tan única como la huella digital, estudios más específicos han mostrado que los microorganismos, co-existen e interrelacionan con su huésped, beneficiándose mutuamente, manteniendo la salud del huésped ⁽²⁰⁾.

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Los agentes antimicrobianos han sido optimizados y desarrollados para que tengan una actividad en contra del crecimiento bacteriano, sin embargo, se ha demostrado que las bacterias de en un biofilm, son más resistentes que las planctónicas confirmando así la dificultad de erradicar un biofilm maduro ⁽⁷⁾; se ha encontrado que son resistentes a la amoxicilina, doxiciclina y metronidazol, ya que el biofilm se encuentra embebido dentro de una matriz polimérica (glucocálix) que puede restringir la penetración del agente dentro de este, siendo así inactivado ⁽⁷⁾; la tasa de crecimiento del biofilm es lento y esto hace que las bacterias sean más resistentes que las que se dividen rápidamente, ya que éstas, utilizan mecanismos para protegerse de medios externos ⁽⁷⁾. Los microorganismos que se encuentran embebidos en el biofilm forman diferentes estructuras tridimensionales, que son unos canales para el transporte de sustancias, productos de desecho y señales moleculares. La matriz que sostiene el biofilm es una estructura compuesta por polisacáridos, proteínas y DNA, que excreta cada célula ⁽⁴⁶⁾, recientemente se ha descubierto que ciertos microorganismos mantienen la estructura tridimensional del biofilm, excretando moléculas de surfactante, previniendo que otras especies obstruyan el sistema de canales, y las que carecen de este sistema, no tienen la arquitectura necesaria para brindarle estabilidad funcional al biofilm ⁽⁴⁸⁾.

Cuando están en comunidad pueden degradar moléculas más complejas ayudándose entre sí con proteasas, peptidasas y glucosidasas que unas poseen y otras no. Esta es una gran ventaja porque cuando están en su forma planctónica no hay una gran variedad de bacterias; éstas, toman como principal fuente nutritiva las glucoproteínas, proteínas de la saliva y fluido crevicular ⁽⁷⁾, las bacterias de los conductos radiculares como *S. gordonii*, *S. Mitis*, *Porfiromona gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, utilizan mecanismos específicos, como la “comunicación química” (quórum sensing) para aumentar y optimizar sus propiedades fenotípicas ⁽⁷⁾. El quorum sensing es una vía por el cual, una célula responde a señales producidas por las mismas células que se encuentran en el biofilm y son dependientes de la densidad celular ^(49, 50), este sistema se encuentra tanto en las bacterias Gram positivas como Gram negativas, funcionando como señales moleculares llamadas autoinductores, que son producidas a nivel basal del biofilm; el quorum sensing de bacterias Gram positivas utilizan señales oligopeptídicas las cuales son procesadas y llevadas al exterior de la célula por transportadores ABC en la membrana celular, cuando es alcanzado cierto nivel de péptidos extracelulares, estos se unen a la histidina kinasa (receptor extracelular) que se encuentra en la membrana celular de la célula receptora, el resultado de esta unión es la autofosforilación de la histidina en histidina fosfotransferasa, el fósforo es transferido al RR (regulador de la respuesta) el cual se

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

une al DNA, modificando la expresión génica de este microorganismo. En las bacterias Gram negativas las señales moleculares provienen de otras células, y cuando son captadas atraviesan la membrana sin necesidad de receptores extracelulares ya que son intracelulares.

Cuando hay suficientes señales dentro de la célula, estas se unen a un activador llamado "activador transcripcional" formando un complejo señal-activador transcripcional que se une al DNA y altera la expresión genética ^(46, 50).

¿Entonces de qué les sirve a las bacterias comunicarse mediante el Quorum-Sensing? Las bacterias presentes en las infecciones endodónticas tienen ciertas propiedades fenotípicas que hacen que tengan ventajas sobre otras bacterias, estas diferencias hacen que se comuniquen entre sí intercambiando información de una a otra, mejorando sus propiedades fenotípicas como la virulencia, capacidad de formar colonias, interacción con especies bacterianas diferentes etc. pero solo cuando se encuentran en biofilms, siendo así las más características: *S. gordonii*, *S. mitis*, *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia* ^(7, 50).

