

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
UNIDAD DE POSTGRADO**



**MICROBIOTA DEL CONDUCTO RADICULAR EN  
PIEZAS CON Y SIN PATOLOGÍA PERIAPICAL  
“REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA”**

**POSTULANTE: Dr. Marcelo Angelo Jaimes Cadena**

**TUTORES:**

**Dr. Esp. Miguel Angel Silva Morales**

**Dr. MSc. Esp. Ebingen Villavicencio Caparó**

**Dra. Esp. Carla Alejandra Miranda Miranda**

Trabajo de Grado presentado para optar al título de  
Especialista en Endodoncia

La Paz, Bolivia  
2022

Para Aniah y Sarah:

Verlas correr hacia mí cuando llego,  
escuchar sus risas y sentir esas manitos abrazándome,  
es la mejor recompensa a mis jornadas.  
Aprendo de ustedes día a día.

El Autor está muy agradecido con:

Dios, por la misericordia que nos muestra al despertar cada día.

Soledad Luque, mi amiga, mi cómplice, mi compañera, mi amante, el amor de mi vida. Gracias por comprenderme, amarme y perdonar mis errores.

Mi mamá Hortencia y mi hermano Marlon, por el ejemplo que me dieron toda la vida.

Al Dr. Miguel Ángel Silva Morales, mi Maestro y Tutor temático. Mi admiración y respeto hacia su persona iniciaron en pregrado cuando veía su dedicación, compañerismo y entrega a la carrera. Hoy veo los frutos de ese esfuerzo plasmados en su profesionalismo.

Al Dr. Ebingen Villavicencio Caparó. Nunca olvidare que a las 2:00 a.m. seguía revisando nuestros trabajos. Gracias por entregarnos ese tiempo que le pertenecía a su familia.

A la Dra. Carla Alejandra Miranda Miranda, en pregrado aprendí mucho de usted. Ahora culminando mi especialidad, sigue enseñándome tanto. Gracias por las horas que dedicó en la revisión de esta entrega.

A la Dra. Clementine Denisse Claire Venegas, ojalá hubiera realizado la especialidad bajo su coordinación, gracias por su dedicación. La admiro.

A mi Alma Máter, "UMSA, la mejor". Cada que paseo por esos pasillos llegan a mi mente recuerdos de la mejor etapa de mi vida.

Dr. Marcelo Angelo Jaimes Cadena

## Índice General

<b>Resumen .....</b>	<b>vi</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>vii</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo 1 .....</b>	<b>2</b>
<b>Planteamiento teórico .....</b>	<b>2</b>
<i>1 Antecedentes de la investigación.....</i>	<i>2</i>
<i>2 Justificación .....</i>	<i>9</i>
2.1 Relevancia Científica .....	10
2.2 Relevancia Social .....	10
2.3 Relevancia Humana.....	10
2.4 Originalidad del Estudio .....	11
2.5 Interés Personal.....	11
2.6 Viabilidad .....	11
2.7 Actualidad .....	11
2.8 Contribución Académica .....	11
<i>3 Planteamiento del problema .....</i>	<i>12</i>
3.1 Formulación del Problema .....	13
<i>4 Objetivos.....</i>	<i>13</i>
4.1 Objetivo General .....	13
4.2 Objetivos Específicos.....	13
<i>5 Diseño Metodológico .....</i>	<i>13</i>
5.1 Recolección de Datos .....	14
5.2 Criterios de Hallazgos .....	15

5.3 Procedimiento de Análisis de Datos.....	17
<b>Capítulo 2 .....</b>	<b>18</b>
<b>Estado del Arte .....</b>	<b>18</b>
<i>Historia .....</i>	<i>18</i>
<i>Infección Endodóntica.....</i>	<i>20</i>
<i>Tipos de Infección endodóntica .....</i>	<i>22</i>
<i>Diversidad de la Microbiota Endodóntica .....</i>	<i>22</i>
<i>Patología endodóntica .....</i>	<i>24</i>
<i>Biopelícula .....</i>	<i>25</i>
<i>Patología endodóntica .....</i>	<i>29</i>
<i>Métodos de Identificación Microbiana .....</i>	<i>30</i>
Fenotípica.....	30
Molecular .....	31
Proteómica.....	32
<i>Estudio Molecular rRNA 16S .....</i>	<i>32</i>
<i>Microbiota del conducto radicular y tejidos periapicales .....</i>	<i>35</i>
<b>Discusión .....</b>	<b>60</b>
<b>Conclusión .....</b>	<b>64</b>
<b>Referencias Bibliográficas .....</b>	<b>69</b>

## Índice de tablas

Tabla 1. Brito, L. 2007; Uso de la amplificación por desplazamiento múltiple y la hibridación ADN-ADN en tablero de ajedrez para examinar la microbiota de las infecciones endodónticas(21). .....	79
Tabla 2. Sakamoto, M. 2009; Diversidad de espiroquetas en las infecciones endodónticas(41). .....	80
Tabla 3. Santos, Adriana L. 2011; Comparación de la diversidad bacteriana de las infecciones radiculares agudas y crónicas(22). .....	81
Tabla 4. Hsiao, WWL, 2012; Transformación microbiana de la microbiota oral normal en infecciones endodónticas agudas (31). .....	82
Tabla 5. Rôças, I. 2012; Caracterización de la microbiota de los dientes tratados con conductos radiculares con enfermedad post-tratamiento (24). .....	83
Tabla 6. Brito, LCN 2012; Perfil microbiológico de las infecciones endodónticas de pacientes VIH y VIH+ mediante amplificación por desplazamiento múltiple e hibridación ADN-ADN en damero (38). .....	84
Tabla 7. Dumani, A. 2012 ; Reacción en cadena de la polimerasa de enterococcus faecalis y candida albicans en la periodontitis apical de pacientes turcos (45). .....	85
Tabla 8. Nóbrega, L.M.M. 2013; Diversidad de Treponema en conductos radiculares con fracaso endodóntico (42). .....	86
Tabla 9. Anderson, Annette Carola 2013; Comparación de la composición y estructura bacteriana en infecciones endodónticas sintomáticas y asintomáticas asociadas a dientes rellenos de raíz mediante pirosecuenciación (23). .....	87
Tabla 10. Tzanetakis, Giorgos N. 2015; Comparación de la composición de la comunidad bacteriana de las infecciones endodónticas primarias y persistentes mediante pirosecuenciación (25). .....	88
Tabla 11. Henriques, LCF 2016; Análisis del ecosistema microbiano en las infecciones del canal radicular refractarias al tratamiento endodóntico(27).....	89

Tabla 12. Nôbrega, L. 2016; Diversidad bacteriana de la infección endodóntica primaria sintomática mediante análisis clonal(29). .....	90
Tabla 13. George, N. 2016; Especies de la microbiota oral en los abscesos endodónticos apicales agudos(32).....	91
Tabla 14. Nôbrega L 2016; Diversidad bacteriana de la infección endodóntica primaria sintomática mediante análisis clonal(33). .....	92
Tabla 15. Pourhajibagher, Maryam 2017; Enfoques dependientes del cultivo para explorar la prevalencia de los patógenos del conducto radicular de las infecciones endodónticas(36). .....	93
Tabla 16. Diesendorf, Nina 2017; Caracterización de Roseomonas mucosa aislada del conducto radicular de un diente infectado (40).....	94
Tabla 17. Persoon, I. 2017; El micobioma de las infecciones radiculares está correlacionado con el bacterioma(39). .....	95
Tabla 18. Bouillaguet, S. 2018; Microbiota radicular en la periodontitis apical primaria y secundaria(26). .....	96
Tabla 19. da Silva Rovai, E. 2019; Perfil microbiano y niveles de endotoxinas en lesiones periodontales primarias con afectación endodóntica secundaria(30). 97	
Tabla 20. Davanian, H. 2019; Células T invariantes asociadas a la mucosa y microbioma oral en la periodontitis apical persistente (cualitativo)(43).....	98
Tabla 21. Neves de Brito, Luciana Carla, 2020; Las comunidades microbianas del sistema radicular apical determinadas por la secuenciación de próxima generación(35).....	99
Tabla 22. Barbosa-Ribeiro, M. 2020; Investigación microbiológica en dientes con infección endodóntica persistente/secundaria en diferentes etapas del tratamiento del canal radicular(28).....	100
Tabla 23. Salas-López, E. 2020; Análisis de las comunidades bacterianas de dientes primarios infectados en una población mexicana(37). .....	101
Tabla 24. Manoharan, L. 2020; Nuevos conocimientos sobre los perfiles microbianos de los conductos radiculares infectados en dientes traumatizados(44). .....	102

Tabla 25. Lopes, E. 2021; Interrelación entre las comunidades microbianas de los conductos radiculares y las bolsas periodontales en las enfermedades combinadas de endodoncia y periodoncia(15). .....	103
Tabla 26. Korona-Glowniak, I. 2020; Patrones de la microbiota oral en pacientes con periodontitis apical(34). .....	105

## **Resumen**

Es importante para el odontólogo adquirir conocimiento acerca de los factores desencadenantes de las infecciones endodónticas. Para tal cometido hoy en día existen técnicas modernas para el reconocimiento de estos factores como los métodos moleculares, concretamente con el gen 16S, uno de los más utilizados actualmente para identificar la microbiota en estas patologías. El Objetivo es recolectar, seleccionar y evaluar de manera crítica la evidencia disponible en relación a la Microbiota del conducto radicular en piezas con y sin patología periapical. El presente trabajo de investigación es una revisión bibliográfica narrativa, que busca información en artículos de revista publicados desde el 2000 hasta el 2021. Como resultado la mayoría de los estudios concuerdan que los Phyllos encontrados como Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria, Synergistetes y Spirochaetes son comunes y abundantes en patologías endodónticas, pese a estos porcentajes elevados, ninguno de estos (de manera individual) determina la patología periapical, se trata más bien de verdaderos consorcios microbianos, que por su composición y sinergismo, determinan una virulencia comunitaria, dada posiblemente por sus componentes minoritarios. En conclusión, existen diversos estudios evaluados en pacientes tanto adultos como niños o en pacientes con patologías sistémicas importantes como VIH, inclusive estudios demarcados por región geográfica que buscan la identificación de los microorganismos causantes de patologías periapicales y no se puede llegar a una conclusión determinante, sobre el tipo de microorganismo predominante, se debe enfocar los estudios a comunidades bacterianas y su relación con el huésped.

**Palabras clave:** Microbiota, endodoncia, ARN Ribosómico 16S, Enfermedades Periapicales.

## **Abstract**

It is important for the dentist to acquire knowledge about the factors that trigger endodontic infections. For this purpose, nowadays there are modern techniques for the recognition of these factors such as molecular methods, specifically with the 16S gene, one of the most widely used nowadays to identify the microbiota in these pathologies. The objective is to collect, select and critically evaluate the available evidence in relation to root canal microbiota in teeth with and without periapical pathology. The present research work is a narrative literature review, which seeks information in journal articles published from 2000 to 2021. As a result, most of the studies agree that the Phyllos found as Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria, Synergistetes and Spirochaetes are common and abundant in endodontic pathologies, despite these high percentages, none of these (individually) determines periapical pathology, they are rather true microbial consortia, which by their composition and synergism, determine a community virulence, possibly given by their minority components. In conclusion, there are several studies evaluated in patients both adults and children or in patients with important systemic pathologies such as HIV, including studies demarcated by geographic region that seek to identify the microorganisms that cause periapical pathologies and it is not possible to reach a decisive conclusion on the type of predominant microorganism, studies should focus on bacterial communities and their relationship with the host.

**Keywords:** Microbiota, Endodontics, RNA, Ribosomal, 16S, Periapical Diseases.

## **Introducción**

La microbiología oral estudia de forma especial las bacterias, los hongos y los virus de la cavidad bucal, la respuesta de sus tejidos frente a los microorganismos, las relaciones que éstos establecen entre sí y con dicha cavidad, y las enfermedades infecciosas propias del ámbito odontológico. Las bacterias son seres procariotas, los hongos eucariotas, y los virus subcelulares; están incluidos, en función de sus relaciones filogenéticas, respectivamente en los imperios o dominios Bacteria, Eukarya y Viridae(1).

Hasta hace unos años un tropiezo que se tenía con la identificación de los microorganismos presentes en los conductos radiculares fue la técnica para realizar esta tarea, que se basaba en el cultivo de los mismos, motivo por el cual se conocían muy pocos micro organismos, en consecuencia, se tenía un concepto limitado sobre la interacción de los micro organismos que habitan en los conductos radiculares y sus tejidos circundantes. Hoy en día contamos con técnicas moleculares de secuenciación de ácidos nucleicos que lograron una identificación y clasificación más precisa de los mismos, además que estos métodos permitieron reconocer nuevas especies(2).

Por tanto, el presente trabajo responde a cuestionamientos actuales sobre los microorganismos presentes en el conducto radicular en piezas con y sin patología periapical ya que a la fecha no se tiene información actualizada en idioma español para lo cual se realizó una revisión bibliográfica narrativa exhaustiva en libros y artículos científicos sin limitación de idioma con el fin de determinar la microbiota en los conductos radiculares con y sin patología pulpar, de esta forma señalar los micro organismos patógenos determinantes en estas patologías, además aportar con conocimiento tanto a estudiantes de pregrado, postgrado y especialistas en endodoncia para que los mismos tengan herramientas cognitivas en el mejoramiento o implementación de nuevos protocolos que lleven a una resolución exitosa de sus casos.

## **Capítulo 1**

### **Planteamiento teórico**

#### **1 Antecedentes de la investigación**

Cuatro siglos después de las primeras observaciones que se realizaron en 1674 por Leeuwenhoek y que fueron recopiladas por Clifford, D. en 1932(3) en su obra "Antony van Leeuwenhoek y sus Animáculos", y un siglo después de la publicación "Introducción al estudio de la bacteriopatología de la pulpa dental" de Miller, W.(4), donde el autor confirma que existe una relación entre esos "animáculos" y la patología periapical, en un estudio realizado en 1976 por Sundqvist titulado "Estudios bacteriológicos de pulpas dentales necrosadas"(5) se utilizaron técnicas avanzadas de cultivo de microorganismos anaerobios, evaluando de esta forma las bacterias presentes en conductos radiculares con pulpas necróticas con lesiones periapicales, llegando a la conclusión que estos micro organismos aparecían solo en los dientes que presentaban signos radiográficos de periodontitis apical y los microorganismos anaerobios representaban el 90% de esta población. En el mismo estudio determinó también que una pulpa necrosada sin ser infectada no podría inducir por si sola una lesión periapical(5).

Con el pasar de los años los estudios de nuevos investigadores focalizan su atención, no en los micro organismos como entes unitarios capaces de iniciar una patología, más bien empiezan a estudiar un sorprendente micro ecosistema con una organización de supervivencia tan eficaz que lo hace resistente al medio ambiente, tal es el caso del estudio de Jhajharia, K. que en 2015 presenta una revisión bibliográfica muy reveladora titulada "El biofilm en la endodoncia: Una revisión"(6) que fue publicado en la revista -Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry- en el mismo reporta que la enfermedad endodóntica es una infección mediada por biopelículas, no así por micro organismos planctónicos, y el objetivo principal en el tratamiento de la enfermedad endodóntica es la eliminación de la biopelícula bacteriana del

sistema de conductos radiculares. La infección endodóntica más común es causada por el crecimiento de microorganismos asociados a la superficie. Es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección. Lo más importante es comprender cómo la biopelícula formada por las bacterias del conducto radicular resiste las medidas de tratamiento endodóntico. Las bacterias que causan estas enfermedades se organizan en estructuras de biopelículas, las cuales son comunidades microbianas complejas compuestas por una gran variedad de bacterias con diferentes requerimientos ecológicos y potencial patógeno. La comunidad de biopelículas (biofilms) no solo brinda a las bacterias una protección eficaz contra el sistema de defensa del huésped, sino que también las hace más resistentes a una variedad de agentes desinfectantes utilizados, como productos de higiene bucal, por lo tanto, el éxito del tratamiento de estas enfermedades depende de la eliminación del biofilm, así como de la destrucción eficaz de las bacterias del biofilm. Desde estos aspectos, la formación de biopelículas tiene una importancia clínica particular porque no solo los mecanismos de defensa del huésped, sino también los esfuerzos terapéuticos, incluyendo las medidas de tratamiento antimicrobiano químico y mecánico, tienen la tarea más difícil de tratar con los organismos que se acumulan en una biopelícula. Es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección.

Prada, I. en su publicación de 2019 "Influencia de la microbiología en el fracaso endodóntico. Revisión de la literatura"(7) de la revista -Oral Medicine and Pathology-, explica que las bacterias del conducto radicular pueden aislarse como células planctónicas, suspendidas en la fase líquida del conducto radicular y en forma de agregados o congregaciones adheridas a las paredes de los conductos radiculares, dando lugar a varias capas de biopelículas. Los biofilms

(biopelículas) son un modelo de crecimiento bacteriano donde las células sésiles interactúan para formar comunidades dinámicas unidas a un sustrato sólido y ubicadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares.

Neelakantan, P. en su revisión bibliográfica de 2017 titulada “Biopelículas en Endodoncia - Estado actual y direcciones futuras”(8), publicada en la revista - International Journal of Molecular Sciences- amplía el concepto de Jhajharia(6) describiendo que “una biopelícula es una estructura altamente organizada que consta de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica extracelular autoproducida unida a una superficie”. Las biopelículas también se pueden considerar como una capa de condensación de microbiota o una comunidad derivada de microbios que consta de células que están unidas de manera irreversible a un sustrato o interfaz o entre sí, e incrustadas en una matriz de polisacáridos extracelulares además de ADN extracelular (eDNA) y proteínas extracelulares. En general, la composición exacta varía según los microorganismos y nutrientes disponibles. Los organismos en las biopelículas exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes(8). El autor llega a la conclusión de que las infecciones endodónticas primarias son polimicrobianas y que predominan Bacteroides, Prophyromonas, Prevotella, Especies de Fusobacterium, Treponema, Peptostreptococcus, Eubacterium y Camphylobacter, estos micro organismos están organizados de tal forma que la biopelícula del conducto radicular es una entidad organizada muy compleja, refiere también que dentro de los sistemas de conductos radiculares, la complejidad no solo está relacionada con la naturaleza de la biopelícula, sino también con la anatomía intrincada, que alberga el tejido junto con las biopelículas, y la eliminación de dichas biomasas es tan importante como la capacidad de matar bacterias en las biopelículas.

Una característica de los biofilms es su capacidad de adhesión a las superficies, por mucho tiempo se tuvo la certeza de que estas biomasas se adherían a superficies rugosas, y carecían de adhesión a superficies lisas, pero, Donlan, R. en 2002 en su revisión bibliográfica “Biopelículas: mecanismos de supervivencia

de microorganismos clínicamente relevantes”(9), publicado en la revista -Clinical Microbiology Reviews- Indica que los estudios de adhesión bacteriana con cepas de bacterias de laboratorio, muchas de las cuales se habían transferido miles de veces y habían perdido su capacidad de adhesión, indicaron primero que las superficies muy lisas podrían escapar a la colonización bacteriana. Estudios posteriores con cepas bacterianas "salvajes" y totalmente adherentes mostraron que las superficies lisas se colonizan tan fácilmente como las superficies rugosas y que las características físicas de una superficie influyen en la adhesión bacteriana solo en menor medida. Una vez que se ha formado una biopelícula y las células sésiles han secretado la matriz de exopolisacáridos, la estructura resultante es altamente viscoelástica y se comporta de manera gomosa. Cuando las biopelículas se forman en ambientes de bajo cizallamiento, tienen una baja resistencia a la tracción y se rompen con facilidad, pero las biopelículas formadas a alto cizallamiento son notablemente fuertes y resistentes a la rotura mecánica. El autor concluye que las células bacterianas han crecido en el fenotipo de biopelícula durante miles de millones de años, como parte de su exitosa estrategia para colonizar la mayor parte de este planeta y la mayoría de sus formas de vida. Solo hemos reconocido este fenotipo distinto como el modo predominante de crecimiento bacteriano durante las últimas dos décadas. Inicialmente, las biopelículas atrajeron nuestra atención porque podíamos detectarlas por métodos directos, y nuestro enfoque para comprenderlas era necesariamente descriptivo y algo académico.

En condiciones normales la pulpa está protegida por el esmalte y el cemento, esta protección se encarga que la pulpa se encuentre en condición estéril y saludable. Solo cuando se rompe esta protección la dentina queda expuesta y la invasión bacteriana ocurre a través de los túbulos dentinarios que tienen el suficiente diámetro para que estos microorganismos colonicen los mismos y se reproduzcan. No obstante, el fluido que se encuentra en los túbulos dentinarios, las prolongaciones de los odontoblastos, las fibrillas de colágeno y la lámina

limitante que, a modo de vaina, recubre los túbulos obstruyen el paso de los microorganismos, cuando la pulpa se necrosa comienza la invasión microbiana.

Wong, J. en el año 2021 en su estudio “Aspectos microbiológicos de las infecciones del conducto radicular y estrategias de desinfección: Una revisión actualizada de los conocimientos y desafíos actuales”(10), publicado en la revista -Frontiers in Oral Health- hace una descripción muy clara del proceso de infección de los conductos radiculares y tejidos periapicales. En este estudio menciona que las infecciones de los conductos radiculares son causadas por microorganismos que han penetrado en la pulpa dental y colonizado el sistema de conductos radiculares. A medida que estas comunidades microbianas y sus subproductos metabólicos acceden rápidamente a los tejidos perirradiculares a través de los agujeros apicales o laterales, desencadenan una serie de respuestas inflamatorias. Estas respuestas provocan la lisis de los tejidos perirradiculares blandos y duros principalmente como resultado de la actividad proteolítica de las células inmunitarias (neutrófilos, macrófagos y mastocitos) y el reclutamiento de osteoclastos. En última instancia, esto crea una cavidad ósea llena de restos celulares, cristales de colesterol, osteoclastos, fibroblastos y diversas proporciones de células inmunitarias según el nivel de inflamación. También se encuentran bacterias muertas y, en algunos casos, también bacterias vivas. Tal lesión perirradicular desencadenada por las comunidades microbianas dentro del sistema de conductos radiculares se denomina periodontitis apical. La periodontitis apical representa la causa principal de las intervenciones dentales de emergencia, y sus formas exacerbadas pueden extenderse a los espacios faciales cercanos, provocar complicaciones graves y potencialmente mortales. Además de estas evoluciones infecciosas adversas, existe evidencia que apoya las asociaciones entre infecciones endodónticas crónicas y condiciones sistémicas como diabetes mellitus o enfermedades cardiovasculares(10).

Siqueira, Jr. J. en el año 2007 en su estudio “Patogénesis bacteriana y mediadores en la periodontitis apical”(11) publicado en el -Brazilian Dental Journal-, indica que los conductos radiculares de dientes que presentan signos

radiográficos de periodontitis apical, albergaran en su interior a las bacterias que colonizaron pudiendo mantenerse vitales, albergando también a colonias nuevas que se adaptan a nuevas condiciones que son propicias para su supervivencia, estas lesiones periapicales son el producto de factores bacterianos desencadenados en la patogenia de la periodontitis apical, es muy importante conocer el proceso de la enfermedad para establecer medidas terapéuticas adecuadas. El autor llega a la conclusión de que es poco probable que la patogenia de diferentes tipos de periodontitis apical e incluso del mismo tipo en diferentes individuos siga una moda estereotipada con respecto a los mediadores bacterianos involucrados. Ninguna especie posee o expresa todos los factores mencionados en su estudio y enumera los principales factores de virulencia de algunos patógenos endodónticos candidatos importantes. Así, que los factores que intervienen en cada caso concreto dependerán de la composición de la microbiota, es decir, de las especies bacterianas presentes en el conducto radicular necrótico. Todavía vale la pena señalar que la potencia de los efectos biológicos del mismo factor de virulencia puede variar significativamente de una especie a otra. Por lo tanto, dada la naturaleza inespecífica de las infecciones endodónticas primarias, diferentes combinaciones de factores de virulencia causarán enfermedad en diferentes sujetos.

