



PERFILES DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Enterococcus faecalis*  
PROVENIENTES DE AISLADOS DE CANAL ENDODONTICO.

LAURA VICTORIA SANCHEZ FIERRO

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE GRADO

BOGOTA D.C MAYO DEL 2018



PERFILES DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Enterococcus faecalis*  
PROVENIENTES DE AISLADOS DE CANAL ENDODONTICO.

LAURA VICTORIA SANCHEZ FIERRO

Dra. VILMA YAMILE MARTINEZ GRANADOS

Docente de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Asesora Interna

Dra. SANDRA CONSUELO HENAO RIVEROS

Docente de la Universidad Nacional de Colombia

Asesora Externa

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE GRADO

BOGOTA D.C MAYO DEL 2018



2.2.6. FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA .....	27
2.3. MECANISMO DE RESISTENCIA .....	28
2.3.1. RESISTENCIA A BETA-LACTAMASAS .....	29
2.3.2. RESISTENCIA A GLUCOPEPTIDOS .....	29
2.3.3. RESISTENCIA A LOS AMINOGLUCOSIDOS .....	30
2.3.4. RESISTENCIA A MACROLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS .....	30
2.3.5. RESISTENCIA A LA FLUOROQUINOLONAS.....	30
2.3.6. RESISTENCIA A NITROMIDAZOLES .....	31
2.4. PATOGENIA DE E. FAECALIS .....	31
3. INFECCIÓN ENDODÓNTICA .....	33
3.1. <i>E. FAECALIS</i> Y SU RELACIÓN LA ENFERMEDAD ENDODONTICA. ....	33
3.2. INFECCIÓN PRIMARIA .....	34
3.3. INFECCIÓN SECUNDARIA.....	36
3.4. INFECCIÓN PERSISTENTE .....	36
4. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA .....	40
4.1. PRUEBA DE CATALASA .....	40
4.2. PRESENCIA DE HEMOLISIS .....	40
4.3. BILIS ESCULINA .....	40
4.4. PYRROLIDONYL ARILAMIDASA PYR .....	41

4.5. RAPID STR REMEL .....	41
5. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANAS .....	42
3.1. TÉCNICA DE DILUCIÓN .....	42
5.1. TÉCNICA DE DIFUSIÓN .....	42
5.2. PRUEBA DE EPSILON .....	43
5.3. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN .....	43
5.2.1. CATEGORÍAS DE INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	43
6. DISEÑO METODOLÓGICO .....	45
5.1. MATERIALES Y MÉTODOS .....	45
5.1.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS. ....	45
5.1.2. CULTIVO DE LAS MUESTRAS Y POSTERIOR INCUBACIÓN DE LOS MEDIOS. ....	46
5.1.3. OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS .....	46
5.1.4. OBSERVACIONES MICROSCÓPICAS .....	46
5.1.5. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA .....	46
5.1.6. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA. ....	47
5.1.6.1. LECTURA DE LOS ANTIBIOGRAMAS. ....	47
6. RESULTADOS .....	48
6.1. CULTIVO DE MUESTRAS, OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA .....	48
6.2. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA .....	49
6.3. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA MÉTODO KIRBY-BAUER .....	52

7. DISCUSIÓN .....	55
8. CONCLUSIONES .....	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS .....	73

### LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Puntos de corte para <i>E. faecalis</i> según la CLSI 2016 .....	42
<b>Tabla 2.</b> Pruebas bioquímicas RapID STR Remel para la detección de <i>E. faecalis</i> .....	45
<b>Tabla 3.</b> Frecuencia de <i>E. faecalis</i> en población de estudio.....	46
<b>Tabla 4.</b> Medición de los halos de inhibición en los antibiogramas según los puntos de corte recomendados por la CLSI 2016. Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R) .....	53