Los plásmidos son otra forma de comunicación celular donde las bacterias intercambian material genético (no señales celulares como el quorum sensing) mediante varios métodos, uno de ellos es producir péptidos llamados feromonas sexuales (*E. fecalis*) las cuales son excretadas por la célula "portadora" que serán captados por la célula "receptora", para activar el sistema y así hacer el intercambio genético llamado también transferencia de plásmidos mediado por feromonas. La otra manera de transferir material genético es por medio de "genes saltadores" donde segmentos de DNA tienen la capacidad para moverse de un sitio a otro sin la necesidad de activar o enviar señales celulares. La conjugación es el sistema de transferencia genética más eficiente porque el DNA que se excreta es pasado a la otra célula por un método llamado "célula a célula" donde estas contactan y hay un paso unilateral de material genético, incluso entre bacterias de diferentes especies, siendo los bacterioides predominantes en el uso de la conjugación (95% de las bacterias en las infecciones endodónticas) ⁽⁵¹⁾.

Desde el descubrimiento de los microorganismos patógenos como causantes directos de las infecciones, se han estado creando técnicas químicas y/o mecánicas para eliminar las bacterias que están aglomeradas sobre cierta superficie, en odontología, se han utilizado infinidad de terapias farmacológicas para remover ese biofilm encontrando muchas veces que, el irrigante o medicamento utilizado es resistente a las bacterias presentes en las infecciones. Muchas teorías han surgido sobre los métodos que utiliza la bacteria para resistir o evadir ciertos medicamentos e irrigantes; tradicionalmente en el área de la microbiología se estudian los microorganismos de

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

una manera equivocada, ya que al probar la eficacia de un medicamento no va a arrojar los mismos resultados cuando una bacteria se encuentra en su forma planctónica a cuando se encuentra en biofilm, por ello, todas las conclusiones sobre estos estudios deben ser reevaluados ^(46, 52).

Definitivamente los biofilm son comunidades complejas, en su eliminación y entendimiento de sus propiedades patógenas, estos microorganismos a pesar de su alto impacto en el desarrollo fisiológico de la infección, juegan un rol importante en la homeostasis de la cavidad oral, y que su estudio debe estar no solo enfocado al proceso de enfermedad, sino también, al proceso de equilibrio y protección de microorganismos oportunistas.

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Conclusiones

A pesar del gran efecto que causan los antimicrobianos en el biofilm, se ha comprobado que los niveles de concentración necesarios para eliminar el biofilm pueden llegar a ser tóxicos para el paciente, y a pesar que la tecnología nos ha permitido detectar varios niveles de bacterias, se creía que se disponía de sistemas y medios para combatirlos por completo, pero hoy en día se ha comprobado que siempre quedan algunos y aunque sean pocos, las bacterias solo necesitan un tanto de humedad para iniciar una proliferación gracias al ambiente y los nutrientes brindados.

Es necesario seguir un protocolo de desinfección de conductos adecuado y de aislamiento del campo operatorio para prevenir fracaso endodóntico, los irrigantes y sus combinaciones son importantes para una desinfección real y completa, sustentado por artículos científicos.

El biofilm es un tema relativamente nuevo en endodoncia, y ha revolucionado esta ciencia para beneficio del ser humano, ha tenido una amplia aplicación clínica y gracias a esto se han desarrollado nuevas tecnologías para el control de la infección, los investigadores de todo el mundo han brindado su conocimiento y habilidades para entender mejor este tema complejo, que deja al final del camino solo mas preguntas esperando ser resueltas por los nuevos profesionales de la microbiología y la endodoncia.