Lamont, R. en 2018 en su artículo “La microbiota oral: comunidades dinámicas e interacciones con el huésped”(12) publicado en la revista -Nature Reviews Microbiology- reporta que los colonizadores primarios de las superficies orales son predominantemente anaerobios facultativos como estreptococos y especies de Actinomyces. Dentro de los límites del área subgingival, las tensiones de oxígeno reducidas favorecen los cambios de población con una mayor abundancia de anaerobios estrictos como Bacteroidaceae spp. y espiroquetas. Además de la composición microbiana, la organización espacial y estructural (biogeografía) de las comunidades microbianas naturales se reconoce cada vez más como esencial para las interacciones físicas y metabólicas entre especies que pueden ser antagónicas o cooperativas. Las bacterias penetran y crecen

dentro de los tejidos epiteliales e incluso intracelularmente. La mayoría de las veces, existe un equilibrio homeostático entre el huésped y las comunidades microbianas, y se cree que la microbiota residente compite con los patógenos exógenos y los excluye como un componente de la estabilidad del ecosistema, además de contribuir al desarrollo normal de los tejidos y del sistema inmunitario. Debido a que las infecciones del conducto radicular ocurren con mayor frecuencia como secuela de caries o traumatismos, las comunidades bacterianas que colonizan inicialmente el espacio pulpar son el resultado de una selección ecológica de la microbiota oral.

Pero, ¿cómo podemos conocer los componentes de estas biomasas? En 2002 Michael J. en su estudio titulado "Identificación de bacterias para su publicación: ¿Cuándo es suficiente?"(13) publicado en la revista -Journal of Clinical Microbiology- concluye que la identificación precisa y definitiva de microorganismos, incluidas las bacterias, es uno de los pilares que forman la base conjunta de los campos de la microbiología y las enfermedades infecciosas. La identificación se basa en el etiquetado de bacterias, parásitos y hongos con nombres binomiales apropiados de origen latino o griego. Por lo tanto, la nomenclatura bacteriana proporciona la base a partir de la cual se definen las relaciones enfermedad huésped-parásito, se desarrollan regímenes terapéuticos y se inician investigaciones epidemiológicas. Con la llegada de la disponibilidad de sistemas comerciales para el análisis rápido y el uso de métodos moleculares para proporcionar identificaciones de género y especie, la cantidad de informes de casos que relacionan agentes antiguos con enfermedades nuevas y agentes nuevos o inusuales (raros) con procesos infecciosos ha aumentado drásticamente. Sin embargo, igualmente importante con respecto a estos informes de casos publicados que describen nuevos taxones patógenos es la precisión científica de la identificación de cada especie. Confiar en un único método de identificación al publicar puede conducir a una identificación errónea, lo que puede traducirse en un cuerpo inexacto de información en la literatura médica sobre la importancia clínica de muchas especies microbianas. Un

problema agravante es el aumento dramático en el número de nuevas especies bacterianas de importancia médica que se describen sobre la base del análisis de secuencia de los genes del ADN ribosómico 16S (ADNr) de una o dos cepas. En 2017 Baker J. en su artículo "Ecología del microbioma oral: Más allá de las bacterias"(14), publicado en la revista -Trends in microbiology- explica que hasta hace poco tiempo el estudio de la microbiota oral se ha centrado principalmente en las bacterias debido a su relativa alta abundancia, fácil detección y cultivabilidad. Ahora es evidente que el enfoque reduccionista de estudiar las comunidades a través de sus componentes individuales, aunque útil, no puede describir adecuadamente las complejas relaciones que existen. Importantes avances tecnológicos y analíticos, particularmente en métodos de detección independientes del cultivo, han hecho posible investigar las comunidades en su conjunto mediante el uso y la combinación de enfoques basados en sistemas. Estos estudios han revelado un mundo microbiano oral mucho más diverso de lo que se anticipó en base a la investigación dependiente del cultivo. Ahora sabemos que la cavidad bucal no solo alberga especies bacterianas enormemente diversas, sino que también alberga una multitud de bacterias ultra pequeñas que aún no se han cultivado y que pertenecen al grupo candidato fila radiación (Candidate Phyla Radiation CPR) recientemente clasificada, así como hongos y virus. En comparación con el microbioma bacteriano tradicional (bacterioma), el conocimiento sobre estos residentes "raros" (hongos) y "diminutos" (bacterias del grupo CPR y virus/fagos) está rezagado.

## **2 Justificación**

En países latinoamericanos y específicamente en Bolivia la educación en salud bucal no tiene programas preventivos eficientes por parte de las autoridades en salud. En consecuencia, una mayoría de pacientes acuden a una cita odontológica solamente cuando empieza un cuadro álgico agudo en alguna de sus piezas dentales, lo que implica, para poder solucionar la afección del paciente en la mayoría de los casos un tratamiento endodóntico para eliminar los microorganismos que colonizaron el conducto radicular e inclusive el periapice.

Este es un tema de gran importancia; que en algunos casos no ha tenido la magnitud e interés necesarios. Debe ser tomado inexcusablemente con mayor relevancia para así llegar a una resolución satisfactoria de estos tratamientos y minimizar los fracasos terapéuticos que por ende conllevan a nuevos tratamientos, incluyendo intervenciones quirúrgicas.

Por tanto, la elaboración de esta revisión cuenta con las siguientes propiedades.

### 2.1 Relevancia Científica

Importante para los estudiantes, profesionales odontólogos y especialistas, porque busca adjudicar información actual y en idioma español. Además, busca incentivar y motivar estudios científicos en Bolivia, utilizando la última tecnología disponible en pro de mejorar la resolución de tratamientos endodónticos en la población.

### 2.2 Relevancia Social

Para los pacientes afectados por patologías endodónticas, porque el profesional odontólogo podrá efectivizar el tratamiento, reduciendo el costo económico y el tiempo que pasa el paciente en el consultorio, llegando al restablecimiento de la salud bucal del mismo, proporcionándole calidad de vida.

### 2.3 Relevancia Humana

Se busca contribuir con los “Objetivos de desarrollo sostenible y agenda 2030” que propuso la Organización de las Naciones Unidas (ONU), “garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades”. También tiene por finalidad mejorar los tratamientos y evitar que los pacientes lleguen a perder piezas dentales por fracasos en procedimientos endodónticos (desarrollo neurofisiológico), en consecuencia, con este conocimiento proporcionado en idioma español a los profesionales, se busca cerrar la brecha de inequidad en salud bucal a la población, y como se mencionó anteriormente se busca mejorar la eficacia de los tratamientos endodónticos, además de minimizar el costo económico y tiempo invertido en el tratamiento (desarrollo moral).

#### 2.4 Originalidad del Estudio

Al existir escasas publicaciones del tema en idioma español, se presentará información reciente, actualizada, de fuentes debidamente acreditadas e indexadas a estudiantes de pregrado de la carrera de odontología, profesionales odontólogos, cursantes y especialistas en endodoncia de habla hispana.

#### 2.5 Interés Personal

El presente trabajo es requisito académico Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Andrés y tiene como finalidad la titulación como Especialista en Endodoncia.

#### 2.6 Viabilidad

El presente trabajo es autofinanciado por los autores y cuenta con los recursos humanos suficientes para su elaboración. Al ser una revisión bibliográfica no requiere una viabilidad ética para su desarrollo y se cuenta con todos los recursos tecnológicos para su culminación.

#### 2.7 Actualidad

En los últimos años existe una discusión amplia en este tema de manera general y en acápites específicos sobre microorganismos en conductos radiculares y la desinfección de los mismos, como en las publicaciones de revistas científicas en el año 2021 como “Fronteras de la salud oral”(10), “Microorganismos”(15) y la revista “Antibióticos”(16) por citar unos pocos y dado que estamos atravesando una de las mayores pandemias de la historia de la humanidad este tema está empezando a estudiarse en pacientes SARS-COV2 positivos, como el estudio “Predicción de la respuesta de la pulpa dental a la infección por SARS-CoV2: un análisis cruzado de los efectos del transcriptoma”(17), demostrando que el estudio de la microbiología oral es un tema muy tratado y que trasciende la temporalidad.

#### 2.8 Contribución Académica

El presente trabajo pretende aportar importante información actual a estudiantes de pre y post grado de las Facultades de Odontología de Bolivia y países de habla

hispana, en las materias de "Microbiología" y "Clínica de Operatoria dental y Endodoncia"; Se aporta también de manera directa a todos los profesionales Odontólogos y Especialistas en Endodoncia, actualizando sus conocimientos respecto al tema.

### **3 Planteamiento del problema**

En la mayoría de las Facultades de Odontología de Universidades de habla hispana al enseñar la terapéutica endodóntica se enfatiza en las diferentes técnicas biomecánicas de preparación de conductos y el empleo de sustancias de irrigación, subestimando muchas veces el conocimiento de la microbiología existente que se quiere erradicar. Por lo tanto, centrarse únicamente en la "preparación biomecánica" pierde en gran medida el objetivo del tratamiento endodóntico, ya que la comprensión actual de la etiopatogenia microbiana de la periodontitis apical exige que se haga hincapié en la "limpieza del canal" y la desinfección quimiomecánica.

La microbiota asociada con un estado saludable se considera, más generalista, mientras que la microbiota asociada a la enfermedad está influenciada por microorganismos "especialistas" que poseen funciones metabólicas y un elevado potencial de virulencia que en gran parte están ausentes en la salud. Una vez que una comunidad ha hecho la transición a un estado disbiótico, la estabilidad estructural de los componentes funcionalmente especializados permitirá que la condición persista durante un período prolongado de tiempo y las enfermedades orales como la periodontitis y la caries dental y las referentes a la pulpa y conductos radiculares a menudo son crónicos y progresan lentamente.

Tales enfoques de alto rendimiento se beneficiarían adicionalmente de los esfuerzos de estandarización, por ejemplo, en el diseño de muestras y controles. Esto facilitaría las comparaciones entre estudios y ayudaría a sortear los escollos metodológicos. Además, las investigaciones adicionales pueden adquirir relevancia al vincular cuestiones clínicas a las investigaciones basadas en la comunidad, en lugar de permanecer únicamente descriptivas de las comunidades microbianas.

### 3.1 Formulación del Problema

Con todos los antecedentes anteriores el planteamiento del problema es:

**¿Qué tipo de microbiota coexiste dentro del conducto radicular en piezas con y sin patología periapical?**

## 4 Objetivos

### 4.1 Objetivo General

- Describir la población de microorganismos en el conducto radicular en piezas con periodontitis apical frente a piezas sin periodontitis apical.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Definir el porcentaje de especies preponderantes en el conducto radicular en patologías periapicales.
- Indicar la exactitud de métodos modernos de identificación microbiana.
- Señalar si existe la identificación de nuevas especies de microorganismos frente a métodos tradicionales.

## 5 Diseño Metodológico

El presente trabajo de investigación es una revisión narrativa, la misma es un tipo de revisión bibliográfica que consiste en la lectura y contraste de diferentes fuentes, exclusivamente teóricas, presenta resúmenes claros y de forma estructurada sobre toda la información disponible en bases de datos digitales, encontrándose orientada a responder una pregunta específica:

**¿Qué tipo de microbiota coexiste dentro del conducto radicular en piezas con y sin patología periapical?**

Para responder esta pregunta esta revisión se encuentra constituida por múltiples fuentes de información y artículos que representen un alto nivel de evidencia de acuerdo a la disponibilidad de información encontradas digitalmente.

La revisión narrativa describe el proceso de elaboración de manera comprensible, con el objetivo de recolectar, seleccionar, evaluar de manera crítica y realizar el resumen de toda la evidencia disponible en relación a los microorganismos presente en conductos radiculares con y sin patología periapical.

#### Tipo de Investigación

La presente revisión es de tipo descriptiva ya que busca especificar, exponer, detallar, las especies, taxones, filos microbiológicos de los conductos radiculares, recogiendo información de manera independiente o conjunta sobre las variables a las que se refieren.

#### Enfoque de la Investigación

La presente revisión se elaboró bajo el planteamiento metodológico de un enfoque cuantitativo ya que éste utiliza la recolección y análisis de datos para contestar preguntas de investigación.

#### Temporalidad

- Retrospectivo porque se recurre a estudios elaborados en el pasado.
- Longitudinal puesto que tomamos estudios realizados en un lapso de 21 años (2000 – 2021).

#### 5.1 Recolección de Datos

La búsqueda de evidencia científica, se efectuó desde el mes de octubre a diciembre de 2021, con el objetivo de brindar información actualizada y verídica sobre el tema de estudio.

- Tipo de publicación: Artículos de revistas científicas, Libros Endodoncia.
- Fuente documental: PubMed, SciELO y Elsevier journals & books.
- Idioma: Sin restricciones de idioma.

#### Palabras clave

Microbiota [DeCS], Endodontics [DeCS], RNA [DeCS], Ribosomal [DeCS], 16S [DeCS], Periapical Diseases [DeCS], “endodontics AND microbiota” [DeCS], como operadores booleanos solo se utilizó AND.

## 5.2 Criterios de Hallazgos

### Criterios de inclusión:

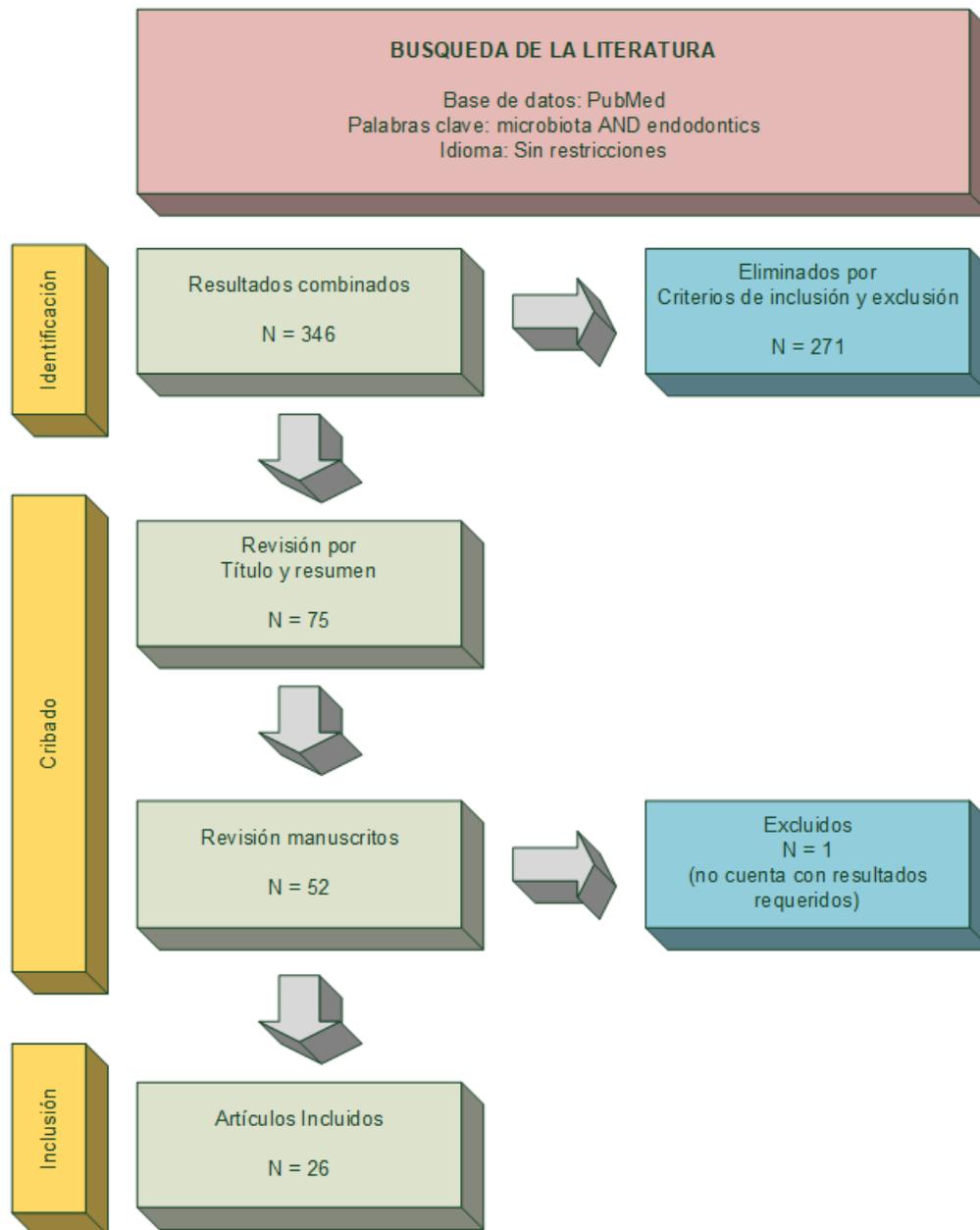
- Tipo de estudio: Ensayos clínicos, casos clínicos, revisiones de literatura.
- Antigüedad de 21 años para los ensayos clínicos, casos clínicos y revisiones de literatura

### Criterios de exclusión:

- Artículos de pago
- Artículos no disponibles en PDF
- Artículos de revistas no indexadas

### Selección de Artículos

Se inicia la búsqueda con las palabras clave en la base de datos: PubMed, encontrándose 346 resultados, se añade filtro de temporalidad 2000-2021 obteniendo 337 artículos, se filtra artículos a texto completo arrojando 322 resultados, se agrega filtro texto completo de revisión libre obteniendo 166 resultados y se agregan criterios de inclusión y exclusión, eliminando 91 artículos. Se revisan los títulos y resúmenes de 75 artículos, seleccionando 52 artículos los cuales se descargaron a texto completo para volver a ser examinados a detalle y confirmar si cumplían con todos los criterios de inclusión, se eliminó 1 por no contar con los resultados requeridos al objetivo de estudio, encontrándose 26 artículos que cumplían los criterios determinados e información pertinente al tema de investigación, incluyéndose estos a la revisión.



### 5.3 Procedimiento de Análisis de Datos

Las principales características de los estudios seleccionados se tabularon en Software Hoja de Cálculo “Microsoft® Excel® LTSC MSO (Version 2202 Build 16.0.14931.20116) 64-bit”, y evaluaron según un análisis descriptivo.

Extrayéndose los siguientes datos: muestra, criterios de inclusión, criterios de exclusión, recolección de muestra, estudio de procesamiento, procesamiento de la muestra, Unidad Taxonómica Operativa (OTU), resultados.

#### Resultados de la Revisión

Los resultados de la extracción de datos de los estudios que fueron revisados, se describen a continuación:

El origen de los artículos analizados fue: 13 de Brasil (5 de Minas Gerais; 5 de Sao Paulo; 3 de Río de Janeiro), 2 de Suecia (1 de Umea; 1 de Estocolmo), 2 de Estados Unidos de Norte América (1 de Maryland; 1 de Oregon), 1 de México, 1 de Polonia, 1 de Países bajos, 1 de Grecia, 1 de Alemania, 1 de Irán, 1 de Sudan, 1 de Turquía, 1 de Suiza. Dando un total de 26 artículos.

Los diseños de estudio considerados fueron ensayos clínicos aleatorizados y casos de tipo cualitativo, cuantitativo, descriptivo, longitudinales, prospectivos y retrospectivos con el objetivo de dar respuesta a la pregunta de investigación.

Todos los estudios seleccionados buscaban describir la microbiota de los conductos radiculares en piezas con o sin patología periapical considerando el estudio por cultivo y molecular rRNA 16S como instrumento de evaluación para determinar los filos y especies de micro organismos que se encuentran poblando los conductos radiculares en los momentos determinados que son objeto del presente estudio, estas técnicas se emplearon en todos los pacientes participantes de los ensayos clínicos.

## **Capítulo 2**

### **Estado del Arte**

Actualmente el mundo entero está atravesando una crisis en salud que aqueja a la humanidad, y a esto se aumenta el hecho del riesgo del profesional odontólogo, expuesto al SARS-COV2 con cada paciente que ingresa a consulta debido a los aerosoles que se generan en una atención por patología endodóntica, así mismo exponemos a los pacientes a una infección cruzada. No obstante, existen diferentes protocolos para minimizar estos riesgos. Por lo tanto, debemos contar con un conocimiento amplio de las implicaciones patogénicas y patológicas de los microorganismos y su evolución patológica, de esta forma diseñar, desarrollar e implementar esquemas terapéuticos eficaces para evitar una exposición innecesaria, tanto del paciente como del profesional.

El primer paso para optimizar la terapéutica es el conocimiento de los agentes que intervienen en estas patologías. Este estudio se centra precisamente en ese conocimiento.

### **Historia**

La primera observación de la microbiota presente en el conducto radicular data del siglo XVII, fue realizada por el propio Anton Van Leeuwenhoek denominado el padre de la Microbiología, quien describió que “los conductos radiculares estaban llenos de una sustancia blanca que parecía estar viva”(3), pero no fue hasta 200 años después que Miller W.D.(4), un dentista americano confirmó la presencia de estos “animálculos” en la patología periapical y describió la asociación entre estas bacterias y la periodontitis apical.

Cuatro siglos después de las primeras observaciones que se realizaron en 1674 por Leeuwenhoek, en un estudio realizado en 1976 por Sundqvist titulado “Estudios bacteriológicos de pulpas dentales necrosadas”(5), se utilizaron técnicas avanzadas de cultivo de microorganismos anaerobios, evaluando de esta forma las bacterias presentes en conductos radiculares con pulpas necróticas con lesiones periapicales y llegó a la conclusión que estos microorganismos

aparecían solo en los dientes que presentaban signos radiográficos de periodontitis apical y los microorganismos anaerobios representaban el 90% de esta población. Determinó también que una pulpa necrosada sin ser infectada no podría inducir por si sola una lesión periapical.

Los primeros enfoques creíbles para la clasificación sistemática de bacterias comenzaron en la última parte del siglo XIX. Estos primeros estudios separaron grupos de bacterias principalmente sobre la base de la morfología, el tamaño y la motilidad. El posterior desarrollo de medios basados en agar condujo al aislamiento y propagación in vitro de cultivos puros. Este evento singular alimentó las primeras investigaciones bioquímicas sustantivas de especies bacterianas que ocurrieron a fines del siglo XIX y principios del XX. Sin embargo, debido al número limitado de pruebas bioquímicas y fenotípicas disponibles, la caracterización de las especies propuestas fue inadecuada e imprecisa. Este problema a menudo condujo a confusión y resultó en el descubrimiento y redescubrimiento de la misma especie bacteriana por parte de diferentes investigadores que dieron a los mismos taxones nuevos nombres basados en criterios morfológicos, culturales y fenotípicos ligeramente diferentes(13).

Tradicionalmente, los organismos vivos se clasificaban, de acuerdo con las similitudes y diferencias en sus características fenotípicas, en procariontes y eucariontes, y estos a su vez se clasificaban en varios reinos, filos, clases, órdenes, familias, géneros y especies. Sin embargo, la clasificación taxonómica objetiva por estos métodos puede ser difícil debido a las variaciones en las características fenotípicas. Hace cuatro décadas, se comenzó a analizar y secuenciar los genes 16S rDNA de varias bacterias, utilizando secuenciación de ADN, una tecnología de punta en ese momento, y usaron las secuencias para estudios filogenéticos. La invención de la PCR y la secuenciación automatizada del ADN hace tres décadas, y el trabajo posterior sobre la secuenciación del ADNr 16S de las bacterias, así como la secuenciación del ADNr 18S de los eucariontes, ha llevado a la acumulación de una gran cantidad de datos de secuencias sobre los genes del ADNr de los organismos más pequeños. La

comparación de estas secuencias ha demostrado que las secuencias del gen rDNA están altamente conservadas dentro de los organismos vivos del mismo género y especie, pero que difieren entre organismos de otros géneros y especies. Usando estas secuencias de genes de ADNr para estudios filogenéticos, se describieron tres dominios de la vida, Archaea, Bacteria y Eukarya, a diferencia de la clasificación tradicional de organismos vivos en procariotas y eucariotas solamente(18).

### **Infección Endodóntica**

En condiciones normales la pulpa está protegida por el esmalte y el cemento, esta protección se encarga que la pulpa se encuentre en condición estéril y saludable. Solo cuando se rompe esta protección la dentina queda expuesta y la invasión bacteriana ocurre a través de los túbulos dentinarios que tienen el suficiente diámetro para que estos microorganismos colonicen los mismos y se reproduzcan. No obstante, el fluido que se encuentra en los túbulos dentinarios, las prolongaciones de los odontoblastos, las fibrillas de colágeno y la lámina limitante que, a modo de vaina, recubre los túbulos obstruyen el paso de los microorganismos, cuando la pulpa se necrosa comienza la invasión microbiana(19).