53

### LISTA DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> Observaciones macroscópicas de las colonias y la alfa-hemolisis de <i>E. faecalis</i> en agar sangre .....	48
<b>Ilustración 2.</b> Colonias de <i>E. faecalis</i> características en medio de cultivo selectivo Bilis Esculina .....	49
<b>Ilustración 3.</b> Observación de las colonias de <i>E. faecalis</i> de cocos Gram positivos en coloración de Gram .....	49

<b>Ilustración 4.</b> Prueba de catalasa negativa para <i>E. faecalis</i> .....	50
<b>Ilustración 5.</b> Prueba Pyrrolidonyl Arilamidasa (PYR) positivo para <i>E. faecalis</i> en el lado izquierdo y negativo en el lado derecho.....	50
<b>Ilustración 6.</b> Pruebas bioquímicas RapID STR Remel. En la parte inferior se observa el resultado positivo para <i>E. faecalis</i> de uno de los 40 aislados .....	50
<b>Ilustración 7.</b> Antibiograma con discos de Amoxicilina, Ciprofloxacina y Metronidazol donde se observa los halos de susceptibilidad y la resistencia .....	52
<b>Ilustración 8.</b> Antibiograma con discos de Eritromicina, Vancomicina, Clindamicina y Cefotaxime. Donde se observa la sensibilidad intermedia a Vancomicina .....	53
<b>Ilustración 9.</b> Resultados obtenidos de los 40 aislados. En el eje X se encuentran ubicado los siete antibioticos estudiados y en el eje Y se ubican los los porcentajes de aislamiento obtenidos 4(100%).....	54

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>Anexo 1.</b> Carta de conflictos de interés .....	73
--	----

## **RESUMEN**

El objetivo del estudio fue la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana en aislados de *Enterococcus faecalis* a amoxicilina, cefotaxime, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, metronidazol y vancomicina en muestras obtenidas del canal endodontico de pacientes de la Facultad de Odontología Universidad Nacional de Colombia, donde se realizaron pruebas microbiológicas en 40 aislados tomados de conductos radiculares para determinar la presencia de *E. faecalis* y posteriormente se realizaron antibiogramas para observar la susceptibilidad del microorganismo. Como resultado se obtuvieron que todos los aislamientos fueron sensibles a amoxicilina; 70% de los aislamientos mostraron susceptibilidad intermedia, un 17.5% sensibilidad

y un 5% resistencia a ciprofloxacina; 75% de los aislamientos presentaron sensibilidad y un 25% mostraron sensibilidad intermedia a vancomicina. Todos los aislamientos fueron resistentes para cefotaxime, clindamicina, eritromicina y metronidazol. Basados en los resultados de este estudio, amoxicilina es antibiótico de primera elección para el tratamiento de las infecciones endodónticas causadas por *E. faecalis* y para poder enviar este tratamiento es importante la realización de pruebas microbiológicas debido a la creciente resistencia a los diferentes antimicrobianos

**Palabras claves:** *Enterococcus faecalis*, endodoncia, susceptibilidad antimicrobiana, prueba antimicrobiana de difusión con disco.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad endodóntica es una infección polimicrobiana, los estudios han demostrado que el *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) se encuentra en infección endodóntica primaria y con más frecuencia en pacientes con retratamiento del conducto radicular. *E. faecalis* posee un alto grado de resistencia antimicrobiana, como resultado de esto se observa una disminución de la eficacia en el tratamiento, además por el uso frecuente e inadecuado de terapia antibiótica <sup>1,2</sup>.

Los Enterococos son cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, habitantes del tracto gastrointestinal y del aparato genital femenino, incluyen más de 17 especies <sup>3,4</sup>. Se ha demostrado que la mayoría de las infecciones por este germen son debidas a transmisión endógena, también por consumo de alimentos y agua contaminada, o de persona a persona. Son gérmenes oportunistas que causan infecciones de importancia médica y de cavidad oral, se ha observado la presencia de *E. faecalis* de manera temporal en saliva, placa y mucosa gingival <sup>5, 6, 7, 8, 11</sup>.