1. Odontólogo Endodncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

Bibliografía

1. Echeverri Escobar, J. "Manual de microbiología general y oral" Instituto de ciencias de la salud. CES 2002.
2. Liébana Urueña, J. "Microbiología oral" Ed. McGraw-Hill interamericana 2000.
3. Koch A. "Bacterial wall as a target for attack: past, present, and future research" Clin Microbiol Rev 2003; 16(4): 673-87
4. Carlone G, Valadez M, Pickett J. "Methods for distinguishing gram positive from gram negative bacteria" Journal of clinical microbiology 1983; 16(6): 1157-1159
5. Halebian S, Harris B, Finegold S, Rolfe R. "Rapid method that aids in distinguishing gram positive from gram negative anaerobic bacteria" Journal of clinical microbiology 1981; 16(6): 441-448
6. Eftimiadi C, Stashenko P, Tonetti M, *et al.* "Divergent effect of the anaerobic bacteria by-product butyric acid on the immune response: suppression of T-lymphocyte proliferation and stimulation of interleukin 1 beta production" Oral micribiol immunol 1991; 6: 17
7. Svensater G, Bergenholtz G. "Biofilms in endodontic infections" Endodontic topics 2004; 9: 27-36.
8. Nair P.N.R. "On the causes of persistent apical periodontitis: a review" International Endodontic Journal 2006; 39: 249-281
9. Siqueira J. "Taxonomic Changes of Bacteria Associated with Endodontic Infections" Journal of endodontics 2003; 29(10): 1-5
10. Noguchi N, Noiri Y, Narimatsu M, Ebisu. "Identification and localization of extraradicular biofilm-forming bacteria associated with refractory endodontic pathogens" Appl Environ Microbiol 2005; 71(12): 8738-8743

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

11. Rolph H.J, Lennon A, Riggio M.P, Sanders W.P, MacKenzie D, Coldero L, Bagg J. "Molecular identification of microorganism from endodontic infections" J. Clin. Microbiol 2001; 39(9): 3282-3289
12. Tronstad L, Sunde P.T. "the evolving new understanding of endodontic infections" Endodontics topics 2003; 6: 57-77
13. Siqueira Jr. J.F, Rocas I.N."Diversity of endodontic microbiota revisited" J Dent Res 2009; 88(11): 969-981
14. Sakamoto M, Rocas I.N, Siqueira J.F Jr, Benno Y. "Molecular analysis of bacteria in asymptomatic endodontic infections" Oral microb and immunology 2006; 21: 112-122
15. Sassone L, Fidel R, Faveri M, Guerra R, Figueiredo L, Fidel S, Feres M. "A microbiological profile of symptomatic teeth with primary endodontic infections" J Endod 2008; 34: 541-545
16. Siqueira J.F Jr, Rocas I.N."Uncultivated phylotypes and newly named species associated primary and persistent endodontic infections" J of Clinical Microb 2005; 43(7): 3314-3319
17. Chávez de Paz L. "Microbiología endodóntica: últimos avances" Revista Estomatológica Visión Dental 2006; 9(3): 79-96.
18. Duggan JM, Sedgley CM. "Biofilm Formation of Oral and Endodontic-Enterococcus faecalis" Joe 2007; 33(7): 815-818
19. Liu H, Wei X, Ling J, Wang W, Huang X. "Biofilm formation capability of enterococcus faecalis cells in starvation phase and its susceptibility to sodium hypochlorite" JOE 2010; 36(4): 630-635
20. Sundqvist G, Figdor D. "Life as an endodontic pathogen" Endodontic topics 2003; 6: 3-28
21. Ozbek S, Ozbek A, Erdogan A. "Analysis of enterococcus faecalis in samples from Turkish patients with primary endodontic infections and failed endodontic

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

- treatment by real-time PCR SYBR green method” J Appl Oral Sci. 2009; 17(5): 370-4
22. Pardi G, Gulilarte C, Cardozo I, Briceño E. “Detección de enterococcus faecalis en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico” Acta odontológica Venezolana 2008; 47(1): 1-11
 23. Kayaoglu G, Ørstavik D. “Virulence factors of Enterococcus Faecalis: Relationship to endodontic disease” Crit Rev Oral Biol Med 2004; 15(5): 308-320
 24. Chavez de Paz L. “Gram-positive organisms in endodontic infections” Endodontic topics 2004; 9: 79-96.
 25. Portenier I, Waltimo TM, Haapasalo MP. “Enterococcus fecalis – the root canal survivor and ‘star’ in posttreatment disease” Endodontic topics 2003; 6: 135-159.
 26. Haffajee A.D, Socransky S.S, Oppenheim F.G, Helmerhorst E.J, Leone C.W, Troxler R.F, Yaskell T. “Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm” Journal of applied Microbiology 2004; 97: 1311-1318
 27. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. “The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals”. Endod Dent Traumatol 1985; 1: 170–175.
 28. Waltimo TM, Sire´n EK, Ørstavik D, Haapasalo MP.”Susceptibility of oral Candida species to calcium hydroxide in vitro”. Int Endod J 1999; 32: 94–98.
 29. Haapasalo M, Ørstavik D. “In vitro infection and disinfection of dentinal tubules”. J Dent Res 1987; 66: 1375–1379.
 30. Safavi KE, Spangberg LS, Langeland K. “Root canal dentinal tubule disinfection”. J Endod 1990; 16: 207–210.

31. Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. "Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis". *Int Endod J* 2001; 34: 429–434.
32. Ozgur H, Dogan H, Calt S, Stabholz A, Steinberg D. "Effect of ethylenediaminetetraacetic acid and sodium hypochlorite irrigation on enterococcus faecalis biofilm colonization in young and old human root canal dentin: in vitro study" *JOE* 2010; 36(5); 842-846
33. Shabahang S, Torabinejad M. "Effect of MTAD on Enterococcus faecalis-contaminated root canals of extracted human teeth". *J Endod* 2003; 29: 576–579.
34. Shabahang S, Pouresmail M, Torabinejad M. "In vitro antimicrobial efficacy of MTAD and sodium hypochlorite". *J Endod* 2003; 29: 450–452.
35. Gomes BP, Ferraz CC, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. "In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of Enterococcus faecalis". *Int Endod J* 2001; 34: 424–428.
36. Chavez de Paz L, Bergenholtz G, Svensater G. "the effects of antimicrobials on endodontic biofilm bacteria" *J Endod* 2010; 36: 70-77
37. Estrela C, Silva J, Alencar A.E, Leles C, Decursio D. "Efficacy of sodium hypochlorite and chlorhexidine against enterococcus faecalis – A systematic review" *J Appl Oral Sci.* 2008; 16(6): 364-8
38. Socransky S.S, Haffajee A.D. "Dental biofilms: difficult Therapeutic Targets" *Periodontology* 2000, 2002; 28: 12-55
39. Khemaleellakul S, Baumgartner J.C, Pruksakom S. "Autoaggregation and coaggregation of bacteria associated with acute endodontic infections" *JOE* 2006; 32(4): 312-318

40. Chavez de Paz L, Bergenholtz G, Dahlen G, Svensater G. "Response to alkaline stress by root canal bacteria in biofilms " *International Endodontic Journal* 2007; 40: 344-355
41. Viviani M. "Patología periapical: Estructura del biofilm" *Electronic J. of Endodon.* 2008; 1: 67-68
42. Estrela C, Sydney G, Figueiredo J, Estrela C.R."A model system to study antimicrobial strategies in endodontic biofilms" *J Appl Oral Sci* 2009; 17(2): 87-91
43. Haffajee A.D, Socransky S.S, Song X, Patel M.R, Teles R.P, Veiga N. "Factors affecting supragingival biofilm composition. I. Plaque mass" *J. Periodontal Res.* 2009; 44(4): 511-519
44. Haffajee A.D, Socransky S.S, Song X, Patel M.R, Teles R.P, Veiga N. "Factors affecting supragingival biofilm composition. II. Tooth Position" *J. Periodontal Res.* 2009; 44(4): 520-528
45. Nazar J. "Biofilms bacterianos" *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* 2007; 67: 61-72
46. Petersen FC, Schele AA."The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral disease" *Crit rev oral biol med* 2004; 15(1): 4-12.
47. Filoche L., Wong L, Sissons C.H."Oral biofilms: Emerging concepts in microbial ecology" *J Dent Res* 2010; 89(1): 8-18
48. Sutherland IW . "Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework." *Microbiology* 2001; 147:3-9.
49. Dunny GM, Leonard BA. "Cell-cell communication in Grampositive bacteria." *Annu Rev Microbiol* 1997; 51: 527-564.
50. Reading N, Sperandio V. "Quorum sensing: the many languages of bacteria" *FEMS microbiol lett* 2006; 254: 1-11

1. Odontólogo Endodoncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES

51. Sedgley C, Clewell DB. "Bacterial plasmids in the oral and endodontic microflora" Endodontic topics 2004; 9: 37-51

52. Siqueira Jr, J.F. "Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail" International Endodontic Journal 2001; 34: 1-10

1. Odontólogo Endodncista, Profesor titular Universidad CES
2. Estudiantes pregrado Odontología Universidad CES