Wong, J.(10) hace una descripción muy clara del proceso de infección de los conductos radiculares y tejidos periapicales. En este estudio menciona que las infecciones de los conductos radiculares son causadas por microorganismos que han penetrado en la pulpa dental y colonizado el sistema de conductos radiculares. A medida que estas comunidades microbianas y sus subproductos metabólicos acceden rápidamente a los tejidos perirradiculares a través de los agujeros apicales o laterales, desencadenan una serie de respuestas inflamatorias. Estas respuestas provocan la lisis de los tejidos perirradiculares blandos y duros principalmente como resultado de la actividad proteolítica de las células inmunitarias (neutrófilos, macrófagos y mastocitos) y el reclutamiento de osteoclastos. En última instancia, esto crea una cavidad ósea llena de restos celulares, cristales de colesterol, osteoclastos, fibroblastos y diversas

proporciones de células inmunitarias según el nivel de inflamación. También se encuentran bacterias muertas y, en algunos casos, también bacterias vivas. Tal lesión perirradicular desencadenada por las comunidades microbianas dentro del sistema de conductos radiculares se denomina periodontitis apical. La periodontitis apical representa la causa principal de las intervenciones dentales de emergencia, y sus formas exacerbadas pueden extenderse a los espacios faciales cercanos, provocar complicaciones graves y potencialmente mortales. Además de estas evoluciones infecciosas adversas, existe evidencia que apoya las asociaciones entre infecciones endodónticas crónicas y condiciones sistémicas como diabetes mellitus o enfermedades cardiovasculares.

Siqueira, Jr. J.(11) indica que los conductos radiculares de dientes que presentan signos radiográficos de periodontitis apical, albergaran en su interior a las bacterias que colonizaron pudiendo mantenerse vitales, albergando también a colonias nuevas que se adaptan a nuevas condiciones que son propicias para su supervivencia, estas lesiones periapicales son el producto de factores bacterianos desencadenados en la patogenia de la periodontitis apical, es muy importante conocer el proceso de la enfermedad para establecer medidas terapéuticas adecuadas. El autor llega a la conclusión de que es poco probable que la patogenia de diferentes tipos de periodontitis apical e incluso del mismo tipo en diferentes individuos siga una moda estereotipada con respecto a los mediadores bacterianos involucrados. Ninguna especie posee o expresa todos los factores mencionados en su estudio y enumera los principales factores de virulencia de algunos patógenos endodónticos candidatos importantes. Así, que los factores que intervienen en cada caso concreto dependerán de la composición de la microbiota, es decir, de las especies bacterianas presentes en el conducto radicular necrótico. Todavía vale la pena señalar que la potencia de los efectos biológicos del mismo factor de virulencia puede variar significativamente de una especie a otra. Por lo tanto, dada la naturaleza inespecífica de las infecciones endodónticas primarias, diferentes combinaciones de factores de virulencia causarán enfermedad en diferentes sujetos. El

conocimiento de los principales factores implicados en la patogenia de la periodontitis apical puede ayudar a establecer medidas terapéuticas adecuadas para inactivar esta "artillería" bacteriana.

### **Tipos de Infección endodóntica**

Podemos clasificar las infecciones endodónticas que son consecuencia de estas colonizaciones de micro organismos, por su localización anatómica tanto intra radicular como extra radicular.

La infección intra radicular se debe a microorganismos que colonizan el interior del conducto radicular y se puede subdividir en tres categorías según la cronología de la infección(10):

- **Primaria.** Causada por microorganismos que invaden y colonizan la pulpa necrótica.
- **Secundaria.** Causada por microorganismos que no están en la infección primaria, pero son introducidos dentro del conducto en algún momento después de la intervención profesional.
- **Persistente.** Causada por microorganismos persistentes de la infección primaria y secundaria que de alguna forma resisten los procedimientos antimicrobianos que tienen lugar dentro del conducto y que pudieron persistir a periodos faltos de nutrientes.

La infección extra radicular se caracteriza por la invasión microbiana de los tejidos peri radiculares inflamados y es una secuela de la infección intra radicular. Se debe aclarar también que la infección extra radicular puede ser dependiente o independiente de una infección intra radicular(19), (11).

### **Diversidad de la Microbiota Endodóntica**

Lamont, R.(12) reporta que los colonizadores primarios de las superficies orales son predominantemente anaerobios facultativos como estreptococos y especies de Actinomyces. Dentro de los límites del área subgingival, las tensiones de oxígeno reducidas favorecen los cambios de población con una mayor abundancia de anaerobios estrictos como Bacteroidaceae spp. y espiroquetas.

Además de la composición microbiana, la organización espacial y estructural (biogeografía) de las comunidades microbianas naturales se reconoce cada vez más como esencial para las interacciones físicas y metabólicas entre especies que pueden ser antagónicas o cooperativas. Los microorganismos en las superficies de los dientes tienden a formar comunidades de biopelículas de múltiples especies que a menudo están incrustadas en una matriz de “sustancias poliméricas extracelulares” (EPS). Por el contrario, el desprendimiento, las superficies epiteliales más transitorias requieren una estrategia de colonización especializada, y aunque los organismos forman biopelículas en estas superficies, hay menos tiempo para la maduración de la biopelícula que con superficies abióticas o dentales. Además, las bacterias penetran y crecen dentro de los tejidos epiteliales e incluso intracelularmente. La mayoría de las veces, existe un equilibrio homeostático entre el huésped y las comunidades microbianas, y se cree que la microbiota residente compite con los patógenos exógenos y los excluye como un componente de la estabilidad del ecosistema, además de contribuir al desarrollo normal de los tejidos y del sistema inmunitario. Aunque la gingivitis es una consecuencia casi inevitable de la acumulación prolongada de biopelículas (también conocidas como placa) en la superficie de los dientes, es un estado inmuno inflamatorio controlado que no compromete permanentemente la integridad de los tejidos que sostienen los dientes. La saliva del huésped también contribuye a la estabilidad del ecosistema al amortiguar el entorno oral, proporcionar nutrición a la comunidad y proporcionar factores antimicrobianos que son antagonistas de las especies exógenas. No obstante, bajo condiciones particulares, la interacción huésped-comunidad se vuelve disbiótica y pueden seguir enfermedades específicas del sitio que involucran los dientes o las encías. Debido a que las infecciones del conducto radicular ocurren con mayor frecuencia como secuela de caries o traumatismos, las comunidades bacterianas que colonizan inicialmente el espacio pulpar son el resultado de una selección ecológica de la microbiota oral. Por lo tanto, la composición de la microbiota endodóntica se deriva de un cambio en la composición de las comunidades

orales, impulsado por las condiciones ecológicas específicas de los conductos radiculares infectados(10).

La accesibilidad de los ecosistemas orales ha facilitado la caracterización de las comunidades microbianas que están asociadas con la salud o la enfermedad en distintos sitios orales. Hasta la fecha, se han catalogado por lo menos 775 taxones bacterianos a nivel de especie en la base de datos expandida del microbioma oral humano (expanded Human Oral Microbiome Database: HOMD <http://www.homd.org>)(10).

### **Patología endodóntica**

La enfermedad endodóntica es una infección mediada por biopelículas, no así por micro organismos planctónicos, y el objetivo principal en el tratamiento de la enfermedad endodóntica es la eliminación de la biopelícula bacteriana del sistema de conductos radiculares. Así es como define Jhajharia K(6) la patología endodóntica y refiere que la infección endodóntica más común es causada por el crecimiento de microorganismos asociados a la superficie. Es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección. Lo más importante es comprender cómo la biopelícula formada por las bacterias del conducto radicular resiste las medidas de tratamiento endodóntico. Se ha confirmado la etiología bacteriana de enfermedades orales comunes como la caries y las infecciones periodontales y endodónticas. Las bacterias que causan estas enfermedades se organizan en estructuras de biopelículas, las cuales son comunidades microbianas complejas compuestas por una gran variedad de bacterias con diferentes requerimientos ecológicos y potencial patógeno. La comunidad de biopelículas (biofilms) no solo brinda a las bacterias una protección eficaz contra el sistema de defensa del huésped, sino que también las hace más resistentes a una variedad de agentes desinfectantes utilizados como productos de higiene bucal o en el tratamiento de infecciones. El éxito del tratamiento de estas enfermedades depende de la eliminación del biofilm, así como de la destrucción

eficaz de las bacterias del biofilm. Desde estos aspectos, La formación de biopelículas tiene una importancia clínica particular porque no solo los mecanismos de defensa del huésped, sino también los esfuerzos terapéuticos, incluidas las medidas de tratamiento antimicrobiano químico y mecánico, tienen la tarea más difícil de tratar con los organismos que se acumulan en una biopelícula. Jhajharia(6), llega a la conclusión de que es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección. Lo más importante es comprender cómo el biofilm formado por las bacterias del conducto radicular resiste las medidas de tratamiento endodóntico.

“La biopelícula está incrustada en una matriz hecha a sí misma de sustancias poliméricas extracelulares y es un modo de crecimiento microbiano donde las comunidades dinámicas de células sésiles que interactúan se unen irreversiblemente a un sustrato sólido, así como entre sí”(6).

### **Biopelícula**

Neelakantan(8), amplía el concepto de Jhajharia(6) describiendo que “una biopelícula es una estructura altamente organizada que consta de células bacterianas encerradas en una matriz polimérica extracelular autoproducida y unida a una superficie”.

Las bacterias del conducto radicular pueden aislarse como células planctónicas, suspendidas en la fase líquida del conducto radicular y en forma de agregados o congregaciones adheridas a las paredes de los conductos radiculares, dando lugar a varias capas de biopelículas. Los biofilms (biopelículas) son un modelo de crecimiento bacteriano donde las células sésiles interactúan para formar comunidades dinámicas unidas a un sustrato sólido y ubicadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares(7).

Las biopelículas también se pueden considerar como una capa de condensación de microbiota o una comunidad derivada de microbios que consta de células que están unidas de manera irreversible a un sustrato o interfaz o entre sí, e

incrustadas en una matriz de polisacáridos extracelulares además de ADN extracelular (eDNA) y proteínas extracelulares. En general, la composición exacta varía según los microorganismos y nutrientes disponibles. Los organismos en las biopelículas exhiben un fenotipo alterado con respecto a la tasa de crecimiento y la transcripción de genes. El autor llega a la conclusión de que las infecciones endodónticas primarias son polimicrobianas y que predominan Bacteroides, Prophyromonas, Prevotella, Especies de Fusobacterium, Treponema, Peptostreptococcus, Eubacterium y Camphylobacter, estos microorganismos están organizados de tal forma que la biopelícula del conducto radicular es una entidad organizada muy compleja y es difícil, pero no imposible, duplicar sus características en experimentos in vitro(8).

Las bacterias del conducto radicular pueden aislarse como células planctónicas, suspendidas en la fase líquida del conducto radicular y en forma de agregados o congregaciones adheridas a las paredes de los conductos radiculares, dando lugar a varias capas de biopelículas. Los biofilms (biopelículas) son un modelo de crecimiento bacteriano donde las células sésiles interactúan para formar comunidades dinámicas unidas a un sustrato sólido y ubicadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares(7).

Pero las biopelículas no son resultado del azar, mantienen una interacción sorprendente. Jhahharia, K.(6) y Prada, I.(7) comparten en sus estudios que los microorganismos que viven en una misma comunidad deben tener las siguientes características:

- Autopoiesis. Tener la capacidad de autoorganizarse,
- Homeostasis. Resistir las alteraciones del medio en el que viven,
- Sinergismo. Ser más eficaz en grupo que aislado, y
- Comunalidad. La capacidad de responder a los cambios como una unidad más que como individuos.

Las investigaciones sobre comunidades microbianas se han basado tradicionalmente en el estudio de organismos aislados individualmente para hacer inferencias sobre la comunidad entera. Si bien este enfoque ha hecho

avanzar mucho a la microbiología en los últimos 400 años, el método reduccionista no se puede utilizar para explicar suficientemente las complejidades de la estructura de la comunidad. Al reconocer que el todo es más que la simple suma de sus partes, los microbiólogos modernos están aprendiendo a aplicar el "pensamiento sistémico" para adoptar un enfoque holístico de las investigaciones. La investigación ha pasado de estudios dependientes del cultivo de una sola especie a comunidades multiespecíficas "in vitro" complejas, así como la caracterización independiente del cultivo de toda la microbiota "in vivo", y desde el análisis de la expresión génica individual hasta el análisis metaómico. La microbiología está experimentando un nuevo movimiento que enfatiza las interacciones entre diferentes elementos dentro de una comunidad(14).

En el caso de órganos dentales que cuenten con un tratamiento endodóntico previo, Prada, I.(7) reporta que los microorganismos tienen que soportar las medidas de desinfección intraconducto (preparación químico mecánica y fármacos intraconducto) y adaptarse a un ambiente con poca disponibilidad de nutrientes para sobrevivir en un conducto sellado. Por lo tanto, solo las pocas especies que tienen estas habilidades pueden estar involucradas en tratamiento endodóntico que derive en fracaso. Además, las bacterias ubicadas en áreas como deltas apicales, istmos, canales laterales, irregularidades y túbulos dentinarios, a menudo pueden escapar a los procedimientos de desinfección endodóntica y es probable que el suministro de nutrientes de las bacterias permanezca sin cambios después del tratamiento. Por el contrario, las bacterias no podrán sobrevivir si el sustrato se reduce drásticamente o si la obturación del conducto no permite que las bacterias accedan a los tejidos perirradiculares. Sin embargo, las especies de bacterias resistentes sobrevivirán durante períodos relativamente largos al obtener nutrientes de los restos de tejido y las células muertas. Además, si el relleno radicular no proporciona un sellado absoluto, la microfiltración de los fluidos tisulares puede proporcionar un sustrato para el crecimiento bacteriano. La capacidad de sobrevivir en condiciones desfavorables es muy importante para

las bacterias porque a menudo experimentan períodos de escasez de nutrientes. Sin embargo, no siempre los microorganismos que logran sobrevivir en estas condiciones son capaces de provocar patología periapical. De hecho, esto sólo ocurrirá si las bacterias (sus toxinas y especialmente sus endotoxinas) son patógenas, alcanzan un número suficiente y acceden a los tejidos perirradiculares para inducir o perpetuar lesiones perirradiculares.

Donlan, R.(9) realiza un estudio de adhesión bacteriana con cepas de bacterias de laboratorio, pone a prueba la hipótesis que se enseñaba hasta esa fecha de que las biopelículas no pueden adherirse a superficies lisas. Revisa Estudios en cepas de laboratorio que se habían transferido miles de veces y habían perdido su capacidad de adhesión, los resultados indicaron primero como se esperaba que las superficies muy lisas podrían escapar a la colonización bacteriana, pero estudios posteriores con cepas bacterianas "salvajes" y totalmente adherentes mostraron que las superficies lisas se colonizan tan fácilmente como las superficies rugosas y que las características físicas de una superficie influyen en la adhesión bacteriana solo en menor medida. Una vez que se ha formado una biopelícula y las células sésiles han secretado la matriz de exopolisacáridos, la estructura resultante es altamente viscoelástica y se comporta de manera gomosa. Cuando las biopelículas se forman en ambientes de bajo cizallamiento, tienen una baja resistencia a la tracción y se rompen con facilidad, pero las biopelículas formadas a alto cizallamiento son notablemente fuertes y resistentes a la rotura mecánica. El autor concluye que las células bacterianas han crecido en el fenotipo de biopelícula durante miles de millones de años, como parte de su exitosa estrategia para colonizar la mayor parte de este planeta y la mayoría de sus formas de vida. Solo hemos reconocido este fenotipo distinto como el modo predominante de crecimiento bacteriano durante las últimas dos décadas. Inicialmente, las biopelículas atrajeron nuestra atención porque podíamos detectarlas por métodos directos, y nuestro enfoque para comprenderlas era necesariamente descriptivo y algo académico. Durante los últimos 5 años, los estudios de este fenotipo distintivo han brindado una explicación racional para

este patrón de expresión génica, y ahora las biopelículas pueden definirse en términos genéticos. La importancia médica de estos estudios científicos y de ingeniería ahora no reside en el interés académico, sino en nuestra capacidad para explicar las características de las infecciones crónicas relacionadas con dispositivos y otras, y para diseñar estrategias para contrarrestar su naturaleza refractaria. Su fenotipo distintivo los hace resistentes a los agentes antibacterianos y su matriz los hace resistentes a las moléculas y células antibacterianas movilizadas por el huésped. Si bien muchas infecciones por biopelículas son "silenciosas", ya que se desarrollan lentamente e inicialmente producen pocos síntomas, pueden ser muy dañinas porque promueven secuelas de complejos inmunitarios y actúan como reservorios de exacerbaciones agudas.

### **Patología endodóntica**

La enfermedad endodóntica es una infección mediada por biopelículas, no así por micro organismos planctónicos, y el objetivo principal en el tratamiento de la enfermedad endodóntica es la eliminación de la biopelícula bacteriana del sistema de conductos radiculares. Así es como define Jhajharia K(6) la patología endodóntica y refiere que la infección endodóntica más común es causada por el crecimiento de microorganismos asociados a la superficie. Es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección. Lo más importante es comprender cómo la biopelícula formada por las bacterias del conducto radicular resiste las medidas de tratamiento endodóntico. Se ha confirmado la etiología bacteriana de enfermedades orales comunes como la caries y las infecciones periodontales y endodónticas. Las bacterias que causan estas enfermedades se organizan en estructuras de biopelículas, las cuales son comunidades microbianas complejas compuestas por una gran variedad de bacterias con diferentes requerimientos ecológicos y potencial patógeno. La comunidad de biopelículas (biofilms) no solo brinda a las bacterias una protección eficaz contra el sistema de defensa del huésped, sino que también las hace más resistentes a

una variedad de agentes desinfectantes utilizados como productos de higiene bucal o en el tratamiento de infecciones. El éxito del tratamiento de estas enfermedades depende de la eliminación del biofilm, así como de la destrucción eficaz de las bacterias del biofilm. Desde estos aspectos, La formación de biopelículas tiene una importancia clínica particular porque no solo los mecanismos de defensa del huésped, sino también los esfuerzos terapéuticos, incluidas las medidas de tratamiento antimicrobiano químico y mecánico, tienen la tarea más difícil de tratar con los organismos que se acumulan en una biopelícula. Jhaharia(6), llega a la conclusión de que es importante aplicar el concepto de biopelícula a la microbiología endodóntica para comprender el potencial patógeno de la microbiota del conducto radicular, así como para formar la base de nuevos enfoques para la desinfección. Lo más importante es comprender cómo el biofilm formado por las bacterias del conducto radicular resiste las medidas de tratamiento endodóntico.

“La biopelícula está incrustada en una matriz hecha a sí misma de sustancias poliméricas extracelulares y es un modo de crecimiento microbiano donde las comunidades dinámicas de células sésiles que interactúan se unen irreversiblemente a un sustrato sólido, así como entre sí”(6).

### **Métodos de Identificación Microbiana**

Actualmente se cuenta principalmente con tres métodos de identificación Microbiana como describe Bou G. y colaboradores(19).

#### **Fenotípica**

La identificación bacteriana por medio de métodos convencionales basados en las características fenotípicas, puesto que su realización y coste los hace más asequibles. Los esquemas tradicionales de identificación fenotípica bacteriana se basan en las características “observables” de las bacterias, como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y metabólicas. El cultivo, cuando es factible, continúa siendo el método diagnóstico de elección; permite el aislamiento del microorganismo implicado, su identificación, el estudio de

sensibilidad a los antimicrobianos y facilita la aplicación de marcadores epidemiológicos. En el cultivo es esencial la correcta elección del medio de crecimiento y las condiciones de incubación. En este proceso de identificación bacteriana tradicional, la experiencia del microbiólogo es fundamental para la elección de una prueba o una batería de pruebas de forma secuencial en función de la fiabilidad de las mismas, del género o de la especie bacteriana que se pretende identificar, del origen del aislado bacteriano, así como del coste de las mismas. Los laboratorios deben elaborar y realizar un proceso de identificación normalizado en su actividad diaria, que utilice de forma secuencial o simultánea un conjunto de pruebas cuyo propósito final sea la identificación del microorganismo a nivel de género y especie, y que incluya la mayoría de las bacterias desde el punto de vista infeccioso.

#### Molecular

La ausencia de concordancia entre las características observables, morfológicas y/o fenotípicas del aislamiento en estudio y las correspondientes a las cepas de la especie tipo, hacen que los métodos fenotípicos realicen la identificación más probable y no definitiva. Para solventar los problemas inherentes presentados por los sistemas de identificación fenotípica —no todas las cepas de una misma especie muestran una característica específica; una misma cepa puede generar diferentes resultados en ensayos repetidos; y las limitaciones en la base de datos de bacterias correspondiente, entre otros— se han impuesto a los métodos genotípicos de identificación bacteriana como procedimientos complementarios o alternativos.

Una amplia variedad de genes ha sido utilizada como dianas moleculares en los estudios taxonómicos o de filogenia en los distintos géneros y distintas especies bacterianas, constituyendo el análisis del ARNr 16S el marcador inicial y en numerosas situaciones el marcador suficiente para realizar una identificación más precisa. Sin embargo, en otras circunstancias, la alta homología genética presente en determinados géneros bacterianos o un reciente cambio en su asignación taxonómica, no permite realizar con el ARNr 16S una identificación a

nivel de especie o de géneros. En estos casos, podemos recurrir a otros genes dianas para realizar asignación de especie.

### Proteómica

La proteómica es el estudio y caracterización del conjunto de proteínas expresadas por un genoma (proteoma). Las técnicas de proteómica abordan el estudio de este conjunto de proteínas y las más usadas se basan en la electroforesis y en la espectrometría de masas.

La espectrometría de masas es una técnica analítica que permite analizar con gran precisión la composición de diferentes elementos químicos al permitir la medición de iones derivados de moléculas separándolos en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ). Un ion es un átomo o molécula cargada eléctricamente debido al exceso o falta de electrones. Dado que la mayoría de los iones formados poseen una sola carga, la relación “ $m/z$ ” es equivalente a “ $m$ ”. El espectro de masas de cada compuesto se denomina “huella química” y es una representación gráfica de los fragmentos obtenidos, por orden creciente de masa frente a su abundancia relativa.

### **Estudio Molecular rRNA 16S**

El ARN ribosómico (ARNr) 16S es la macromolécula más ampliamente utilizada en estudios de filogenia y taxonomía bacterianas(2). Su aplicación como cronómetro molecular fue propuesta por Carl Woese (Universidad de Illinois) a principios de la década de 1970. Los estudios de Woese originaron la división de los procariotas en dos grupos o reinos: Eubacteria y Archaeobacteria, cuya divergencia es tan profunda como la encontrada entre ellos y los eucariotas. Además, permitieron establecer las divisiones mayoritarias y subdivisiones dentro de ambos reinos. Posteriormente, introdujo el término dominio para sustituir al reino como categoría taxonómica de rango superior, y distribuyó a los organismos celulares en tres dominios: Bacteria, Archaea y Eukarya, el último de los cuales engloba a todos los seres eucariotas. Desde entonces, el análisis de los ARNr 16S se ha utilizado ampliamente para establecer las relaciones

filogenéticas dentro del mundo procariota, causando un profundo impacto en nuestra visión de la evolución y, como consecuencia, en la clasificación e identificación bacteriana.

Este estudio está basado en un polirribonucleótido codificado por el gen *rrs* o ADN ribosomal ARNr 16S (ADN 16S) incluido en la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. De distribución universal, componente crítico en la función celular, el ARNr 16S actúa como se señaló anteriormente un cronómetro molecular al presentar un alto grado de conservación. Aunque el ARNr 16S constituye la diana de acción para algunos antimicrobianos, produciéndose mutaciones que conducen a la resistencia fenotípica, no se invalida la utilización del ARNr 16S para la identificación bacteriana o la asignación de género y especie. La secuencia del gen ARNr 16S presenta de forma aproximada 1.500 pb (par de base). Este tamaño proporciona suficiente polimorfismo interespecífico para diferenciar y establecer medidas estadísticas válidas(19).

Las técnicas de identificación molecular en bacterias mediante el análisis del 16S ARNr u otros genes mencionados arriba, se basan en la amplificación genómica y en la secuenciación de esos genes o sus fragmentos. El medio de cultivo o las condiciones de incubación no serán factores determinantes, pero sí serán factores críticos la extracción del ADN cromosómico y la amplificación, procesos técnicos que deberán tenerse en cuenta en toda metodología de identificación molecular en el laboratorio de microbiología. Tras la secuenciación del amplicón, la observación del electroferograma constituye el primer paso del análisis de las secuencias.

Aunque existen cronómetros moleculares alternativos al ARNr 16S, hasta el momento ninguno ha conseguido desplazarle. De hecho, esta macromolécula presenta una serie de características, en base a las cuales fue considerado como cronómetro molecular definitivo(2):

1. Se trata de una molécula muy antigua, presente en todas las bacterias actuales. Constituye, por tanto, una diana universal para su identificación.

2. Su estructura y función han permanecido constantes durante un tiempo muy prolongado, de modo que las alteraciones en la secuencia reflejan probablemente cambios aleatorios.
3. Los cambios ocurren de manera suficientemente lenta, como para aportar información acerca de todos los procariotas.
4. El tamaño relativamente largo de los ARNr 16S (1.500 nt) minimiza las fluctuaciones estadísticas.
5. La conservación en estructura secundaria puede servir de ayuda en las comparaciones, aportando una base para el alineamiento preciso.
6. Dado que resulta relativamente fácil secuenciar los ADNr 16S existen bases de datos amplias, en continuo crecimiento.

En contra Michael J.(13) aclara que la desventaja de la hibridación de ADN es que es un procedimiento costoso, técnicamente complejo y laborioso que, en su apogeo, estaba restringido a un pequeño número de centros de investigación o de salud pública en todo el mundo. Hoy en día, muy pocos laboratorios realizan la hibridación de ADN por métodos clásicos. Sin embargo, el mundo de la taxonomía molecular se revolucionó a mediados de la década de 1980 con la llegada del análisis de secuencia completa de cronómetros moleculares como el rRNA. A mediados de la década de 1990, la secuenciación de los genes del ADNr de la subunidad pequeña (16S) se había convertido en algo común y se consideraba una herramienta estándar de los taxónomos microbianos no solo para dilucidar la relación filogenética sino también como un medio de identificación bacteriana. La automatización de la secuenciación del gen 16S rDNA con instrumentos como el secuenciador de ADN ABI Prism 377 (Applied Biosystems, Foster City, California) permitió un rápido análisis comparativo de las secuencias publicadas depositadas en las bases de datos del genoma microbiano. Hoy en día, las cepas bacterianas que desafían la identificación mediante metodologías comerciales convencionales a menudo se someten a análisis de secuencia de ADNr 16S para que se pueda colocar una etiqueta útil en el aislado en cuestión.

### **Microbiota del conducto radicular y tejidos periapicales**

La microbiología de las infecciones endodónticas como se mencionó anteriormente se ha estudiado durante muchos años. Sin embargo, la asociación entre microorganismos específicos que se encuentran en los conductos radiculares y los síntomas de las infecciones endodónticas es poco conocida. Los primeros estudios de la microbiota endodóntica indicaron un predominio de especies bacterianas aeróbicas y facultativas. Esta conclusión fue cuestionada por el desarrollo de técnicas de cultivo anaeróbico que aclararon la etiopatogenia de las infecciones endodónticas al demostrar la aparición común de bacterias anaerobias estrictas(5). Sin embargo, las técnicas basadas en cultivos tienen limitaciones, como la dificultad para detectar microorganismos anaeróbicos fastidiosos y una sensibilidad y especificidad moderadas.

Recientemente, las técnicas de biología molecular han proporcionado un método más rentable, específico y sensible para evaluar los perfiles microbiológicos de las patologías orales, incluidas las infecciones endodónticas y periodontales. Esta tecnología permite la detección de especies microbianas de difícil crecimiento, así como de filotipos no cultivados y no reconocidos, lo que conduciría a una mejor comprensión de la microbiota oral, incluidas las infecciones endodónticas.

Ya en 2007 un estudio de Brito L. (21) cuyo objetivo fue combinar la hibridación ADN-ADN en damero y la amplificación de desplazamiento múltiple MDA para evaluar cuantitativa y cualitativamente 77 taxones bacterianos en los conductos radiculares durante las infecciones endodónticas. Las muestras de patologías endodónticas a menudo contienen muy pocas células bacterianas y pueden estar por debajo del nivel de detección del método de damero. Para superar estas limitaciones, Brito utiliza amplificación de desplazamiento múltiple (MDA) antes de hibridar las muestras. MDA permite la amplificación uniforme de todo el genoma de los objetivos de ADN, aumentando la cantidad de ADN obtenido de las muestras bacterianas endodónticas. Esta amplificación se vuelve más común en estudios posteriores dado que aumenta la precisión de la hibridación ADN-

ADN. Brito estudio 66 dientes cuyas muestras se amplificaron por MDA, una segunda toma de muestras de los mismos pacientes fue utilizada para control de comparación, 46 de los 66 sirvieron para este objetivo.

Por tanto, se disponía de datos microbiológicos para 46 muestras de conducto radicular no amplificadas y 66 amplificadas por MDA, tomadas de 66 sujetos. Los datos microbianos se expresaron de tres maneras: recuentos (niveles), proporciones (porcentajes de recuentos de sondas de ADN) y prevalencia (porcentaje de dientes colonizados a niveles de  $>10^5$ ) de 77 especies bacterianas. Los datos del recuento se expresaron como recuentos  $\times 10^5$  en cada muestra y promediado entre sujetos. Los recuentos amplificados que se presentaron reflejan el "número" de organismos detectados después de la amplificación MDA de la muestra en comparación con los estándares no amplificados. No son recuentos reales de la muestra original, sino los "equivalentes de ADN" después de la amplificación. Después del procesamiento MDA se obtuvo una amplificación de aproximadamente 1.000 veces, siendo que las muestras amplificadas proporcionaron señales mucho mejores que las observadas utilizando muestras no amplificadas.

En los resultados, las especies se ordenaron de acuerdo con los recuentos medios. En muestras no amplificadas, *Prevotella tanneriae* exhibió los recuentos medios más altos ( $0,91 \times 10^5 \pm 0,25$ ), seguido de *Acinetobacter baumannii* y *Prevotella oris*, mientras que *Streptococcus mitis* exhibió los recuentos medios más bajos en ( $0,01 \times 10^5 \pm 0,001$ ), seguido de *Streptococcus salivarius* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. No se detectaron siete especies en ninguna de las muestras no amplificadas. En muestras amplificadas, *Prevotella tanneriae* exhibió los recuentos medios más altos  $\times 10^5$ ,  $3,32 \pm 0,69$ , seguido de *Prevotella oris* y *Streptococcus mutans*, mientras que *Campylobacter concisus* exhibió los recuentos medios más bajos ( $0,15 \times 10^5 \pm 0,02$ ), seguido de *Leptotrichia buccalis* y *Streptococcus salivarius*. Como se puede observar existe una diferencia de resultados lo que arroja el primer indicio de necesidad de normar los protocolos en las investigaciones. Otras especies que se detectaron

con frecuencia incluyeron *Prevotella heparinolytica* en ambos tipos de muestras y *Actinomyces meyeri*, *Streptococcus parasanguinis*, *Atopobium rimae* y *Porphyromonas endodontalis* en muestras amplificadas por MDA. *Prevotella oris*, *Selenomonas sputigena*, *Haemophilus aphrophilus* y *Mogibacterium timidum* se detectaron en >50% de las muestras no amplificadas. Las especies de prueba se detectaron con mayor frecuencia en las muestras amplificadas por MDA que en las muestras no amplificadas, lo que sugiere que esta tecnología puede ser útil para muestras de endodoncia que contienen un pequeño número de células bacterianas.

Uno de los objetivos del autor fue aumentar el rango de especies bacterianas examinadas en muestras de conductos radiculares y detectar especies presentes en bajas cantidades mediante el uso de MDA y se detectó una gama de taxones mucho más amplia que con muestras no amplificadas. Otro objetivo de la investigación fue comparar la microbiota en los conductos radiculares con y sin lesiones perirradiculares. el estudio de Brito(21) no encontró diferencias significativas entre los dos estados clínicos, independientemente de si las muestras se amplificaron o no.

Se sabe que la periodontitis apical tiene una etiología heterogénea, donde ninguna especie individual puede considerarse como el principal patógeno endodóntico y múltiples combinaciones bacterianas desempeñan un papel en la causalidad de la enfermedad. Si bien se ha sugerido que algunas bacterias anaeróbicas Gram-negativas están involucradas en enfermedades sintomáticas(19), las mismas especies también están presentes en frecuencias algo similares en casos asintomáticos. Sin embargo, los estudios moleculares de perfiles comunitarios han sugerido que la estructura de las comunidades bacterianas sigue patrones específicos de acuerdo con la condición clínica. Esto sugiere que algunas estructuras de la comunidad bacteriana pueden predisponer a infecciones agudas en lugar de la presencia de un grupo específico de especies.

Santos(22) en un estudio cuantitativo de comparación de la microbiota en infecciones agudas y crónicas obtiene muestras de 9 abscesos agudos y 8 infecciones crónicas que arrojó secuencias parciales del gen 16S rRNA que se clasificaron taxonómicamente en 916 unidades taxonómicas operativas (OTU) a nivel de especie bacteriana pertenecientes a 67 géneros y 13 filos.

De los principales filos, Firmicutes (52%), Fusobacterias (17%) y Bacteroidetes (13%) fueron los más abundantes en infecciones agudas, mientras que Firmicutes (59%), Bacteroidetes (14%) y Actinobacteria (10%) fueron los más abundantes en infecciones crónicas. Cinco de los filos detectados, a saber, Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Actinobacteria y Proteobacteria, constituyeron colectivamente más del 90% del microbioma. A excepción de Spirochaetes (2,6%), cada uno de los otros filos correspondió a menos del 1% de las secuencias. Alrededor del 2% de las secuencias no pudieron asignarse a ningún filo bacteriano. En términos de prevalencia, se encontraron miembros de Firmicutes en todos los casos. Las fusobacterias fueron mucho más prevalentes en casos agudos (8/9, 89%) que en casos crónicos (4/8, 50%). Bacteroidetes ocurrieron en 7/9 (78%) casos agudos y 7/8 (87,5%) crónicos, mientras que los representantes de Actinobacterias estuvieron presentes en 7/9 (78%) casos agudos y 5/8 (62,5%) crónicos.

Los géneros más abundantes en casos agudos fueron *Fusobacterium* (19%), *Parvimonas* (11%) y *Peptostreptococcus* (10%). *Fusobacterium* también fue la más prevalente (8/9, 89%), seguida de *Parvimonas*, *Dialister* y *Atopium* (todas detectadas en 7/9 casos, 78%). Veinte géneros se detectaron exclusivamente en infecciones agudas, todos ellos tanto en baja abundancia como en prevalencia. Se encontraron once géneros en más del 50% de los casos agudos. Los géneros más abundantes en casos crónicos fueron *Phocaeicola* (12,5%), *Eubacterium* (12%) y *Pseudoramibacter* (10%). *Eubacterium* y *Mogibacterium* fueron las más prevalentes (ambas en 6/8, 75%), seguidas de *Pseudoramibacter* (5/8, 62,5%) y *Phocaeicola* (4/8, 50%). Dieciocho géneros se encontraron exclusivamente en infecciones crónicas, todos ellos en baja abundancia y prevalencia.

Los estudios de Brito(21) y Santos(22) se basan en la secuenciación rRNA 16S y arrojan como resultado una microbiota diferente, comparando los resultados de afecciones aguda y crónicas, Brito no encontró diferencia significativa de los micro organismos en patología aguda y crónica, pero Santos muestra una diferencia de especies presentes en ambas situaciones.

Por otra parte, Anderson A.(23) y Rôças I.(24) independientemente realizan estudios de piezas con fracaso endodóntico. Ambos autores utilizaron la metodología molecular rRNA 16S para la identificación bacteriana y recogieron las muestras de manera similar en cuanto a protocolos de desinfección, utilizaron puntas de papel para el recojo de micro organismos del conducto radicular y el universo de su estudio no fue muy diferente, en el primer caso obtuvieron muestras de 50 dientes mientras que en el segundo caso 42 dientes.

En el primer estudio(23) en total, se detectaron 277 géneros diferentes, siendo los más abundantes *Streptococcus* (10,9%), *Prevotella* (8,21%), *Lactobacillus* (8,06%), *Kocuria* (5,17%) y *Neisseria* (3,38%). Algunas secuencias (0,58%) no pudieron ser asignadas a ningún taxón. *Enterococcus* se encontraba entre los 15 géneros más abundantes (2,59%).

En el segundo estudio(24) los taxones detectados con mayor frecuencia incluyeron *Propionibacterium acnes* (22/42 [52%]), *Fusobacterium nucleatum* subespecie *nucleatum* (10/42 [24%]), especies de *Streptococcus* (7/42 [17%]), *Propionibacterium acidifaciens* (6/42 [14%]), *Pseudoramibacter alactolyticus* (6/42 [14%]), *Enterococcus faecalis* (5/42 [12%]) y *Tannerella forsythia* (5/42 [12%])

En contraste con estudios anteriores que discuten *Enterococcus faecalis* como la especie más prevalente relacionada con infecciones endodónticas secundarias y persistentes Anderson A.(23) y Rôças I.(24), concuerdan que el género *Enterococcus* solo estaba presente en el 17,5% de todas las muestras, y solo 5 de los 42 casos en el resultado de cada autor respectivamente.

Adicionalmente Anderson A.(23), encontró seis nuevos filos, no identificados previamente en dientes obturados: TM7, una división candidata encontrada en

muestras ambientales y recientemente detectada en la cavidad oral; Deinococcus-Thermus, conocido en ambientes extremos y recientemente encontrado en el estómago humano; Cianobacterias y Cloroflexi, conocidas por vivir en el agua y el suelo; SR1, originalmente encontrado en ambientes marinos, terrestres y de agua dulce y también asociado con animales y recientemente detectado en la cavidad oral humana con una mayor abundancia en enfermedad periodontal y OD1, un filo recientemente reconocido, solo conocido por sus secuencias de ADNr 16S. Estos filos constituyen el 1,5% de todas las secuencias. Por otra parte, Tzanetakis G.(25) y Bouillaguet S.(26), estudian independientemente la microbiota presente en la periodontitis apical primaria y secundaria por el método molecular de rRNA 16S, con la diferencia que el primero obtuvo sus muestras por aspiración con una jeringa (un método novedoso y se supone más preciso para la recolección de los micro organismos del ápice) y el segundo trabajó en dientes exodonciados. Tzanetakis G. asignó un total de 339 Unidades Taxonómicas Operativas (OTU) a 11 filos, 60 familias y 109 géneros. Los phyla con una representación de abundancia relativa fueron: Bacteroidetes (36,2%), Firmicutes (32,9%), Actinobacterias (8,1%), Synergistetes (7,4%), Fusobacterias (7,4%), Proteobacterias (5,2%), Spirochaetes (1,9%) y Tenericutes (0,5%). Las infecciones persistentes se enriquecieron significativamente para Proteobacterias (6,4% vs. 4,0%;  $P=0,02$ ) y Tenericutes (1,0% vs.  $<0,05\%$ ;  $P=0,03$ ) en comparación con los primarios. Se detectaron tenericutes en el 42% de las infecciones persistentes frente al 12% de las infecciones primarias ( $P<0,05$ ). Utilizando la base de datos GrenGenes (<https://greengenes.secondgenome.com>), se identificaron 18 filos adicionales menos abundantes, todos con menos del 0,2% de abundancia. Entre ellos, las cianobacterias (0,018%) y las acidobacterias (0,007%) fueron las más abundantes, y se enriquecieron significativamente entre las infecciones persistentes: se detectaron cianobacterias en el 67% de las muestras con una abundancia del 0,3%; Se detectaron acidobacterias en el 42% de las muestras con una abundancia del 0,1%. Bouillaguet que, recogió el contenido

intrarradicular, así como una muestra de dentina, reportó que las OTU representativas se clasificaron en la base de datos EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) curada manualmente, que contiene 61.933 secuencias de genes 16S rRNA de especies y filotipos procariotas. Las 374 OTU identificadas fueron asignadas a 18 filos y 177 géneros. De los 16 filos bacterianos identificados en muestras de conducto radicular, cinco (Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Fusobacteria y Synergistetes) correspondieron juntos a más del 90% de las lecturas de secuencia. *Fusobacterium nucleatum* OTU18 fue, con mucho, la OTU proporcionalmente más abundante, tanto en muestras de dentina como de conducto radicular. *Phocaeicola abscessus* OTU8 se encontraba entre las cinco OTU más abundantes en ambos sitios anatómicos. Ninguna otra OTU fue común a las diez OTU más abundantes en dentina y conductos radiculares. También se comparó la prevalencia (es decir, la presencia independientemente de la abundancia relativa) de OTU en dos tipos de muestra. Una vez más, *F. nucleatum* OTU18 fue el más prevalente, detectándose en todas las muestras excepto una (tratamiento de conducto). Otras tres OTU, *Mogibacterium timidum* OTU22, *Pseudoramibacter alactolyticus* OTU11 y *Fretibacterium\_GU430992* OTU56 se encontraban entre las diez OTU más prevalentes en ambos tipos de muestra. Sin embargo, los perfiles generales de microbiota sugirieron que las muestras de dentina y conducto tenían una microbiota distinta. Bouillaguet(26) reporta también niveles altos para *E. Faecalis* (sobre todo en Periodontitis Apical Secundaria) en contradicción a Anderson A. (23) y Rôças I. (24), Esto puede sugerir que *E. faecalis*, posiblemente introducida iatrogénicamente, resiste mejor a las condiciones ambientales de los conductos radiculares tratados. También existe una creciente evidencia de que la periodontitis apical primaria o secundaria pueden exacerbar varias enfermedades sistémicas, incluidas las enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus, las enfermedades hepáticas crónicas y los trastornos sanguíneos. *F. nucleatum*, la especie bacteriana más prevalente y proporcionalmente abundante en PAP, también es prevalente en los tejidos de cáncer colorrectal y metástasis distales

asociadas. Por otro lado, *E. faecalis* que se encuentra comúnmente en muchas (pero no todas) las muestras de SAP es una de las causas más comunes de infecciones nosocomiales que pueden ser complicadas de tratar debido al aumento de la resistencia a los antibióticos.

Las periodontitis apicales refractarias también son foco de investigación como los estudios de Henriques L.(27) y Barbosa-Riveir M.(28) Estudiaron muestras de 40 y 20 pacientes respectivamente. Una vez más difieren el método de recojo de muestra, en el primero se utiliza una lima K10 y en el segundo puntas de papel. Los taxones dominantes para Henriques(27) fueron *Corynebacterium diphtheriae* ( $8.03 \pm 0.98$ ), *Porphyromonas gingivalis* ( $5.42 \pm 2.09$ ), *Streptococcus sobrinus* ( $5.33 \pm 0.69$ ) y *Stenotrophomonas maltophilia* ( $4.72 \pm 1.73$ ). Entre las poblaciones subdominantes se encontraban *Eubacterium saphenum* ( $3.85 \pm 1.06$ ), *Helicobacter pylori* ( $3.16 \pm 0.62$ ), *Dialister pneumosintes* ( $3.12 \pm 1.1$ ), *Clostridium difficile* ( $2.74 \pm 0.41$ ), *Enterobacter agglomerans* ( $2.64 \pm 0.54$ ), *Salmonella enterica* ( $2.51 \pm 0.52$ ), *Mobiluncus mulieris* ( $2.44 \pm 0.6$ ) y *Klebsiella oxytoca* ( $2.32 \pm 0.66$ ). En la población residual, *Bacteroides ureolyticus* ( $0.04 \pm 0.01$ ), *Haemophilus influenzae* ( $0.04 \pm 0.02$ ) y *Prevotella oris* ( $0.01 \pm 0.01$ ) se encontraron con las proporciones medias más bajas. *Enterococcus faecalis* ( $0.52 \pm 0.26$ ) fue una de las especies detectadas. Sin embargo, *E. faecalis* se detectó en una proporción media alta (10,1%) en un solo sitio de muestra de entre 40 dientes analizados. *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Lactobacillus acidophilus* no se detectaron en ninguna muestra. El autor reconoce que los estudios que han intentado analizar el ecosistema microbiano del conducto radicular han sido limitados por las células bacterianas presentes en este ecosistema. Como consecuencia, la incapacidad de detectar algunos taxones y las dificultades para contar otros taxones podrían llevar a que se subestimen sus posibles funciones en el ecosistema microbiano endodóntico. En las últimas dos décadas, el fracaso del tratamiento de conducto radicular se ha atribuido a la presencia de *E. faecalis*. Henriques, detectó *E. faecalis* en una proporción media baja ( $0.52 \pm 0.26$ ), por lo

tanto, está de acuerdo con informes anteriores que han cuestionado la relevancia de *E. faecalis* en el fracaso del tratamiento endodóntico.

Por otra parte, Barbosa-Riveiro M.(28) realiza un estudio un poco más completo, ya que toma muestras en tres momentos del tratamiento endodóntico, Antes de la preparación quimiomecánica CMP, después de la preparación quimiomecánica CMP y después de 30 días de medicación intraconducto con Hidróxido de Calcio ICM en 20 dientes. Se detectaron bacterias cultivables en todas las muestras iniciales. La CMP redujo las bacterias en un 99,4% y la ICM en un 99,5%. Las especies más prevalentes encontradas en las muestras iniciales fueron *E. faecalis* (20/20), *P. gingivalis* (20/20), *F. nucleatum* (17/20) y *A. actinomycetemcomitans* (10/20), mientras que *D. pneumosintes*, *F. alocis*, *P. nigrescens* y *T. socranskii* no fueron detectados. Después de la CMP, Tampoco se detectaron *A. israelii*, *A. naeslundii*, *G. morbillorum*, *T. forsythia* y *T. denticola* ( $P < 0.05$ ). *E. faecalis* y *P. gingivalis* tuvieron una reducción baja ( $P > 0,05$ ) y *F. nucleatum* tuvo su ADN significativamente reducido después de la CMP ( $P < 0,05$ ). La MCI no tuvo ningún efecto adicional sobre la reducción microbiana. La microbiota de los dientes con infección endodóntica persistente/secundaria consiste en una comunidad polimicrobiana con especies Gram-positivas y Gram-negativas, bacilos y cocos, anaerobios facultativos y estrictos. Contrariamente a Henriques L.(27), los resultados de Barbosa-Riveiro M.(28) arrojaron que *E. faecalis* y *P. gingivalis* se detectaron con frecuencia en todas las etapas del retratamiento del conducto radicular, con este resultado el autor asegura evidenciar su gran resistencia a los procedimientos de endodoncia. Los procedimientos de endodoncia fueron efectivos para reducir los niveles de bacterias de los dientes que se presentan con infección endodóntica secundaria. Las infecciones endodónticas agudas son una de las afecciones tratadas con mayor frecuencia en los procedimientos de endodoncia de emergencia. Clínicamente, estas infecciones se caracterizan por dolor espontáneo, sensibilidad a la percusión y dolor a la palpación. Los microorganismos pueden llegar a los tejidos conectivos apicales, lo que lleva a una respuesta inflamatoria

intensa. Si no se tratan, estas infecciones pueden progresar, lo que resulta en afecciones potencialmente mortales y complicaciones sistémicas. La microbiota asociada a las infecciones endodónticas agudas es muy heterogénea, presentando diferentes perfiles bacterianos entre los pacientes. Nóbrega L.(29) y Rovai E.(30), estudian el microbioma en estas patologías. Ambos estudian 10 muestras, así mismo ambos utilizan puntas de papel para la recogida de las muestras. El primero presenta como resultado que los taxones detectados con mayor frecuencia pertenecían al filo Firmicutes (43,5% de los taxones identificados), identificados en las 10 muestras, seguidos del filo Bacteroidetes (22,5%), detectado en nueve muestras. El filo Fusobacteria representó sólo el 3,9% de los taxones identificados; sin embargo, estuvo presente en siete muestras. El filo Proteobacteria (13,2%) se detectó en cinco muestras, Actinobacteria (6,5%) en cuatro muestras, Synergistetes (5,2%) y Spirochaetes (3,9%) en dos muestras, y Deinococcus-Thermus (1,3%) en una muestra. No hubo ningún caso que albergara los ocho filos detectados. Se observó una alta variabilidad entre sujetos. Por ejemplo, el caso 6 presentó solo Firmicutes y Bacteroidetes en un total de 11 filotipos, mientras que el caso 8 presentó Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria, Spirochaetes y Synergistetes en un total de 21 filotipos diferentes. Setenta y seis filotipos fueron identificados en este estudio, de los cuales 47 (61,84%) eran especies diferentes y 29 (38,15%) eran taxones reportados como especies aún incultivables o aún no caracterizadas. Cuarenta y tres filotipos estaban presentes en una sola muestra. En nueve de las 10 muestras estudiadas se detectaron especies pertenecientes al género *Prevotella*, *P. baroniae*, *P. buccae*, *P. denticola*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. maculosa*, *P. marshii*, *P. oris* y *P. oulorum*. *Fusobacterium nucleatum*, *Filifactor alocis* y *Peptostreptococcus stomatis* fueron las especies detectadas con mayor frecuencia (6/10 conductos), seguidas de *Dialister invisus*, *Phocaeicola abscessus*, *Eubacterium* spp., el clon oral no caracterizado de *Lachnospiraceae* (5/10 conductos), *Porphyromonas* spp. y *Parvimonas micra* (4/10 conductos). Rovai E.(30), tiene como resultado

microorganismos en el 100% de las muestras mediante hibridación ADN-ADN. Entre las 40 especies bacterianas evaluadas, seis especies, entre ellas *S. noxia*, *S. gordonii*, *F. nucleatum ssp polymorphum*, *S. anginosus*, *E. saburreum* y *A. actinomycetemcomitans*, no se detectaron en ninguna muestra de endodoncia. Las especies más prevalentes en este sitio fueron *P. endodontalis* (80%), *L. buccalis* (80%), *C. sputigena* (70%), *E. faecium* (70%), *A. oris* (70%), *V. parvula* (70%), *P. micra* (70%), *P. intermedia* (60%), *G. morbillorum* (60%) y *E. nodatum* (60%). En cuanto a las muestras periodontales, no se encontraron 14 microorganismos: *C. gracilis*, *C. sputigena*, *G. morbillorum*, *E. corrodens*, *P. acnes*, *S. noxia*, *C. gingivalis*, *N. mucosa*, *A. odontolyticus*, *E. faecium*, *C. ochracea*, *S. sanguinis*, *E. saburreum* y *A. actinomycetemcomitans*. Las especies bacterianas más prevalentes en estas muestras fueron: *P. nigrescens* (70%), *P. intermedia* (50%), *V. parvula* (50%), *F. nucleatum ssp vincentii* (50%), *P. gingivalis* (40%), *P. endodontalis* (40%), *F. nucleatum* (40%) y *E. nodatum* (40%). En ambos estudios los perfiles bacterianos en las infecciones endodónticas variaron de individuo a individuo. No hubo especie presente en todas las muestras y el número de pacientes analizados permitió observar una mayor diversidad bacteriana que la reportada en otros estudios. Esto indica que la infección endodóntica primaria tiene una etiología heterogénea, donde ninguna especie individual puede considerarse como el principal patógeno endodóntico. Las múltiples combinaciones bacterianas juegan un papel en la etiología de la enfermedad, actuando sinérgicamente y aumentando la virulencia, lo que causa más daño al huésped. Especies aún desconocidas también están presentes en enfermedades infecciosas, dando lugar a nuevos conceptos en la patogénesis de varias infecciones humanas y redirigiendo estrategias terapéuticas. Nóbrega L.(29) muestra bacterias no cultivadas en ocho casos. Por otra parte, ambos estudios demuestran una diferencia marcada en los resultados del microbioma. Los abscesos apicales agudos (AAA) son causados por bacterias que salen del conducto radicular infectado e invaden los tejidos perirradiculares para establecer una infección extraradicular y evocar inflamación purulenta. Clínicamente, la

enfermedad se caracteriza por dolor espontáneo, sensibilidad/dolor a la percusión y dolor a la palpación. La presencia de hinchazón de los tejidos blandos indica difusión a través del hueso y puede dar lugar a afecciones potencialmente mortales si no se proporciona tratamiento inmediato.

Tres autores estudian el microbioma en esta patología Hsiao W.(31), George N.(32) y Nóbrega L.(33). El primero presenta el primer estudio de secuenciación rRNA 16S en patología endodóntica aguda, estudió 8 pacientes a los cuales tomó muestras orales, de los conductos radiculares infectados y del absceso periapical (5 con infección localizada y 3 con infección sistémica), las poblaciones microbianas de estas muestras se analizaron mediante la secuenciación de amplicones ARNr 16S. Se encontraron once filos en al menos dos de nuestras muestras. Estos fueron: Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Synergistetes, Spirochaetes, TM7, Tenericutes, Deinococcus-Thermus y SR1. El género más abundante en muestras orales fue Streptococcus. Los géneros más abundantes en los conductos radiculares fueron Prevotella y Fusobacterium. El género más abundante en absceso fue Fusobacterium. Estas observaciones coinciden con los resultados informados previamente en infecciones endodónticas agudas, pero este es el primer informe que demuestra claramente el cambio en la microbiota en los tres sitios (uno normal y dos enfermos) en los mismos individuos en un solo punto de tiempo, por lo tanto este informe es uno de los más relevantes para nuestro estudio. En los 3 sitios, Firmicutes tuvo las abundancias relativas más altas (57,7% para muestras orales, 38,7% para muestras de conducto radicular y 33,1% para muestras de abscesos). El siguiente filo más abundante fue Bacteroidetes (21,5% en muestras orales, 36% en conducto radicular y 21,7% en absceso). En las muestras de abscesos, las fusobacterias también fueron muy abundantes con un 21,6%.

George N.(32), concluye que de las 425 sondas únicas específicas de taxones que representan 280 especies, 81 sondas fueron reactivas con el ADN de la muestra de absceso. En las reacciones de control positivo, el ADN de todas las muestras de absceso generó amplicones utilizando los cebadores universales de

ARNr 16S, y las reacciones de control negativas sin ADN no generaron amplicones. El único espécimen de absceso con solo dos especies objetivo contenía *Fusobacterium nucleatum* y *Parvimonas micra*. Todos los demás abscesos contenían al menos seis especies objetivo. Cinco taxones, incluyendo *F. nucleatum*, *P. micra*, *Megasphaera* especie clon CS025, *Prevotella multisaccharivorax* y *Atopobium rimae*, fueron altamente prevalentes en los especímenes de abscesos y se identificó que estaban presentes en todos los especímenes (18/18, 100%). Varios taxones adicionales, incluyendo *Porphyromonas endodontalis* (17/18, 94.4%), *Acidaminococcaceae* especie clon DM071 (17/18, 94.4%), *Actinomyces* especie clon EP053 (16/18, 88.9%), *Mycoplasma salivarium* (16/18, 88.9%), *Streptococcus cristatus* (15/18, 83%) y *Lactobacillus gasseri* (15/18, 83.3%) fueron identificados en >83% de las muestras de absceso examinadas en este estudio. Se han identificado especies bacterianas cultivables e incultivables en abscesos endodónticos obtenidos de la región demográfica de Portland, Oregón, e identificaciones de taxones se correlacionaron bien con otros estudios publicados, con la excepción de *Treponema* y *Streptococcus cristae*, que no se identificaron comúnmente en abscesos endodónticos entre la región demográfica en Portland, Oregon y otras regiones. Además, es ampliamente aceptado que existen diferencias étnicas y geográficas en los perfiles de microbiota oral, y concluimos, en parte por extrapolación, que la ubicación geográfica puede desempeñar un papel en las causas microbianas patógenas de las infecciones endodónticas y periodontales. Nóbrega L.(33) concluye que los métodos moleculares permitieron la identificación del 99% de los aislados. Se identificaron cincuenta y nueve bacterias diferentes. Se encontraron anaerobios estrictos que incluían 27 bacterias gramnegativas anaeróbicas (24 bastones, 3 cocos), 23 bacterias grampositivas anaeróbicas (19 bastones, 4 cocos); 8 bacterias Gram-positivas facultativas (3 bastones, 5 cocos) y 1 bacteria Gram-negativa facultativa (1 bastón). Las bacterias identificadas con mayor frecuencia fueron *Prevotella buccae* (10/20), *Pseudoramibacter alactolyticus* (9/20), *Prevotella nigrescens*

(8/20), *Parvimonas micra* (7/20), *Dialister invisus* (6/20), *Filifactor alocis* (4/20), *Prevotella tanneriae* (4/20), *Peptostreptococcus stomatis* (4/20), *Fusobacterium* spp. (3/20). El número de especies bacterianas encontradas en los conductos radiculares varió de 2 a 12 (promedio 6).

Korona-Glowniak I.(34) realiza un estudio en periodontitis apical al igual que Brito L.(35). En análisis molecular con PCR en tiempo real Korona-Glowniak, de los 45 pacientes estudiados, recuperó 1434 especies/genes de 41 géneros diferentes de 90 especies microbianas diferentes. En una muestra se detectaron 5-61 (media  $31,8 \pm 15,3$ ) especies/genes. De los principales filos reportados, se detectaron Firmicutes (60,04%), Actinobacteria (13,4%), Bacteroidetes (11,51%), Proteobacteria (8,72%) y Fusobacteria (4,04%). A pesar del número no identificado de aislados en el método de cultivo convencional, el porcentaje de filos identificados en cultivo fue comparable a los resultados encontrados con el uso del método molecular. La prevalencia de patógenos del complejo rojo de Socransky en pacientes, a saber, *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola*, fue del 22,2%, 33,3% y 24,4%, respectivamente. Las especies aisladas más prevalentes, excepto *Streptococcus* spp. (*S. infantis*, *S. sanguinis*, *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*), siendo las más prevalentes (27–38/45, 60–84,4%), fueron *Propionibacterium acnes* (41/45, 91%), *Lactobacillus paracasei/casei/zeae* (32/45, 71,1%), *E. faecalis* (31/45, 68,9%), *Rothia aeria/dentocariosa* (28/45, 62,2%), *L. gasseri* (27/45, 60%) y *Parvimonas micra* (22/45, 48,9%). También se detectaron cocos y bacilos gramnegativos, incluyendo *Fusobacterium nucleatum* (36/45, 80%), *Prevotella nigrescens* (27/45, 60%), *Dialister invisus* (26/45, 57,8%), *Prevotella oris* (24/45, 53,3%), *Pseudoramibacter alactolyticus* (23/45, 51,1%), *Selenomonas sputigena* (23/45, 51,1%) y *Veillonella parvula* (23/45, 51,1%). En este estudio, *Enterococcus faecalis* fue uno de los más frecuentemente identificados (68,9%) que está de acuerdo con otros estudios que observaron que los niveles de *E. faecalis* oscilaban entre el 0% y el 90%. Se observó una fuerte correlación negativa entre *E. faecalis* y *D. invisus*, especie frecuente principalmente en pacientes con infección primaria. *E. faecalis* se

informó cómo más abundante en muestras de periodontitis apical secundaria, pero no fue el hallazgo de nuestro estudio. Curiosamente, a pesar de la abundancia promedio similar de la especie en infecciones primarias y secundarias (7,9% vs. 5,7%), la abundancia promedio bastante alta se observó en muestras de necrosis pulpar (12,5%) en comparación con las lesiones endoperio (0,34%) y la periodontitis periapical (7,3%). En esta línea, un análisis de conglomerado jerárquico mostró una clara agrupación del grupo de necrosis pulpar según su contenido de *E. faecalis*. Mientras que algunas muestras exhibieron abundancias superiores al 90%, otras aparecieron desprovistas de la especie. La limitación del estudio es el pequeño número de pacientes reclutados y la falta de seguimiento para comparar los resultados del tratamiento con el perfil bacteriano detectado durante el primer muestreo después del diagnóstico.

Por otro lado, para Brito L.(35) el filo más abundante detectado fue Bacteroidetes (51,2%), seguido de Firmicutes (27,1%) y Actinobacteria (11,5%). Los géneros más destacados fueron *Prevotella* (17,9%) y Bacteroidaceae G-1 (14,3%), mientras que Bacteroidaceae [G-1] sp taxón oral (ot) 272 (12,6%), *Parvimonas micra* (6,2%), *Porphyromonas endodontalis* (3,4%), y Bacteroidetes [G-5] sp ot 511 (2,5%) fueron las especies/filotipos más numerosos. A pesar de ser un análisis cerrado, la base de datos HOMINGS (<https://homings.forsyth.org/>) detectó los taxones más representativos en las muestras, cubriendo, en promedio, el 84,1% de las lecturas. Los filos Bacteroidetes y Firmicutes predominaron en casos sintomáticos y asintomáticos. En presencia de síntomas, niveles más altos de *Prevotella* (ausencia x presencia, 11,5% x 22,2%), Bacteroidaceae [G-1] (10,9% x 16,6%), *Porphyromonas* (0,1% x 12,9%; Se observaron  $p < 0,05$ ), *Parvimonas* (2,6% x 9,9%) y *Dialister* (2,7% x 4,9%). Bacteroidaceae [G-1] sp ot 272 (9,9% x 14,4%), *P. micra* (2,4% x 8,8%), *Prevotella oris* (0,1% x 7,9%,  $p < 0,05$ ), *P. endodontalis* (0,0% x 5,6%), *Porphyromonas* sp ot 395 (0,0% x 4,9%) y *D. invisus* (0,2% x 3,6%;  $p < 0,05$ ) fueron las especies/filotipos predominantes. Una vez más se encontró una variabilidad considerable entre las muestras, ya que presentaban combinaciones

complejas de taxones. Por lo tanto, el estudio de las comunidades microbianas de la sintomatología clínica analizada debería ayudar a aclarar los taxones que se asocian consistentemente con las infecciones del conducto radicular. En el análisis central, también se identificaron nuevos patógenos candidatos, como *Bacteriodetes* sp ot 272, 365 y *Prevotella* sp ot 526. El papel potencial de esos filotipos en la enfermedad periapical apoya su caracterización posterior en estudios de cultivo para determinar su metabolismo y propiedades de virulencia. Pourhajibagher M.(36) realiza un estudio de cultivo y procesamiento molecular rRNA 16S, el cultivo se realiza con protocolos estrictos para preservar los microorganismos anaerobios. De los 50 pacientes que participaron en este estudio, 36 estaban infectados por infección endodóntica primaria y 14 tenían antecedentes de terapia de conducto previo. En general, se recolectaron 218 aislamientos cultivables de los conductos radiculares, incluidos 184 (84,4%) y 30 (15,6%) aislamientos de la infección endodóntica primaria y secundaria, respectivamente, que pertenecían a 14 géneros diferentes y 20 especies microbianas diferentes. La prevalencia de microbiota entre las cepas aisladas fue de 46,3% de anaerobios estrictos, 37,1% de anaerobios facultativos, 10,5% de microaerófilos y 5,9% de microorganismos aerobios. De todos los taxones identificados, seis (*Slackia exigua*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus mutans*, *Campylobacter curvus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus epidermidis*) se encontraron solo en infecciones primarias del conducto radicular. Según los resultados presentados, se encontró que *Veillonella parvula* tiene la mayor frecuencia y distribución en las infecciones endodónticas primarias (38/184; 20,6%), seguida de *Porphyromonas gingivalis* (26/184; 14,1%) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (17/184; 9,2%), representando otras bacterias menos del 8% del total de microorganismos. *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Propionibacterium acnes* y *V. parvula* fueron los microorganismos más comunes en los conductos radiculares infectados secundarios con una frecuencia de 36,6%, 20%, 2% y 2%, respectivamente. Como se puede observar, una vez más tenemos discrepancia en los resultados en cuanto a *E. faecalis* respecto a los

estudios revisado anteriormente. El cultivo se utilizó como el método más preciso para descubrir un espectro más amplio de microorganismos en el sistema de conductos radiculares. Alternativamente, este método de prueba convencional no solo es fácilmente adaptable, práctico y económico, sino que también ha demostrado ser altamente efectivo, por lo tanto, es posible que por un tiempo más debamos depender de esta metodología y combinarla con métodos moleculares como se realizó en este estudio.

Salas-López E.(37), realiza un estudio bastante interesante, por su escasez, estudia la microbiota en dientes deciduos y los expone a secuenciación rRNA 16S después de cultivar los micro organismos. Se encontraron ocho filos en los 13 dientes. En cuanto a la abundancia relativa, el phyla Bacteroidetes (35,15 %) fue el más abundante, seguido de Firmicutes (33,3 %) y Fusobacteria (10,05 %) y, en menor cantidad, se encontraron Actinobacteria (13,5 %), Spirochetes (2,6 %) y Synergistetes (5,3%). Se encontraron un total de 2.035 géneros; los géneros más abundantes con una abundancia relativamente alta fueron Prevotella y Streptococcus.

Brito L.(38) expone un estudio por demás interesante, estudia pacientes VIH+ y los compara con pacientes VIH- para comparar la microbiota endodóntica en ambos. El resultado demuestra el porcentaje medio de muestras que presentan recuentos de cada una de las 107 especies microbianas detectadas al nivel de  $> 10^5$  células bacterianas. Los taxones más prevalentes detectados en el grupo VIH- fueron Dialister pneumosintes (68%), Stenotrophomonas maltophilia (68%), Streptococcus sobrinus (57%), Corynebacterium diphtheriae (55%) y Helicobacter pylori (52%). Entre las personas VIH+, D. pneumosintes (70%), Prevotella tanneriae (43%), Porphyromonas gingivalis (27%), Parvimonas micra (23%), Prevotella nigrescens (23%) y Corynebacterium diphtheriae (22%) fueron los taxones detectados con mayor frecuencia. Se observaron diferencias significativas en la prevalencia entre los dos grupos. S. maltophilia, S. sobrinus, C. diphtheriae y H. pylori se detectaron con más frecuencia en el grupo VIH-, mientras que P. tanneriae, Prevotella oris y Prevotella loescheii se encontraron

con mayor frecuencia en muestras de sujetos VIH+ ( $p < 0,05$ ). Se sometió a amplificación MDA un segundo grupo y las proporciones medias de las 107 especies microbianas en muestras amplificadas del conducto radicular de pacientes con VIH- y VIH+. Entre los sujetos con VIH-, *D. pneumosintes*, *C. diphtheriae* y *Candida albicans* fueron los taxones más abundantes, representando el 7,4% ( $\pm 1,0$ ), el 4,8% ( $\pm 0,6$ ) y el 4,2% ( $\pm 0,8$ ) del total de recuentos de sondas de ADN ( $\pm$  MEB), respectivamente. Entre las personas VIH+, *P. tanneriae* (11,1%  $\pm 4,0$ ) y *D. pneumosintes* (9,4%  $\pm 1,6$ ) fueron las especies bacterianas detectadas en proporciones medias más altas. Se ha demostrado que las comunidades bacterianas dentro de la cavidad oral pueden ser reservorios de patógenos respiratorios. Pocos investigadores han examinado las infecciones endodónticas como posibles fuentes de esos microorganismos. En esta investigación, se buscó la presencia de patógenos pulmonares importantes, incluidos *D. pneumosintes*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Legionella pneumophila* en la microbiota del conducto radicular. Debido a que se sabe que los pacientes con VIH/SIDA tienen un riesgo elevado de contraer enfermedades respiratorias graves, se compararon muestras de pacientes VIH negativos y VIH positivos. *D. pneumosintes* fue abundante en ambos grupos, pero todos los demás patógenos se encontraron en niveles mucho más bajos y no hubo diferencias significativas entre los grupos con respecto a su presencia o proporciones. *C. albicans* es una levadura comensal oral que, en presencia de condiciones predisponentes, puede elevarse en los niveles y conducir a estados patológicos. Suele estar involucrado en infecciones oportunistas en pacientes con SIDA.

Y precisamente Persoon I.(39) realiza un estudio donde correlaciona el microbioma con el bacterioma oral en el conducto radicular. Se identificaron un total de 338 unidades taxonómicas operativas (OTU) bacterianas, 28 OTU ITS1 y 24 OTU ITS2. *Candida* y *Malassezia* fueron los hongos identificados con mayor frecuencia. No se encontraron diferencias entre los perfiles de bacterioma y microbioma de los segmentos radiculares apicales y coronales. El bacterioma de

los segmentos de raíz positivos para hongos contenía más *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, cuatro *Lactobacillus* OTU diferentes, *Propionibacterium* y *Streptococcus*. Una matriz de correlación de Spearman entre bacteriomas y microbiomas no identificó correlaciones, pero se pudieron observar grupos separados. Las bacterias pueden invadir la dentina con más facilidad y degradarla. Por lo tanto, pueden facilitar la colonización de hongos. Aunque la correlación entre las cargas no pudo confirmarse dentro de este estudio, tal correlación podría confirmarse en estudios que utilizan más muestras y recopilan datos sobre la duración de la infección. El posible efecto de la coexistencia de bacterias y hongos en el proceso de la enfermedad y el éxito del tratamiento aún no está claro. En infecciones análogas, se sabe que la presencia de hongos además de bacterias complica la infección y reduce el éxito del tratamiento.

En otro estudio Diesendorf N.(40) estudia *Roseomonas mucosa* aislada del conducto radicular en 13 dientes infectados, el género *Roseomonas* comprende un grupo de bacterias Gram-negativas, aeróbicas, no fermentadoras, de crecimiento lento, de pigmentación rosa, que se han aislado de fuentes ambientales como el agua y el suelo, pero que también están asociadas con infecciones humanas. En el estudio presentado aquí, *Roseomonas mucosa* se identificó por primera vez como parte de la microbiota endodóntica de un conducto radicular infectado y se caracterizó con respecto al crecimiento, la susceptibilidad a los antibióticos y la formación de biopelículas. La cepa aislada de *R. mucosa* mostró una fuerte formación de mucosidad y fue resistente a la mayoría de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, mientras que fue susceptible a los aminoglucósidos, carbapenemas, fluoroquinolonas, polimixinas, sulfonamidas y tetraciclinas. La formación de biopelículas en superficies artificiales (vidrio, poliestireno, gutapercha) y en dientes se analizó mediante ensayos colorimétricos y microscópicos de fluorescencia. Mientras que se formaron biopelículas sólidas en las superficies de vidrio, en la superficie hidrófoba de las puntas de gutapercha no se observaron biopelículas irregulares confluentes sino localizadas. Además, *R. mucosa* pudo formar biopelículas en la dentina. Los

datos obtenidos indican que *R. mucosa* puede apoyar el establecimiento de biopelículas endodónticas y, además, los conductos radiculares infectados podrían servir como una vía de entrada para las infecciones del torrente sanguíneo por este patógeno emergente. En siete casos (de trece) se pudieron aislar microorganismos, mientras que seis muestras fueron estériles. La mayoría de los aislamientos se identificaron antes como infectantes del conducto radicular humano, por ejemplo, bacterias como *Actinomyces oris*, *E. faecalis*, especies de *Lactobacillus*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus sanguinis* o levaduras como *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*. Entre los microorganismos aislados de una lima utilizada para preparar los conductos radiculares de un diente inflamado, se observaron con frecuencia colonias pigmentadas de color blanco rosado con una apariencia mucóide, casi líquida. Los cultivos puros se obtuvieron volviendo a sembrar cuidadosamente y mediante espectrometría de masas MALDI-ToF se identificaron las bacterias correspondientes como *R. mucosa* con una puntuación de 2,4. Las bacterias crecieron en todos los medios probados, con preferencia en medio rico en BHI. Se observó formación de mucosidad en todos los medios sólidos probados, así como en cultivos líquidos a partir de los cuales el polímero extracelular podía recogerse fácilmente por filtración. La apariencia extremadamente viscosa, casi líquida, de las colonias de *R. mucosa* indicó una fuerte formación de polímeros extracelulares, que pueden proteger a las bacterias contra la deshidratación y las condiciones ambientales perjudiciales. Además, el polímero podría favorecer la formación de biopelículas. Las biopelículas en la pared del conducto radicular que se encuentran en este estudio están involucradas en la periodontitis apical primaria y pueden favorecer la colonización de los túbulos dentinarios, lo que podría contribuir posteriormente a la resistencia al tratamiento con desinfectantes y antibióticos. *R. mucosa* fue sensible a la ceftriaxona, mientras que todas las demás cefalosporinas y penicilinas resultaron completamente resistentes. El autor sugiere la producción de  $\beta$ -lactamasa como motivo de la resistencia. En consecuencia, la resistencia observada a estos antibióticos también podría proteger otras bacterias patógenas

del tratamiento con antibióticos cuando crecen junto con *R. mucosa* en biopelículas multiespecies en el huésped.

Sakamoto M.(41) presenta un estudio de espiroquetas en infecciones endodónticas. En general, se identificaron 28 taxones diferentes de los 431 clones secuenciados: 9 especies cultivables y con nombre válido, 1 cepa cultivable aún no caracterizada y 18 filotipos aún no cultivados, 17 de los cuales eran nuevos. La gran mayoría de los clones (94%) eran de especies nombradas cultivables. Los números de *Treponema* las especies/filotipos por muestra positiva seleccionada oscilaron entre 2 y 12. La PCR anidada específica de especie detectó *T. denticola*, *T. socranskii* y *T. maltophilum* en 59 (66 %), 33 (37%) y 26 (29%) de los 90 casos estudiados de infecciones endodónticas primarias, respectivamente. El análisis de la biblioteca de clones reveló diversas especies/filotipos de *Treponema* como parte de la microbiota asociada con infecciones endodónticas asintomáticas y sintomáticas (abscesos). Aunque se revelaron varios filotipos de *Treponema* aún no cultivados, incluidos taxones nuevos, las especies nombradas cultivables fueron más abundantes y se detectaron con más frecuencia.

Un segundo estudio de espiroquetas fue presentado por Nóbrega L.(42) busca investigar la prevalencia de ocho treponemas orales (*Treponema denticola*, *T. amylovorum*, *T. maltophilum*, *T. medium*, *T. pectinovorum*, *T. socranskii*, *T. vicentii* y *T. lecithinolyticum*) en dientes con fracaso del tratamiento endodóntico y lesión periapical. 39 muestras fueron analizadas y se detectaron especies de treponema en el 56,5% de las muestras de conducto radicular analizadas (22/39). Los conductos radiculares individuales produjeron un máximo de 6 especies objetivo de *Treponema*, que se detectaron en el 2,56% de las muestras de conducto radicular analizadas (1/39). Las especies detectadas con mayor frecuencia fueron *T. denticola* (30,8% - 12/39), *T. maltophilum* (30,8% - 12/39), *T. medium* (20,5% - 8/39) y *T. socranskii* (20,5% - 8 /39), seguido de *T. pectinovorum* (17,9% - 7/39) y *T. vicenii* (17,9% - 7/39). Se observaron niveles de detección bajos para *T. lecithinolyticum* (10,2 % - 4/39) y *T. amylovorum* (7,6 % -

3/39). La detección de una amplia variedad de especies de Treponema en infecciones persistentes/secundarias indica que la microbiota del conducto radicular parece ser aún más compleja en los dientes con fracaso del tratamiento endodóntico que la que se muestra previamente en la literatura endodóntica.

Davanian H.(43) realiza un estudio inmunológico en periodontitis apical persistente, el autor parte de la premisa que las bacterias oportunistas en la periodontitis apical (PA) pueden representar un riesgo de diseminación sistémica. Las células T invariantes asociadas a la mucosa (MAIT) son células T similares a las innatas con una actividad antimicrobiana amplia y potente importante para la integridad de la mucosa intestinal. Recientemente se demostró que las células MAIT están presentes en el tejido de la mucosa oral, pero se desconoce la participación de las células MAIT en la PA. Un total de 52 muestras de tejido (25 AP + 27 tejidos de control gingival) calificaron para comparaciones posteriores. Las lecturas obtenidas se agruparon con una identidad de secuencia del 99% en 642 unidades taxonómicas operativas (OTU), que se asignaron a taxones para obtener perfiles bacterianos. Entre estos perfiles de composición, se observó una gran variación interpersonal en la diversidad y abundancia de taxones bacterianos en lesiones AP, así como en tejidos gingivales con taxones predominantes pertenecientes a los filos Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria, Spirochaetes y Synergistetes. A nivel de género, las UTO predominantes se asignaron a Burkholderia-Paraburkholderia, Pseudomonas, Achromobacter y Fusobacterium. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la abundancia relativa de taxones bacterianos en el filo o género al comparar el tejido de control gingival y el tejido AP. Aunque el estudio no muestra porcentaje de los micro organismos podemos apreciar que los phyla corresponde a estudios revisados anteriormente. La AP persistente en raíces llenas de raíces u obliteradas se relaciona comúnmente con el crecimiento de bacterias no eliminadas que quedan de la AP primaria. Como se sabe que las células MAIT detectan la actividad bacteriana a través del reconocimiento de metabolitos de riboflavina, la composición y la capacidad

metabólica de la microbiota en estos tejidos AP fue de interés. Como tejidos de control, se eligió deliberadamente tejidos orales del colgajo gingival desprendido quirúrgicamente de los mismos pacientes, ya que los tejidos gingivales tienen un entorno fisiológico similar al AP, es decir, en un entorno oral constantemente expuesto a la microbiota oral del propio paciente. Curiosamente, el análisis cuantitativo indica que AP y los tejidos gingivales tenían números similares de copias del gen bacteriano 16S, pero factores clínicos como presencia de fístula y edad avanzada del paciente, se asociaron con una mayor carga bacteriana de 16S en los tejidos AP pero no en los tejidos de control, lo que indica que el microbioma AP está bajo la influencia de estos factores. Aunque se observó una correlación débil con la edad alta del paciente, la translocación microbiana en pacientes de edad avanzada presenta un mayor riesgo para la salud. A diferencia de estudios anteriores, el estudio de Davanian H.(43) empleó una vista integrada de datos inmunológicos y de microbioma para iluminar las interacciones entre los parámetros inmunitarios y la composición microbiana del tejido en AP, e identificó por primera vez un papel potencial de las células MAIT en una enfermedad que se manifiesta en la cavidad oral. Dado que las células MAIT están presentes, pero no enriquecidas en los tejidos AP a pesar de la presencia de bacterias ectópicas, los mecanismos reguladores proporcionados por el huésped o los factores codificados por patógenos podrían prevalecer para apoyar la inflamación tisular persistente, lo que motiva aún más las intervenciones terapéuticas de la periodontitis apical persistente.

Manoharan L.(44) realiza un estudio comparando la microbiota del conducto radicular en 30 dientes infectados por trauma dental y 32 piezas sin trauma. En el estudio de las muestras *Fusobacterium nucleatum* fue la especie aislada más prevalente, detectada en el 50% y el 24,14% de los dientes traumatizados y no traumatizados, respectivamente. Además, *F. nucleatum* ssp. *Polymorphum* se identificó exclusivamente en dientes traumatizados. Otras especies comunes cultivables en conductos radiculares fueron *Dialister invisus*, *Parvimonas micra*, *Pervotella nigrescens* y *Peptostreptococcus infirmus*. De 20 especies

detectadas exclusivamente en dientes traumatizados, las más comunes fueron *Prevotella tanneriae*, *Campylobacter showae* y *Campylobacter rectus*. Treinta especies fueron detectadas exclusivamente en dientes no traumatizados, siendo las más prevalentes *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Atopobium parvulum*. En particular, *Enterococcus faecalis*, un patógeno reconocido en infecciones endodónticas posteriores al tratamiento, solo se detectó en dientes no relacionados con traumatismos, lo que podría significar que el micro organismo pudiera ser implantado iatrogénicamente en alguna etapa del tratamiento radicular.

Lopes E.(15) estudia lesiones endo-peridontales, estas enfermedades consisten en enfermedad pulpar y periodontal en el mismo diente. Evalúa la microbiota del conducto radicular RC y de las bolsas periodontales PP. Los microbiomas de los RC mostraron la presencia de ocho filos bacterianos, incluidos Firmicutes (75,68%), Proteobacteria (10,5%), Actinobacteria (7,96%), Bacteroidetes (4,03%), Synergistetes (1,43%), Spirochaetes (0,2%), Chloroflexi (0,14%) y fusobacterias (0,07%), se identificaron un total de 68 géneros bacterianos en los CR, de los cuales 37 tenían un porcentaje de UTO superior al 0,1%. Las CR fueron predominantes en *Enterococcus* (28,53%), *Parvimonas* (12,58%), *Stomatobaculum* (6,11%), *Peptoniphilaceae* [G-1] (5,32%), *Peptostreptococcus* (4,73%), *Mogibacterium* (3,64%), *Olsenella* (3,48%), *Bacteroidaceae* [G-1] (2,85%), *Filifactor* (2,41%), *Oribacterium* (2,41%), *Pseudomonas* (2,07%) y *Campylobacter* (1,66%).

Los microbiomas de los PP mostraron la presencia de nueve filos, incluidos Firmicutes (57,86%), Proteobacteria (24,8%), Actinobacteria (5,62%), Saccharibacteria (TM7) (3,72%), Fusobacteria (3,13%), Bacteroidetes (2,96%), Synergistetes (1,29%), Spirochaetes (0,39%) y Chloroflexi (0,23%)

Se identificaron un total de 73 géneros bacterianos en los PP, 47 de ellos con un porcentaje de UTO superior al 0,1%, con mayor predominio de *Streptococcus* (26,33%), *Desulfobulbus* (18,18%), *Enterococcus* (8,01%), *Parvimonas* (7,1%),

Saccharibacteria (TM7) (3,72%), Fusobacterium (3,12%), Peptoniphilaceae (2,51%) y Actinomyces (2,45%).

La microbiota RC fue menos compleja y diversa que la PP. Hubo interacciones entre las comunidades microbianas. Las especies compartidas pueden señalar la comunicación entre los microbiomas endodónticos y periodontales. También se destaca que los microorganismos relacionados con las enfermedades endodónticas-periodontales tienen una fuerte correlación con las enfermedades sistémicas.

En todos los estudios revisados encontramos una gran diversidad bacteriana, además de micro organismos poco estudiados en las patologías pulpares como son los hongos. Pero al parecer la manzana de la discordia en esta revisión es *Enterococcus faecalis*, y también la habitabilidad de hongos dentro de los conductos radiculares, precisamente Dumani A.(45) presenta un estudio al respecto y cuyo objetivo es determinar la frecuencia de dos importantes patógenos en las patologías periapicales: *Enterococcus faecalis* y *Candida albicans*. Estudia 117 piezas con pulpa necrosada y 114 con fracaso terapéutico endodóntico. *E.faecalis* se identificó en 19 (16%) de 117 canales necróticos y 11 (10%) de 114 canales retratados y *C.albicans* se identificó en 23 (20%) y 13 (11%) canales necróticos y retratados, respectivamente por Análisis PCR. Estos microorganismos son las especies más resistentes en la cavidad bucal a los procedimientos de tratamiento del conducto radicular, como se muestra en estudios recientes, y pueden sobrevivir en las condiciones desafiantes del ecosistema del conducto radicular. Los resultados de este estudio mostraron que la tasa de *E. faecalis* en el retratamiento fue significativamente menor que en estudios anteriores en concordancia con estudios evaluados en esta revisión. Además, la prevalencia de *E. faecalis* no fue estadísticamente diferente entre los casos necróticos y de retratamiento. Cabe señalar que todas las muestras examinadas contenían bacterias. Estos hallazgos se confirmaron mediante amplificación con cebadores universales 16S rRNA, que generaron el amplicón predicho para todos los casos. La presencia de levaduras es más común en

infecciones persistentes después de preparaciones de conductos radiculares, probablemente debido a la contaminación durante el tratamiento, o en casos de dientes obturados con lesiones periapicales resistentes a la terapia. En el presente estudio, la prevalencia de *C. albicans* no fue estadísticamente diferente entre conductos radiculares necróticos y retraídos.

En conclusión, los resultados mostraron que *C. albicans* y *E. faecalis* se asociaron con infecciones del conducto radicular en infecciones primarias y secundarias. Estos microorganismos pueden ser patógenos potentes en lesiones apicales; sin embargo, el estudio de Dumani A.(45) no proporciona pruebas sólidas que respalden esta hipótesis. Además, los análisis de PCR de dientes con lesiones periapicales revelaron que el porcentaje de *E. faecalis* era más bajo que las tasas encontradas en estudios anteriores, mientras que la prevalencia de *C. albicans* era consistente con los resultados anteriores.

A pesar de la falta de evidencia, aunque sea menor, de que los enterococos sean responsables de la inflamación periapical refractaria, la comunidad de endodoncia aparentemente ha aceptado una conexión causal como un hecho. Las técnicas moleculares son superiores para muestrear cantidades pequeñas de bacterias e identificar especies muy exigentes.

Para una investigación más significativa sobre enfermedades endodónticas utilizando técnicas moleculares, es necesario establecer salvaguardas y procedimientos estandarizados. Futuros estudios deberían evaluar los perfiles de resistencia de *C. albicans* y *E. faecalis* aislados de conductos radiculares a los agentes antisépticos utilizados en odontología.

## **Discusión**

La cavidad oral alberga en su interior una las mayores cantidades de microorganismos, se habla principalmente de bacterias, que se encuentran distribuidas en más de 700 especies, y muchas aún no han sido identificadas. No obstante, con estudios genómicos sobre todo en el amplicón 16S(2) se llegó a determinar microorganismos que por otros métodos era imposible. Los estudios

revisados concuerdan en su mayoría con una microbiota común similar, inclusive en distintas patologías endodónticas, lo que llevaría más bien a hablar de ecosistemas microbianos (polimicrobiana) capaces de elevar la virulencia(29). En varios estudios se fija más la atención a microorganismos con porcentaje mínimo de prevalencia que son miembros de estos ecosistemas, pero capaces de desencadenar o servir como medio para que otras especies prosperen(39), (40). Los métodos moleculares suelen ser más rápidos, fáciles y precisos que los métodos de cultivo. La PCR es tan sensible que puede detectar la presencia de menos de 10 bacterias en una muestra, pero una gran desventaja importante de los métodos moleculares es que los organismos no se pueden cultivar, por lo que se desconoce si las células son viables(45).

A lo largo de los años, la mayoría de los estudios han demostrado que la microbiota recuperada de los dientes refractarios al tratamiento endodóntico consistía predominantemente en bacterias grampositivas, especialmente *Enterococcus faecalis*. Sin embargo, la alta tasa de detección de esta especie puede haber sido influenciada por limitaciones significativas de las técnicas microbianas, como la baja sensibilidad y la incapacidad de detectar frotis fastidiosos y aún no cultivados, ya que tales limitaciones pueden hacer que se subestime la diversidad bacteriana de diversos ecosistemas orales. Asimismo, se necesitan más estudios que evalúen variables como el origen étnico, hábitos alimentarios, higiene, salud bucal, tipo de infección, contexto sociodemográfico, entre otras. Es importante conocer los microorganismos que habitan en los dientes temporales infectados, los cuales podrían estar dando lugar y/o agravando una infección persistente en otra parte del cuerpo humano. Además, dada la gran variedad de microorganismos endodónticos y sus diversos factores de virulencia, se puede determinar la especie microbiana exacta en términos de si algún grupo específico de bacterias está asociado con síntomas y signos clínicos endodónticos específicos.

Tradicionalmente, los estudios dependientes del cultivo han asociado el fracaso del tratamiento del conducto radicular con la presencia de bacterias Gram

positivas, especialmente *E. faecalis*. Pero la evaluación de los artículos de esta revisión bibliográfica, ha restado esta teoría, si bien, *E. faecalis* se encuentra presente en la mayoría de las muestras, parece ser que no es determinante en el fracaso del tratamiento. Sino más bien micro organismos que hasta la fecha no se encuentran registrados podrían ser determinantes(28). *E. faecalis* se recupera con frecuencia de infecciones persistentes secundarias asociadas con fallas en el tratamiento, y, por lo tanto, los casos que parecen ser tratados adecuadamente también pueden fallar debido a la persistencia de este organismo(46). Según Vidana et al.(47) las infecciones por *E. faecalis* probablemente no se derivan de la microflora normal del propio paciente, lo que indica que estas infecciones son de origen exógeno, por lo que las implicaciones en torno a la contaminación por mala restauración, grietas en los dientes, túbulos dentinarios expuestos y enfermedad periodontal tiene que ser considerado.

La mayoría de los estudios concuerdan en los filos bacterianos predominantes tanto en conductos radiculares con patología periapical como sin patología periapical: Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria, Actinobacteria, Synergistetes, Spirochaete, TM7, Tenericutes, SR1. Pero también reportan gran diversidad en la composición microbiana de un paciente a otro, también reportan que la prevalencia puede ser dependiente de la región geográfica donde se realizó el estudio(32). Así mismo se concuerda que los estados patológicos en conductos radiculares y tejidos periapicales no se deben a un micro organismo determinado, sino a un consorcio altamente organizado de micro organismos, siendo posiblemente sus componentes minoritarios los determinantes para la supervivencia del resto, propiciando el medio y los nutrientes necesarios para que se incremente la virulencia de estos biofilms.

Se debe prestar especial atención un estudio que aisló *Roseomonas mucosa*(40), que mostró una fuerte formación de mucosidad y fue resistente a la mayoría de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, lo que podría coadyuvar a la supervivencia del resto de las especies colonizadoras.

Una proporción considerable de las infecciones del conducto radicular contienen hongos, aunque la diversidad fúngica es limitada. Sin embargo, cuando los hongos están presentes, la composición del bacterioma es claramente diferente. La interacción entre bacterias y hongos en las infecciones del conducto radicular puede complicar la infección y requerir estrategias de tratamiento alternativas(39).

Al analizar los diferentes estudios incluidos en la revisión narrativa se encuentra una gran heterogeneidad en varios aspectos de las investigaciones:

- Toma de muestra: La mayoría de los estudios realiza la recolección de la muestra con conos de papel pese a que este método es susceptible a absorber micro organismos de zonas del conducto radicular que no se busca obtener (como el tercio coronal o inclusive de la misma corona remanente. Otros estudios lo hacen con limas endodónticas, aunque todavía tiene cierta susceptibilidad como la anterior parece ser un método más preciso. Un tercer método empleado y al parecer más auténtico a la hora de recolectar la muestra dentro de los conductos radiculares es la absorción con aguja muy fina, pero con este método podríamos absorber sangre y fluidos del paciente, lo que podría repercutir con el resultado.
- Procesamiento del rRNA: La utilización de diferentes fabricantes de Kits de procesamiento ADN podría hacer variar el resultado.
- Diferente número de cebadores: Los estudios analizados utilizan diferente número de cebadores para la secuenciación de ADN, lo que repercute en el hallazgo o no de especies de micro organismos, muchos estudios se centran en los micro organismos más comunes, dejando de lado las poblaciones microbianas minoritarias.
- Exclusión de reinos: la mayoría de los estudios excluye de sus pesquisas a los hongos, como ser *C. albicans*, que, aunque en un porcentaje minoritario, podría determinar la supervivencia de las especies que se encuentran en un porcentaje mayoritario.

- Comparación de base de datos: Los estudios incluidos en esta revisión comparan sus muestras procesadas con diferentes bases de datos de genomas orales, como ser eHOMD, GenBank, Greengenes, etc., lo que podría provocar un sesgo en los resultados.

Una limitación en esta revisión es que sólo se utilizaron estudios con metodología de identificación bacteriana el método tradicional de cultivo y un método molecular muy usado como es la secuenciación rRNA del amplicón 16S, no se incluyeron estudios basados en el método Proteómico; no se incluye literatura gris, ni otros idiomas diferentes al inglés o español. Además, aunque los artículos consultados corresponden a las revistas más importante del área, ninguno mostró una calidad metodológica alta.

## **Conclusión**

La microbiota de la cavidad oral juega un papel importante en las enfermedades pulpares y periapicales. Históricamente, hace 100 años se sabía poco sobre estos micro organismos, pero después de un siglo de investigaciones, solo ahora se pueden revelar muchos de los secretos íntimos del crecimiento, expansión, persistencia, actividades comunitarias y virulencia microbianas. Sin embargo, con las capacidades de los micro organismos para la mutación, la detección de quórum y la transferencia de información, los investigadores se ven en apuros para mantenerse al día con los cambios y los desafíos que plantea una variedad asombrosamente amplia de especies bacterianas, tanto para el investigador como para el odontólogo. Afortunadamente, el desarrollo y la expansión de una amplia gama de técnicas de investigación de biología molecular han permitido que la odontología y sus campos médicos asociados intenten seguir el ritmo del amplio mundo de la microbiología oral(46).

Microbiota del conducto radicular con y sin patología periapical

En el presente estudio conforme a la evaluación de los artículos revisados se determinó la microbiota del conducto radicular sin patología periapical donde las especies más prevalentes fueron Firmicutes 40.3%, Bacteroidetes 27.3%,

Fusobacterias 10.7%, Actinobacterias 10.6%, Proteobacterias 9.04%, Spirochaetes 2.8%, Tenericutes 0.5%.

En conductos radiculares con patología periapical los Phyla mas prevalentes fueron Firmicutes 67.3%, Bacteroidetes 9%, Actinobacteria 9%, Proteobacteria 8.4%, Synergistetes 1.4%, Spirochaetes 0.2%, Chloroflexi 0.1%, Fusobacterias 0.07%.

Se debe reconocer que estos resultados solo son referenciales y no concluyentes debido a las observaciones que se trataron en el acápite de discusión. Por lo tanto, no deben ser tomados para estudios futuros.

#### Precisión rRNA 16S

La identificación tradicional de bacterias sobre la base de características fenotípicas generalmente no es tan precisa como la identificación basada en métodos genotípicos. La comparación de la secuencia del gen 16S rRNA bacteriano se ha convertido en una técnica genética preferida. El análisis de la secuencia del gen 16S rRNA puede identificar mejor las cepas pobremente descritas, raramente aisladas o fenotípicamente aberrantes, puede usarse de forma rutinaria para la identificación de micobacterias y puede conducir al reconocimiento de nuevos patógenos y bacterias no cultivadas. Clarridge J.(48) expone que los problemas persisten porque las secuencias en algunas bases de datos no son precisas, no existe una definición cuantitativa consensuada de género o especie basada en los datos de la secuencia del gen 16S rRNA, la proliferación de nombres de especies basados en diferencias genéticas y fenotípicas mínimas plantea dificultades de comunicación, y la micro heterogeneidad en la secuencia del gen 16S rRNA dentro de una especie es común. A pesar de su precisión, el análisis de la secuencia del gen 16S rRNA carece de un uso generalizado más allá de los grandes laboratorios de referencia debido a consideraciones técnicas y económicas. No obstante, la introducción de secuenciadores de sobremesa ahora permite a los pequeños laboratorios realizar su secuenciación de ARNr 16S internamente en cuestión de días, con protocolos más sencillos de poner en práctica como defiende Sanschagrín S. (49). Aunque

la tecnología es tal que la lectura de la secuencia es cada vez más precisa, estimamos que puede haber un error del operador al procesar de 1 en 5.000 a 1 en 10.000 pb (pares base), Los errores a este nivel no hacen una diferencia en el nombre de la especie, lo que nos indica la exactitud es muy alta(48).

### Nuevas Especies

El presente estudio también determinó la identificación de nuevas especies de microorganismos como ser un filotipo aún no cultivado (*Treponema* sp. taxón oral IV:18:C9), y 17 nuevos filotipos de *Treponema* aún sin cultivar, es decir, taxones que nunca se habían detectado en otros sitios.(41). Además se encontraron micro organismos que habitualmente se encuentran en otros medios como TM7 una especie candidata encontrada en muestras ambientales; *Deinococcus-Thermus* conocido en ambientes extremos, recientemente encontrado en el estómago humano y ahora en cavidad bucal; Cianobacterias y *Chloroflexi* conocidas por vivir en el agua y en el suelo; SR1, originalmente encontrado en ambientes marinos, terrestres, agua dulce y asociado también a animales; OD1, filo recientemente conocido solo por secuencias de rRNA 16S.

La mayoría de los estudios revisados concluyó que *E. faecalis* y *P. gingivalis* son altamente resistentes a los procedimientos endodónticos, como se mencionó anteriormente los microorganismos encontrados en porcentajes mínimos podrían determinar su prevalencia. No obstante, otros estudios refutan esta hipótesis, *E. faecalis* (además de *C. albicans*) se asociaron con infecciones del conducto radicular en infecciones primarias y secundarias. Estos microorganismos pueden ser patógenos potentes en lesiones apicales, sin embargo, los análisis de PCR de estos estudios en dientes con lesiones periapicales revelaron que el porcentaje de *E. faecalis* era más bajo que las tasas encontradas en otros estudios, mientras que la prevalencia de *C. albicans* era consistente con los resultados anteriores(45).

Los resultados de este estudio muestran que la microbiota encontrada en los conductos radiculares de dientes con infección endodóntica primaria y absceso apical agudo es polimicrobiana, con predominio de bacterias anaerobias Gram

negativas. También es razonable concluir que la gravedad de la enfermedad (intensidad de los signos y síntomas) puede estar relacionada con la composición de la comunidad bacteriana. Esto significa que el resultado de la enfermedad es el resultado de una suma de atributos de una comunidad patógena. Esto indica que la infección endodóntica tiene una etiología heterogénea, donde ninguna especie puede ser considerada como el principal patógeno endodóntico. Múltiples combinaciones bacterianas desempeñan un papel en la etiología de la enfermedad, actuando sinérgicamente y aumentando la virulencia, lo que provoca más daño al huésped.

En base a los estudios revisados que utilizaron métodos veraces y actuales, se sugiere revisar, replantear y posiblemente mejorar los métodos de irrigación en el momento del tratamiento endodóntico y es posible que deba combinarse una serie de irrigantes intra conducto y medicaciones entre citas para obtener resultados satisfactorios(50), así mismo se debe evaluar la medicación sistémica que el profesional imparta a sus pacientes, concientizando la buena administración para evitar resistencia microbiana. Se debe fomentar más estudios de identificación microbiana de última tecnología como la secuenciación rRNA 16S, y buscar nuevos estudios que cuenten con metodología de identificación Proteómica(20), identificación de biopelículas por microscopia electrónica de barrido (SEM)(51) y debido a que las bacterias oportunistas en la periodontitis apical pueden representar un riesgo de diseminación sistémica(38), son necesarios también estudios inmunológicos en los tejidos involucrados en las patologías endodónticas(43), además de ampliar el conocimiento hacia micro organismos importantes para la medicina, porque se comprobó que las patologías periapicales albergan micro organismos que podrían desencadenar enfermedades importantes(38).

A la fecha, existen muy pocos laboratorios en Bolivia que están preparados para realizar estudios moleculares (a saber, uno) pero limitado solo a 4 patógenos (S. mutans, P. gingivalis, P. intermedia y T. denticola) es por eso que recomienda a las autoridades de la Facultad de Odontología aunar esfuerzos y realizar

convenio con la Facultad de Bioquímica y Farmacia para iniciar estudios moleculares de investigación en Bolivia.

Para concluir, si bien este estudio demostró la microbiota presente en conductos radiculares con y sin patología periapical se sugiere a los investigadores buscar una estandarización en los protocolos para tal cometido, el esfuerzo de todos los autores es plausible y se abrió el camino a un conocimiento que debe sembrarse desde pregrado a los estudiantes de la materia de microbiología de la Facultad de Odontología de la UMSA y de otras universidades.

## Referencias Bibliográficas

1. Liébana Ureña J. Microbiología Oral. 2da ed. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana de España; 2002. 5–7 p.
2. Rodicio M del R, Mendoza M del C. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica [Internet]. 2004 Apr 1 [cited 2022 Jan 21];22(4):238–45. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-identificacion-bacteriana-mediante-secuenciacion-del-13059055>
3. Dobell Clifford, Leeuwenhoek Antoni van. Antony van Leeuwenhoek and his “Little animals”; being some account of the father of protozoology and bacteriology and his multifarious discoveries in these disciplines [Internet]. New York, Harcourt, Brace and company,; 1932. 516 p. Available from: <https://www.biodiversitylibrary.org/item/47806>
4. Miller WD (Willoughby D. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. Philadelphia? [publisher not identified]; 1894.
5. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. In 1976.
6. Jhahharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK. Biofilm in endodontics: A review. J Int Soc Prev Community Dent [Internet]. 2015;5(1):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25767760>
7. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. Medicina oral, patología oral y cirugía bucal [Internet]. 2019 May 1;24(3):e364–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31041915>
8. Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daood U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics-Current Status and Future Directions. Int J Mol Sci

- [Internet]. 2017 Aug 11;18(8):1748. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28800075>
9. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2002 Apr;15(2):167–93. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11932229>
  10. Wong J, Manoil D, Näsman P, Belibasakis GN, Neelakantan P. Microbiological Aspects of Root Canal Infections and Disinfection Strategies: An Update Review on the Current Knowledge and Challenges. *Frontiers in Oral Health* [Internet]. 2021;2. Available from:  
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/froh.2021.672887>
  11. Siqueira Jr JF, Rôças IN. Bacterial pathogenesis and mediators in apical periodontitis. *Brazilian Dental Journal* [Internet]. 2007 [cited 2022 Jan 21];18(4):267–80. Available from:  
[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-64402007000400001&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402007000400001&lng=en&tlng=en)
  12. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018 Dec;16(12):745–59. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30301974>
  13. Michael JJ, L AS. Bacterial Identification for Publication: When Is Enough Enough? *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2002 Jun 1;40(6):1887–91. Available from: <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.1887-1891.2002>
  14. Baker JL, Bor B, Agnello M, Shi W, He X. Ecology of the Oral Microbiome: Beyond Bacteria. *Trends Microbiol* [Internet]. 2017/01/11. 2017 May;25(5):362–74. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28089325>
  15. Lopes EM, Passini MRZ, Kishi LT, Chen T, Paster BJ, Gomes BPF. Interrelationship between the Microbial Communities of the Root Canals

- and Periodontal Pockets in Combined Endodontic-Periodontal Diseases. *Microorganisms* [Internet]. 2021 Sep 10;9(9):1925. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34576820>
16. Pinheiro ET, Karygianni L, Attin T, Thurnheer T. Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and EDTA in Combination with High-Purity Nisin on an Endodontic-like Biofilm Model. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2021 Sep 21;10(9):1141. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34572723>
  17. Galicia JC, Guzzi PH, Giorgi FM, Khan AA. Predicting the response of the dental pulp to SARS-CoV2 infection: a transcriptome-wide effect cross-analysis. *Genes Immun* [Internet]. 2020/10/03. 2020 Nov;21(5):360–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33011745>
  18. Woo PCY, Lau SKP, Teng JLL, Tse H, Yuen K-Y. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2008 Oct 1;14(10):908–34. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x>
  19. Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH. *Microbiología y Tratamiento de las Infecciones Endodónticas*. In: Cohen Vías de la Pulpa. 10th ed. Barcelona: Elsevier, Mosby; 2011. p. 559–600.
  20. Bou G, Fernández-Olmos A, García C, Sáez-Nieto JA, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2022 Jan 21];29(8):601–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0213005X11001571>
  21. Brito LCN, Teles FR, Teles RP, França EC, Ribeiro-Sobrinho AP, Haffajee AD, et al. Use of Multiple-Displacement Amplification and Checkerboard DNA-DNA Hybridization To Examine the Microbiota of Endodontic Infections. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2007 Sep 1;45(9):3039–49. Available from: <https://doi.org/10.1128/JCM.02618-06>

22. Santos AL, Siqueira Jr JF, Rôças IN, Jesus EC, Rosado AS, Tiedje JM. Comparing the bacterial diversity of acute and chronic dental root canal infections. *PLoS One* [Internet]. 2011/11/21. 2011;6(11):e28088–e28088. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22132218>
23. Anderson AC, Al-Ahmad A, Elamin F, Jonas D, Mirghani Y, Schilhabel M, et al. Comparison of the bacterial composition and structure in symptomatic and asymptomatic endodontic infections associated with root-filled teeth using pyrosequencing. *PLoS One* [Internet]. 2013 Dec 30;8(12):e84960–e84960. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24386438>
24. Rôças IN, Siqueira Jr JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012/03/07. 2012 May;50(5):1721–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22403423>
25. Tzanetakis GN, Azcarate-Peril MA, Zachaki S, Panopoulos P, Kontakiotis EG, Madianos PN, et al. Comparison of Bacterial Community Composition of Primary and Persistent Endodontic Infections Using Pyrosequencing. *J Endod* [Internet]. 2015/04/21. 2015 Aug;41(8):1226–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25906920>
26. Bouillaguet S, Manoil D, Girard M, Louis J, Gaïa N, Leo S, et al. Root Microbiota in Primary and Secondary Apical Periodontitis. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 Oct 9;9:2374. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30356779>
27. Henriques LCF, de Brito LCN, Tavares WLF, Teles RP, Vieira LQ, Teles FR, et al. Microbial Ecosystem Analysis in Root Canal Infections Refractory to Endodontic Treatment. *J Endod* [Internet]. 2016/07/01. 2016 Aug;42(8):1239–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27377440>
28. Barbosa-Ribeiro M, Arruda-Vasconcelos R, Mendes Louzada L, Rodrigues Lima A, Marciano M, Affonso de Almeida JF, et al.

- Microbiological Investigation in Teeth with Persistent/Secondary Endodontic Infection in Different Stages of Root Canal Retreatment. *Eur Endod J* [Internet]. 2020 Dec;5(3):219–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33353920>
29. NÓBREGA LMM, MONTAGNER F, RIBEIRO AC, MAYER MAP, GOMES BPF de A. Bacterial diversity of symptomatic primary endodontic infection by clonal analysis. *Brazilian Oral Research* [Internet]. 2016 Oct 10 [cited 2022 Feb 4];30(1). Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-83242016000100293&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242016000100293&lng=en&tlng=en)
30. Rovai E da S, Matos F de S, Kerbauy WD, Cardoso FG da R, Martinho FC, Oliveira LD de, et al. Microbial Profile and Endotoxin Levels in Primary Periodontal Lesions with Secondary Endodontic Involvement. *Brazilian Dental Journal* [Internet]. 2019 Jul 22 [cited 2022 Jan 22];30(4):356–62. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-64402019000400356&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402019000400356&tlng=en)
31. Hsiao WW, Li KL, Liu Z, Jones C, Fraser-Liggett CM, Fouad AF. Microbial transformation from normal oral microbiota to acute endodontic infections. *BMC Genomics* [Internet]. 2012 Jul 28;13:345. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22839737>
32. George N, Flamiatos E, Kawasaki K, Kim N, Carriere C, Phan B, et al. Oral microbiota species in acute apical endodontic abscesses. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2016 Mar 15;8:30989. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26983837>
33. Nóbrega LMM, Montagner F, Ribeiro AC, Mayer MAP, Gomes BPF de A. Molecular Identification of Cultivable Bacteria From Infected Root Canals Associated With Acute Apical Abscess. *Brazilian Dental Journal* [Internet]. 2016 Jun [cited 2022 Feb 24];27(3):318–24. Available from:

- [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-64402016000300318&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402016000300318&lng=en&tlng=en)
34. Korona-Glowniak I, Piatek D, Fornal E, Lukowiak A, Gerasymchuk Y, Kedziora A, et al. Patterns of Oral Microbiota in Patients with Apical Periodontitis. *J Clin Med* [Internet]. 2021 Jun 19;10(12):2707. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34205290>
  35. de Brito LCN, Doolittle-Hall J, Lee C-T, Moss K, Bambirra Júnior W, Tavares WLF, et al. The apical root canal system microbial communities determined by next-generation sequencing. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Jul 2;10(1):10932. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32616783>
  36. Pourhajibagher M, Ghorbanzadeh R, Bahador A. Culture-dependent approaches to explore the prevalence of root canal pathogens from endodontic infections. *Brazilian Oral Research* [Internet]. 2017 Dec 18 [cited 2022 Feb 19];31(0). Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1806-83242017000100293&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-83242017000100293&lng=en&tlng=en)
  37. Salas-López E-K, Casas-Flores S, López-Lozano N-E, Layseca-Espinosa E, García-Sepúlveda C-A, Niño-Moreno P-D, et al. Analysis of bacterial communities of infected primary teeth in a Mexican population. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal* [Internet]. 2020 Sep 1;25(5):e668–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32851984>
  38. Brito LCN, Sobrinho APR, Teles RP, Socransky SS, Haffajee AD, Vieira LQ, et al. Microbiologic profile of endodontic infections from HIV- and HIV+ patients using multiple-displacement amplification and checkerboard DNA-DNA hybridization. *Oral Dis* [Internet]. 2012/02/15. 2012 Sep;18(6):558–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22335194>
  39. Persoon IF, Buijs MJ, Özok AR, Crielaard W, Krom BP, Zaura E, et al. The mycobiome of root canal infections is correlated to the bacteriome.

- Clin Oral Investig [Internet]. 2016/10/22. 2017 Jun;21(5):1871–81.  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27771826>
40. Diesendorf N, Köhler S, Geißdörfer W, Grobecker-Karl T, Karl M, Burkovski A. Characterisation of *Roseomonas mucosa* isolated from the root canal of an infected tooth. BMC Res Notes [Internet]. 2017 Jun 14;10(1):212. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28615078>
  41. Sakamoto M, Siqueira Jr JF, Rôças IN, Benno Y. Diversity of spirochetes in endodontic infections. J Clin Microbiol [Internet]. 2009/03/04. 2009 May;47(5):1352–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19261792>
  42. Nóbrega LMM, Delboni MG, Martinho FC, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPPA. Treponema diversity in root canals with endodontic failure. Eur J Dent [Internet]. 2013 Jan;7(1):61–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23408792>
  43. Davanian H, Gaiser RA, Silfverberg M, Hugerth LW, Sobkowiak MJ, Lu L, et al. Mucosal-associated invariant T cells and oral microbiome in persistent apical periodontitis. Int J Oral Sci [Internet]. 2019 May 9;11(2):16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31068577>
  44. Manoharan L, Brundin M, Rakhimova O, Chávez de Paz L, Romani Vestman N. New Insights into the Microbial Profiles of Infected Root Canals in Traumatized Teeth. J Clin Med [Internet]. 2020 Nov 28;9(12):3877. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33260621>
  45. Dumani A, Yoldas O, Yilmaz S, Koksal F, Kayar B, Akcimen B, et al. Polymerase chain reaction of enterococcus faecalis and candida albicans in apical periodontitis from Turkish patients. J Clin Exp Dent [Internet]. 2012 Feb 1;4(1):e34–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24558522>
  46. Gutmann JL, Manjarrés V. Historical and Contemporary Perspectives on the Microbiological Aspects of Endodontics. Dent J (Basel) [Internet]. 2018 Sep 22;6(4):49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30249009>

47. Vidana R, Sullivan Å, Billström H, Ahlquist M, Lund B. Enterococcus faecalis infection in root canals – host-derived or exogenous source? Letters in Applied Microbiology [Internet]. 2011 Feb 1;52(2):109–15. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02972.x>
48. Clarridge 3rd JE. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2004 Oct;17(4):840–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15489351>
49. Sanschagrín S, Yergeau E. Next-generation sequencing of 16S ribosomal RNA gene amplicons. J Vis Exp [Internet]. 2014 Aug 29;(90):51709. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25226019>
50. Dubey S, Saha SG, Rajkumar B, Dhole TK. Comparative antimicrobial efficacy of selected root canal irrigants on commonly isolated microorganisms in endodontic infection. Eur J Dent [Internet]. 2017;11(1):12–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28435359>
51. Rusu D, Stratul S-I, Calniceanu H, Boariu M, Ogorescu A, Milicescu S, et al. A qualitative and semiquantitative SEM study of the morphology of the biofilm on root surfaces of human teeth with endodontic-periodontal lesions. Exp Ther Med [Internet]. 2020/10/14. 2020 Dec;20(6):201. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33133249>

## **ANEXOS**

## REVISIÓN DE DATOS

Tabla 1. Brito, L. 2007; Uso de la amplificación por desplazamiento múltiple y la hibridación ADN-ADN en tablero de ajedrez para examinar la microbiota de las infecciones endodónticas(21).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
66 total 11 a 81 años	Necrosis pulpar con o sin lesión periapical por Rx	Destrucción coronaria extensa  Tratamiento previo	Pieza se limpió con piedra pómez  Aislamiento absoluto  Desinfección P. de hidrogeno 30% H. de Sodio 2,5%  Fresa carburo estéril  Lima k10  Se cortó por debajo del mango  20 µl tampón de lisis alcalino  Almacenamiento 4°C	Hibridación ADN-ADN en damero	Las muestras se colocaron en las ranuras extendidas de un aparato Minislot 30 (Immunitics, Cambridge, MA), se concentraron en una membrana de nailon (Boehringer Mannheim) al vacío y se fijaron en la membrana mediante reticulación con luz ultravioleta (Stratalinker 1800)	77	Prevotella tanneriae exhibió los recuentos medios más altos ( $0,91 \times 10^5 \pm 0,25$ ), seguido de Acinetobacter baumannii y Prevotella oris, mientras que Streptococcus mitis exhibió los recuentos medios más bajos ( $0,01 \times 10^5 \pm 0,001$ ), seguido de Streptococcus salivarius y Actinobacillus actinomycetemcomitans. Siete especies no fueron detectadas en ninguna de las muestras no amplificadas. En muestras amplificadas, P. tanneriae exhibió los recuentos medios más altos $\times 10^5$ , $3,32 \pm 0,69$ , seguido de P. oris y Streptococcus mutans, mientras que Campylobacter concisus exhibió los recuentos medios más bajos ( $0,15 \times 10^5 \pm 0,02$ ), seguido de Leptotrichia buccalis y Streptococcus salivarius.

Tabla 2. Sakamoto, M. 2009; Diversidad de espiroquetas en las infecciones endodónticas(41).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
90 total  32 Asintomáticos Perio Apical Crónica  10 Perio Apical Aguda  48 Abseso apical agudo	Uniradiculares  Lesion cariosa  Necrosis pulpar  Periodontitis apical RX	Bolsa Periodontal >4mm  Fistula	PAC o PAA puntas de papel  Absceso Apical Agudo  Aspiración	RNAr 16S	Se utilizaron alícuotas de 5 µl de los extractos de ADN de muestras clínicas como dianas en la primera PCR  A continuación, se usaron 2 µl del producto de PCR resultante de cada muestra en la segunda ronda de amplificación	No reporta	T. maltophilum 68% PAC T. xocranskii 41% PAA T. denticola 53% AAA

Tabla 3. Santos, Adriana L. 2011; Comparación de la diversidad bacteriana de las infecciones radiculares agudas y crónicas(22).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
9 abscesos agudos  8 infecciones crónicas  18 a 62 años	Lesiones cariosas  Pulpas necróticas  Evidencia radiográfica de PA  Bolsa periodontal < 4mm"	Antibióticos <3 meses  Enfermedad Sistémica grave	Piedra pómez  Aislamiento absoluto  peróxido de hidrógeno 3% Hipoclorito de sodio 2.5% Tiosulfato de sodio 5%  Lima k10 con localizador apical  Ensanchamiento SX ProTaper Lima k15, k20, k25, k30  4 puntas de papel x 30 seg  Abscesos por aspiración con jeringa	rRNA 16S	sistema Genome Sequencer FLX	393	Bacteroidetes 36.2% Firmicutes 32.9% Actinobacteria 8.1% Synergistetes 7.4% Fusobacteria 7.4% Proteobacteria 5.2% Spirochaetes 1.9% Tenericutes 0.5%

Tabla 4. Hsiao, WWL, 2012; Transformación microbiana de la microbiota oral normal en infecciones endodónticas agudas (31).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
Total 8	Trat. Endodóntico	Fumadores	Aislamiento	rRNA 16S	tubo estéril libre de ADN/ARN	17287 99%	Oral Firmicutes 57.7% Bacteroidetes 21.5%
5 con infecciones localizadas	Extracción	Embarazo	Desinfección peróxido de hidrógeno al 30%, tintura de yodo al 5%, hipoclorito de sodio al 5,25%, tiosulfato de sodio al 5%		1 ml de s. salina tamponada con fosfato	8196 97%	Conducto Firmicutes 38.7% Bacteroidetes 36%
3 con infecciones sistémicas	Necrosis pulpar	Terapia antibiótica			La lisis celular 10 µl de proteinasa K y 50 µl de SDS al 10 %	5417 95%	Absceso Firmicutes 33.1% Bacteroidetes 21.7% Fusobacterias 21.6%
	Absceso periapical	Enfermedad Sistémica	fresa redonda de carburo n.º 4		Incubación a 60 °C x 30 minutos.	2550 90%"	
	Radiografía panorámica	Sondaje > 5mm	fresa Endo Z.		Incubación a 60°C x 10 min		
		Candidiasis oral	3 puntas de papel fino en cada canal		Concentraciones de ADN kit de ensayo Quant-iT PicoGreen dsDNA		
		Endodoncia previa					
		Apice abierto					

Tabla 5. Rôças, I. 2012; Caracterización de la microbiota de los dientes tratados con conductos radiculares con enfermedad post-tratamiento (24).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
42 total  30 mujeres 12 varones	Asintomáticos  Periodontitis apical por Rx  Terapia endodóntica previa >2 años	Bolsas periodontales >4mm	Aislamiento  Desinfección de peróxido de hidrógeno al 30%, tintura de yodo al 5%, hipoclorito de sodio al 5,25%, tiosulfato de sodio al 5% fresa redonda de carburo n.º 4  fresa Endo Z.  3 puntas de papel fino en cada canal	rRNA 16S	qPCR dirigida al gen 16S rRNA con Power SYBR green PCR master mix  PCR en tiempo real ABI 7500	28	Los taxones detectados con mayor frecuencia incluyeron Propionibacterium acnes (22/42 casos [52 %]) Fusobacterium nucleatum subspecies nucleatum (10/42 [24 %]) especies de Streptococcus (7/42 [17 %]) Propionibacterium acidifaciens (6/42 [14%]) Pseudoramibacter alactolyticus (6/42 [14%]) Enterococcus faecalis (5/42 [12 %]) Tannerella forsythia (5/42 [12 %])

Tabla 6. Brito, LCN 2012; Perfil microbiológico de las infecciones endodónticas de pacientes VIH y VIH+ mediante amplificación por desplazamiento múltiple e hibridación ADN-ADN en damero (38).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
40 VIH- 20 VIH+	Por lo menos 1 diente con infección endodóntica  Lesión periapical por RX	Antibióticos < 3 meses  Destrucción coronaria importante  Trauma asociado a pieza elegida  Compromiso periodontal  Tratamiento endodóntico previo	Muestras recolectadas del conducto radicular más amplio asociado a lesión radicular  Aislamiento absoluto  Peróxido de Hidrógeno 30% Yodo 5% Tiosulfato de sodio 5%  Lima K10  Se cortó 4 mm finales de la lima	Amplificación de Desplazamiento múltiple MDA  Hibridación ADN-ADN en damero	El kit de amplificación de ADN Illustra™ GenomiPhi™ V2	No reporta	VIH- Dialister pneumosintes 68% Stenotrophomonas maltophilia 68% Streptococcus sobrinus 57% Corynebacterium diphtheriae 55% Helicobacter Pylori 52%  VIH+ D. pneumosintes 70% Prevotella tanneriae 43% Porphyromonas gingivalis 27% Parvimonas micra 23% Prevotella nigrescens 23% Corynebacterium diphtheriae 22%

Tabla 7. Dumani, A. 2012 ; Reacción en cadena de la polimerasa de enterococcus faecalis y candida albicans en la periodontitis apical de pacientes turcos (45).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
100 pac. 117 muestras pulpa necrótica	Necrosis Prueba vitalidad eléctrica	Destrucción coronaria extensa	peróxido de hidrógeno al 35 % hipoclorito de sodio al 5 %	Cultivo rRNA 16S	kit QIAamp DNA mini  E. faecalis ATCC cepa 97008	E. faecalis C. albicans	117 conductos necróticos E.faecalis se identificó en 19 (16 %) C.albicans se identificó en 23 (20 %)
70 pac. 114 muestras fracaso endodóntico			Fresa de carburo  Lima K15		C. albicans ATCC cepa 90028		114 fracasos endodónticos E.faecalis se identificó en 11 (10 %) C.albicans se identificó en 13 (11 %)

Tabla 8. Nóbrega, L.M.M. 2013; Diversidad de Treponema en conductos radiculares con fracaso endodóntico (42).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
40	Falla endodóntica y lesión periapical  Retratamiento  Radiografía	Antibióticos <3 meses  Enfermedad Sistémica	Aislamiento absoluto  Peróxido de Hidrogeno 30% Hipoclorito de Sodio 2.5% Tiosulfato de sodio 5%  Irrigación manual solución salina  Antes de ingresar a cámara se repite protocolo  Eliminación de obturación con gates 5,4,3,2 lima Hero 20.06 y lima K corono-apical  Puntas de papel x 60 seg	RNAr 16S	técnica Nested-PCR	No reporta	T. denticola 30.8% T. Maltophilum 30.8% T. medium 20.5% T. socranskii 20.5% T. Pectinovorum 17.9% T. vicenii 17.9% T. lecithinolyticum 10.2% T. amylovorum 7.6%

Tabla 9. Anderson, Annette Carola 2013; Comparación de la composición y estructura bacteriana en infecciones endodónticas sintomáticas y asintomáticas asociadas a dientes rellenos de raíz mediante pirosecuenciación (23).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
50 total	Periodontitis apical Rx	Enfermedad Sistémica grave	Peróxido de hidrógenos 30% Hipoclorito 3%	RNAr 16S	kit de ensayo Quant-iT PicoGreen dsDNA	741	Firmicutes 29.9% Proteobacteria 26.1% Actinobacteria 22.72% Bacteroidetes 13.31% Fusobacteria 4.55%
25 asintomáticos	Tratamiento endodóntico fallido	Mal pronóstico dental	Segunda desinfección similar y se añadió tiosulfato de sodio 5%			413 Sintomáticos	
25 sintomáticos	Sin exposición directa evidente	Embarazo o lactancia	control bolita de espuma y solución fisiológica para cultivo, si diera + muestra se descartaba			588 Asintomáticos	No reportados anteriormente Deinococcus-Thermus Cyanobacteria Chloroflexi SR1 OD1
		Participación en cualquier otro estudio < 30 días	Remoción gutapercha con gates localizador apical				
		Rx con obturación fallida > 4mm desde el apice	Tres puntas de papel #25 conicidad 04 por 1 minuto				
		Coronas con destrucción severa					

Tabla 10. Tzanetakís, Giorgos N. 2015; Comparación de la composición de la comunidad bacteriana de las infecciones endodónticas primarias y persistentes mediante pirosecuenciación (25).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
48 23 a 65 años	Dientes no fisurados  Camara pulpar sin exposición  Bolsa periodontal < 4mm  Pulpa vital  Tratamiento Endodóntico < 4 años  Lesion periapical por Rx	Antibióticos <3 meses  Enfermedad Sistémica grave  Necesidad de profilaxis  Restauraciones protésicas"	Piedra pómez  Aislamiento absoluto  peróxido de hidrógeno 3% Hipoclorito de sodio 2.5% Tiosulfato de sodio 5%  Solución salina en conducto  Lima k10 con localizador apical  Ensanchamiento SX ProTaper  Lima k15, k20, k25, k30  4 puntas de papel x 30 seg"	RNAr 16S	PCR contenían el kit Qiagen Hotstar Hi-Fidelity Polymerase	339	Bacteroidetes 36.2% Firmicutes 32.9% Actinobacteria 8.1% Synergistetes 7.4% Fusobacteria 7.4% Proteobacteria 5.2% Spirochaetes 1.9% Tenericutes 0.5%

Tabla 11. Henriques, LCF 2016; Análisis del ecosistema microbiano en las infecciones del canal radicular refractarias al tratamiento endodóntico(27).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
40	Lesiones periapicales refractarias  Coronas clínicas aptas para aislamiento	Antibióticos < 3 meses  Trauma asociado con la pieza seleccionada	Muestra pieza multiradicular del conducto mas grande  Limas de retratamiento ProTaper NiTi  Muestras con lima K10  Corte de lima ultimos 4mm	Amplificación por desplazamiento múltiple MDA  Hibridación ADN-ADN en damero	kit de amplificación de ADN Illustra™ GenomiPhi™ V2	107	Dominantes Corynebacterium Diphtheriae 8.3 Porphyromona gingivalis 5.42 Streptococcus sobrinus 5.33 Stenotrophomonas maltophilia 4.72  Subdominantes Eubacterium safenum 3.85 Helicobacter pilori 3.16 Dialister pneumosintes 3.12 Clostridium difficile 2.74 Enterobacter agglomerans 2.64 Salmonella enterica 2.51 Mobiluncus mulieris 2.44 Klebsiella oxytoca 2.32  Residual Bacteroides ureolyticus 0.04 Haemophilus influenzae 0.04 Prevotella oris 0.01  E. faecalis 0.52

Tabla 12. Nôbrega, L. 2016; Diversidad bacteriana de la infección endodóntica primaria sintomática mediante análisis clonal(29).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
10 total 8 unrad 2 multi	Necrosis pulpar  Dolor espontáneo  Lesión periapical  Sensibilidad a la percusión  Absceso apical agudo	Antibióticos < 3 meses  Patología asociada a enfermedad periodontal	Eliminación de caries y restauraciones sin exponer conductos aislamiento absoluto  Peróxido de hidrógeno 30% Hipoclorito de sodio 2.5% Tiosulfato de sodio 5%  Fresa estéril  Irrigación solución salina estéril  Muestra del conducto más grande o del que tenía radiolucidés  Punta de papel x 60 segundos	RNAr 16S	Los tubos que contenían las muestras se agitaron durante 60 segundos y luego se utilizaron 300 µL del medio de transporte para la extracción de ADN con QIAamp DNA Minikit	76	Firmicutes 43.5% Bacteroidetes 22.5% Fusobacteria 3.9% Proteobacteria 13.2% Actinobacteria 6.5% Synergistetes 5.2% Spirochaetes 3.9% Deinococcus-Thermus 1.3%

Tabla 13. George, N. 2016; Especies de la microbiota oral en los abscesos endodónticos apicales agudos(32).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
18 16-60 años	Absceso apical agudo	No menciona	Enjuague bucal gluconato de clorhexidina al 0.12% por 15 seg  Desinfección de la mucosa con povidona yodada 30 seg  Muestras de puntas de papel en sitio de aspiración  Aspiración con aguja del abseso	RNAr 16S  Marcaje con Cy3-dCTP electroforesis	kit PureLink  El ADN genómico se sometió a electroforesis en geles de agarosa al 0,75 %  Se generaron sondas de oligonucleótidos basadas en ARNr 16S  Se generaron fragmentos de ADN de absceso con secuencias 16S rRNA mediante PCR	425	F. nucleatum, P. micra, el clon CS025 de especie Megasphaera , Prevotella multisaccharivorax y Atopobium rimae (18/18 100%)  Porphyromonas endodontalis (17/18, 94,4 %)  Acidaminococcaceae, clon DM071 (17/18, 94,4 %)  especies de Actinomyces, clon EP053 (16/18, 88,9 %)  Mycoplasma salivarium (16/18, 88,9 %). %)  Streptococcus cristatus (15/18, 83 %)  Lactobacillus gasseri (15/18, 83,3 %)

Tabla 14. Nóbrega L 2016; Diversidad bacteriana de la infección endodóntica primaria sintomática mediante análisis clonal(33).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
20	Necrosis Pulpar  Dolor espontaneo  Dolor a percusión y palpación	Tratamiento endodóntico previo Antibiótico < 3 meses  Sondaje periodontal >4mm  Enfermedad sistémica	Peróxido de hidrógenos 30% Hipoclorito 3%  Segunda desinfección similar + tiosulfato de sodio 5%  Control bolita de espuma y solución fisiológica para cultivo  Remoción gutapercha con gates glidden  Localizador apical Solución salina  Tres puntas de papel #25 conicidad 04 por 1 minuto"	rRNA 16S	QIAamp DNA Minikit  Amplificación universal por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	220	Se identificaron 59 bacterias diferentes. Se encontraron anaerobios estrictos que incluían 27 bacterias Gram-negativas anaerobias (24 bastoncillos, 3 cocos), 23 bacterias Gram-positivas anaerobias (19 bastoncillos, 4 cocos); 8 bacterias Gram-positivas facultativas (3 bastones, 5 cocos) y 1 bacteria Gram-negativa facultativa (1 bastón). Las bacterias más frecuentemente identificadas fueron <i>Prevotella buccae</i> (10/20), <i>Pseudoramibacter alactolyticus</i> (9/20), <i>Prevotella nigrescens</i> (8/20), <i>Parvimonas micra</i> (7/20), <i>Dialister invisus</i> (6/20), <i>Filifactor alocis</i> (4/20), <i>Prevotella tanneriae</i> (4/20), <i>Peptostreptococcus stomatis</i> (4/20), <i>Fusobacterium</i> spp. (3/20). El número de especies bacterianas encontradas en los conductos radiculares varió de 2 a 12 (promedio 6).

Tabla 15. Pourhajibagher, Maryam 2017; Enfoques dependientes del cultivo para explorar la prevalencia de los patógenos del conducto radicular de las infecciones endodónticas(36).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
36 Infección endodóntica Primaria  14 con tratamiento de conducto	Bolsa periodontal < 4mm	Antibióticos > 30 días  Caries dental extensa  Filtración coronal  Enfermedad Sistémica grave  Perdida osea avanzada  Embarazo  Lactancia	Aislamiento absoluto  Eliminación de restauraciones y caries  Eliminación placa supragingival con piedra pómez  Peróxido de Hidrógeno 30% por 30 seg Hipoclorito de sodio 2.5% por 30 seg Tiosulfato de sodio 5%  Fresa diamante Lima k ensanchamiento de conducto  Punta de papel por 60 seg.	Cultivo microbiológico Pruebas bioquímicas  ARNr 16S	Medio de transporte VMGA III  Laboratorio	No reporta	Infecciones primarias V. parvula 20.6% P. Gingivalis 14.1% Aggregatibacter Actinomycetemcomitans 9.2% Otros 8%  Infección secundaria E. Faecalis 36.6% C. Albicans 20% P. acnes 2% V. parvula 2%

Tabla 16. Diesendorf, Nina 2017; Caracterización de Roseomonas mucosa aislada del conducto radicular de un diente infectado (40).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
13 total	Unirradiculares Lesión cariosa Necrosis pulpar Periodontitis apical RX	Destrucción coronaria extensa Lesiones periodontales avanzadas Tratamiento antibiótico < 3 meses	Aislamiento absoluto Fresa diamante redonda Irrigación ambiental Limas C-Pilot estériles 08, 10, 15 tubos de ensayo estériles de 2 ml muestra en agar nutritivo	Cultivo	agar nutritivo	No reporta	Roseomonas mucosa Cualitativo

Tabla 17. Persoon, I. 2017; El microbioma de las infecciones radiculares está correlacionado con el bacterioma(39).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
26 exodoncias	Pacientes con premolares o molares asintomáticos  Periodontitis apical por Rx apical	Exposición visible de la cámara pulpar o enfermedad periodontal avanzada	Exodoncias lavadas con gasa empapada en hipoclorito 0,5% tiosulfato de sodio 5%  Criopulverización  Control con dos muestras de dientes sanos vitales	RNAr 16S  DNAr 28S	Kit de aislamiento de ADN Mag Mini	338 OTU  28 OTU hongos raíz coronal  6 OTU raíz apical	Prevotella 12.7% Lactobacillus 11.2% Actinomyces 7.5% Fusobacterium 7.2% Atopobium 6.9% Streptococcus 4.4% Leptotrichia 4.3% Phocaeicola 3.5% Pyramidobacter 2.9% Porphyromonas 2,7%  En 57% de las muestras (13 de 23) 28S DNAr  Candida 96.1% Malassezia 4.1%

Tabla 18. Bouillaguet, S. 2018; Microbiota radicular en la periodontitis apical primaria y secundaria(26).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados	
							PAP	SAP
52 Cond. Radicular	Dientes para extracción	Destrucción coronaria extensa	Clorhexidina 0.2% a 1 minuto	16S rRNA	Extracción de ADN kit Extract-N-Amp Plant PCR (Sigma-Aldrich)	374	21 Conductos	22 Conductos
-9 < 14000 lecturas ADN	Lesiones periapicales radiográficas	Higiene bucal extremadamente deficiente	Exodoncia	región V3-V4	Se agregó a 100 µL de la solución Extract-N-Amp Plant Extraction		F. nucleatum 23%	F. nucleatum 8%
TOTAL 43	Lesiones periodontales avanzadas	Estado de salud general grave Antibióticos < 2 meses	Compresa estéril		Temp. a 95 °C por 10 min.		E. faecalis 0%	E. faecalis 8%
			Limpieza ultrasonido suave 20 seg.		Se mezclaron mediante agitación vorticial		P. micra 9%	P. micra 2%
			Irrigación agua grado molecular		Se mantuvieron a -20°C hasta su posterior procesamiento.		P. endodontalis 6%	P. endodontalis 0,5%
			Corte 5 mm apicales con disco diamantado				S. constellatus 2%	S. constellatus 0,5%
			Lima K15				P. oris 1 %	P. oris 0,1 %
			Almacenamiento en Tubo 1.5 ml				Schwartzia	Schwartzia
			Control en tubos separados:				AF287791 0,2%	AF287791 0,1%
			Fragmentos de dentina externa				Slackia exigua 0,2%	Slackia exigua 0,1%
			Lima estéril				D. pneumosintes 1%	D. pneumosintes 0,1%"

Tabla 19. da Silva Rovai, E. 2019; Perfil microbiano y niveles de endotoxinas en lesiones periodontales primarias con afectación endodóntica secundaria(30).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
10	<p>Necrosis pulpar</p> <p>Lesion periapical</p> <p>Sangrado gingival</p> <p>Bolsa periodontal &gt;= 6mm</p>	<p>Cámara pulpar expuesta</p> <p>Grietas o fisuras</p> <p>Calcificaciones</p> <p>Reabsorción externa</p> <p>Enfermedades sistémicas</p> <p>Trat. periodontal &lt;6 meses</p> <p>Tabaquismo</p> <p>Antibióticos &lt;6 meses</p> <p>Tratamiento endodóntico previo</p> <p>Caries comunicante"</p>	<p>Muestras periodontales: Puntas de papel x 1min</p> <p>Muestras endodónticas: Aislamiento absoluto</p> <p>Peróxido de hidrógeno 30%</p> <p>Hipoclorito de sodio 5.25%</p> <p>Tiosulfato de sodio 5%</p> <p>Fresa diamante</p> <p>Irrigación solución fisiológica</p> <p>4 puntas de papel #15</p>	Hibridación ADN-ADN en damero	<p>La extracción de ADN se realizó con el kit de ADN Qlaamp</p> <p>ADN se fijó a 120 °C x 20 min.</p> <p>Sondas de ADN para las 40 especies kit de etiquetado de digoxigenina Random Primer</p>	40	<p>P. endodontalis (80%)</p> <p>L. buccalis (80%)</p> <p>C. sputigena (70%)</p> <p>E. faecium (70%)</p> <p>A. oris (70%)</p> <p>V. parvula (70%)</p> <p>P. micra (70%)</p> <p>P. intermedia (60%)</p> <p>G. morbillorum (60%)</p> <p>E. nodatum (60%)"</p>

Tabla 20. Davanian, H. 2019; Células T invariantes asociadas a la mucosa y microbioma oral en la periodontitis apical persistente (cualitativo)(43).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
41	Trat. Endodóntico Extracción Necrosis pulpar Absceso periapical Radiografía panorámica	Fumadores Embarazo Tera pia antibiótica Enfermedad Sistémica Sondaje > 5mm Candidiasis oral Endodoncia previa Apice abierto	Enjuague bucal gluconato de clorhexidina al 0.12% por 15 seg  Desinfección de la mucosa con povidona yodada 30 seg  Muestras de puntas de papel en sitio de aspiración  Aspiración con aguja del abseso	RNAr 16S Marcaje con Cy3-dCTP electroforesis	La extracción de ADN se realizó con el kit de ADN Qlaamp  ADN se fijó a 120 °C x 20 min.  Sondas de ADN para las 40 especies kit de etiquetado de digoxigenina Random Primer	642	F. nucleatum T. denticola T. forsythia P. gingivalis Tanarella sp Enterococcus sp Prevotella sp Parvomonas Campylobacter Streptodocus sp Fretibacterium Haemophilus E. faecalis solo en un caso P. fluorescens B. cepacia

Tabla 21. Neves de Brito, Luciana Carla, 2020; Las comunidades microbianas del sistema radicular apical determinadas por la secuenciación de próxima generación(35).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
15 Edad 16-29 Varones 5 Mujeres 15	Necrosis pulpar  Periodontitis apical con diag. Clínico y Radiográfico	Antibioticos < 3 meses  Enfermedad Sistémica  Embarazo	Pieza se limpió con piedra pómez  Aislamiento absoluto  Desinfección P. de hidrogeno 30% H. de Sodio 2,5%  Fresa carburo estéril  Lima k10  Longitud determinada con Localizador  Se cortó 4 mm de la lima  20 µl tampón de lisis alcalino  Almacenamiento 4°C	16S rRNA  región V3-V4	Amplificación de desplazamiento múltiple (MDA)  Se utilizó el kit de amplificación de ADN Illustra GenomiPhi V2  Ensayo de cuantificación Picogreen™ dsDNA	946 OTU  10 Phylla  94 géneros  311 especies	Filos: Bacteroidetes 51,2% Firmicutes 27,1% Actinobacteria 11,5%  Géneros: Prevotella 17,9% Bacteroidaceae G-1 14,3% Parvimonas micra 6,2% Porphyromonas endodontalis 3,4% Bacteroidetes 2,5%

Tabla 22. Barbosa-Ribeiro, M. 2020; Investigación microbiológica en dientes con infección endodóntica persistente/secundaria en diferentes etapas del tratamiento del canal radicular(28).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
20	Tratamiento endodóntico previo  Periodontitis apical por Rx	Antibióticos < 3 meses  Enfermedad Sistémica grave  Destrucción coronaria extensa  Ausencia de restauración coronal  Bolsa periodontal > 3mm	Anestesia local  Irrigación con jeringa con solución salina estéril  Fresa de diamante a alta velocidad  Aislamiento absoluto  Desinfección peróxido de hidrógeno al 30% x 30 segundos  Hipoclorito de sodio al 2,5% x 30 segundos  Tiosulfato de sodio al 5%.  Puntas de papel	rRNA 16S 23S	muestras recolectadas se procesan en espectrofotómetro Nanodrop 2000  La primera amplificación utilizó cebadores universales para las regiones que cubren los genes 16S y 23S rRNA	No reporta	Entre los dieciséis cebadores probados, las especies más prevalentes en el muestreo inicial fueron <i>Enterococcus faecalis</i> (20/20), <i>Porphyromonas gingivalis</i> (20/20), seguidas de <i>Fusobacterium nucleatum</i> (17/20) y <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (10/20).  No se detectaron cuatro especies, independientemente de la etapa de retratamiento endodóntico ( <i>Dialister pneumosintes</i> , <i>Filifactoralocis</i> , <i>Prevotella nigrescens</i> y <i>Treponema socranskii</i> ).

Tabla 23. Salas-López, E. 2020; Análisis de las comunidades bacterianas de dientes primarios infectados en una población mexicana(37).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
13 pacientes Pediátricos 4 a 7 años	Buen estado de salud  Molares inferiores con infección con o sin exposición pulpar  1 conducto necrótico  Absceso o fistula  Radiografía técnica paralelismo  1/3 raíz remanente"	Antibióticos <4 semanas  Enjuagues bucales  Antimicrobianos  Enfermedad sistémica	Aislamiento absoluto  Desinfección Peróxido de Hidrogeno 30%, Hipoclorito 5.25%, tiosulfato de sodio 10% por 1 min cada uno  Fresa e irrigación solución salina  Lima a 1mm ápice radiográfico o límite de reabsorción radicular	rRNA 16S	2,5 µL de MgCl2 25 mM, 0,125 U de Go Taq  14,4 µL de agua bidestilada estéril y 0,4 µL de dNTP 10 mM.  desnaturalización a 94°C durante 2 min,  30 ciclos a 94°C durante 1 min, 60°C durante 1 min y 72°C durante 1:30 min, 72°C durante 7 min.	889	Bacteroidetes 35.15% Firmicutes 33.3% Fusobacteria 10.5% Actinobacteria 13.5% Spirochetes 2.6% Synergist 5.3%

Tabla 24. Manoharan, L. 2020; Nuevos conocimientos sobre los perfiles microbianos de los conductos radiculares infectados en dientes traumatizados(44).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
Total 62 Trauma + necrosis 30 Infección 32	Sin tratamiento previo  Necrosis pulpar  Adecuada restauración coronal  Sin caries  Lesión periapical	Destrucción coronaria extensa  Lesiones periodontales avanzadas  Tratamiento antibiotico < 3 meses	Aislado absoluto  Peróxido de Hidrógeno al 30% 1min  Hipoclorito de sodio al 3% 2 min  Diente, dique de goma y bracket tintura de yodo 5%  Lima K raspa el conducto relleno conducto con solución salina estéril  Recolección con puntas de papel estériles	rRNA 16S	amplificaron por PCR  Secuenciación para identificación de especies  productos de PCR 16S rRNA se purificaron y secuenciaron con Sanger	No reporta	Endodontico  Firmicutes 75,68% Proteobacteria 10,5% Actinobacteria 7,96% Bacteroidetes 4,03% Synergistetes 1,43% Spirochaetes 0,2% Chloroflexi 0,14% Fusobacterias 0,07%  Periodontal  Firmicutes 57,86% Proteobacteria 24,8% Actinobacteria 5,62 % Saccharibacteria (TM7) 3,72% Fusobacteria 3,13% Bacteroidetes 2,96% Synergistetes 1,29% Spirochaetes 0,39% Chloroflexi 0,23%

Tabla 25. Lopes, E. 2021; Interrelación entre las comunidades microbianas de los conductos radiculares y las bolsas periodontales en las enfermedades combinadas de endodoncia y periodoncia(15).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
12	Necrosis pulpar  Periodontitis apical aguda	No reporta	Aislado absoluto  Peróxido de Hidrógeno al 30% 1min  Hipoclorito de sodio al 3% 2 min  Diente, dique de goma y bracket tintura de yodo 5%  Recolección con puntas de papel estériles	rRNA 16S	El ADN se extrajo de 12 RC y PP utilizando el kit QI-Aamp DNA Micro  Los microbiomas se examinaron centrándose en la región hipervariable V3-V4 del gen 16S rRNA de la secuenciación Illumina MiSeq	No reporta	Filos bacterianos CR: Firmicutes (75,68 %) Proteobacteria (10,5 %) Actinobacteria (7,96 %) Bacteroidetes (4,03 %) Synergistetes (1,43 %) Spirochaetes (0,2 %) Chloroflexi (0,14 %) Fusobacterias (0,07 %)  Géneros en CR Enterococcus (28,53%) Parvimonas (12,58%) Stomatobaculum (6,11%) Peptoniphilaceae [G-1] (5,32%) Peptostreptococcus (4,73%) Mogibacterium (3,64%) Olsenella (3,48% ) Bacteroidaceae [G-1] (2,85%) Filifactor (2,41%) Oribacterium (2,41%) Pseudomonas (2,07%) Campylobacter (1,66%)  Filos PP Firmicutes (57,86%) Proteobacteria (24,8%) Actinobacteria (5,62%) Saccharibacteria (TM7) (3,72%) Fusobacteria (3,13%) Bacteroidetes (2,96%) Synergistetes (1,29%) Spirochaetes (0,39%)

						Chloroflexi (0,23%)  Generos PP Streptococcus (26,33%) Desulfobulbus (18,18%) Enterococcus (8,01%) Parvimonas (7,1 %) Saccharibacteria (TM7) (3,72%) Fusobacterium (3,12%) Peptoniphilaceae (2,51%) Actinomyces (2,45%)
--	--	--	--	--	--	---

Tabla 26. Korona-Glowniak, I. 2020; Patrones de la microbiota oral en pacientes con periodontitis apical(34).

Muestra	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Recolección de muestra	Estudio de procesamiento	Procesamiento de muestra	OTU	Resultados
45 en total 8 lesiones endo-perio 29 P. apical crónica 8 necrosis pulpar 19 con infección secundaria	Necrosis pulpar  Periodontitis apical crónica para retratamiento (perdida de obturación > 48 hrs  Dolor, sensibilidad a la percusión  Fistula Cambios en  Rx periapice sin cicatrizar en 2 años  Conductos mal obturados  Lesiones endo-perio	Embarazo  Lactantes  Antibióticos <3 meses  Tratamiento Inmunosupresor  Sobre obturación o perforación	Enjuague bucal clorhexidina 0,2%  Aislado absoluto  Peróxido de Hidrógeno 3% y clorhexidina 2%  Preparación de cavidad con acceso a cámara  Clorhexidina 2% por 30 seg  Cámara Conos de papel #20 Lima S #15  Conducto cono de papel #20"	rRNA 16S	serie de 10 veces en caldo Schaedler  0,1 mL de cada dilución en agar Wilkins-Chalgren.  Las placas se incubaron durante 7 días a 35 °C en condiciones anaeróbicas	No reporta	Firmicutes 62.9% Actinobacteria 14% Bacteroidetes 12.1% Proteobacterias 9.1% Fusobacterias 4.2%  Corynebacterium matruchotii presente significativamente en PAC 20% de los aislamientos no fue identificado