Los *E. faecalis* presentan resistencia natural o intrínseca a varios antibióticos (penicilinas, glicopéptidos, quinolonas, lincosaminas, aminoglucosidos) y pueden adquirir resistencia extrínseca vía intercambio horizontal de genes de resistencia (plásmidos, trasposones), sufrir mutaciones espontáneas y convertirse en cepas resistentes al seleccionarse después de la exposición a antibióticos<sup>9,10</sup>. Sumado a esto forma biopelículas dificultando la penetración de los irrigantes intracanal y por ende impidiendo su función. *E. faecalis* es resistente a altas temperaturas y concentraciones de cloruro de sodio (> 6,5%), posee otros factores de virulencia como la producción de gelatinasa, hemolisinas, bacteriocinas y adhesinas<sup>3,4,5,11</sup>.

El uso sistémico de antibióticos profilácticos es recomendado en pacientes con riesgo de endocarditis durante el retratamiento endodóntico<sup>2,9</sup>.

Dentro de los antibióticos más utilizados en Odontología se encuentra la amoxicilina, la clindamicina y el metronidazol, siendo los dos primeros los más utilizados. La amoxicilina tiene buena actividad frente a cocos Gram positivos anaerobios facultativos como *E. faecalis* y bacilos Gram negativos anaerobios estrictos siendo una buena elección en infecciones mixtas odontogénicas polimicrobianas<sup>5,7</sup>. El uso de la clindamicina está indicado en el tratamiento de abscesos dentales y en enfermedad periodontal agresiva<sup>10</sup>. En infecciones polimicrobinas se utiliza el metronidazol contra bacterias anaerobias estrictas como *Prevotella*, *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga* unido a antibióticos que tengan acción sobre bacterias Gram positivas<sup>5,7,10</sup>.

Otros antimicrobianos utilizados en odontología son el cefotaxima que actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular, la ciprofloxacina actúa inhibiendo la replicación del ácido nucleico principalmente de gérmenes Gram negativos, a resistencia bacteriana a las quinolonas ocurre por mutaciones en genes que codifican la topoisomerasa IV y la ADN girasa, la eritromicina es un antibiótico utilizado en infecciones del tracto respiratorio, por último la vancomicina es el medicamento de última elección para cepas mutiresistentes<sup>6,4</sup>.

La alta resistencia de *E. faecalis* a los diferentes antimicrobianos ha hecho que estos no sean eficaces en el tratamiento de las lesiones endodónticas localizadas agudas o crónicas, ni sean útiles en prevenir episodios recurrentes de infección, por tal razón conocer la frecuencia de la resistencia de *E. faecalis* a amoxicilina, cefotaxime, ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, metronidazol y vancomicina, servirá para conocer los perfiles de susceptibilidad de nuestros aislados a los antibióticos de mayor uso y así poder dar una guía para su adecuada selección.

Una vigilancia periódica de la susceptibilidad antimicrobiana es recomendada para detectar las resistencias nuevas con el objetivo de prevenir la propagación de cepas resistentes con resistencia a múltiples antibióticos <sup>11</sup>.

## **PREGUNTA PROBLEMA**

¿Cuál es la susceptibilidad antimicrobiana de aislados de *Enterococcus faecalis* provenientes del canal endodóntico?

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

- Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de aislados de *Enterococcus faecalis* provenientes del canal endodóntico.

### **ESPECÍFICOS**

- Confirmar la presencia de *E. faecalis* en los aislados obtenidos de canal endodóntico mediante pruebas bioquímicas RapID STR Remel.
- Hallar la frecuencia de la resistencia antimicrobiana del *E. faecalis* en aislados de canal endodóntico a amoxicilina, eritromicina, vancomicina, cefotaxime, clindamicina, ciprofloxacina y metronidazol.

## **1. ANTECEDENTES**

En 1999 en Europa Ma Schouten, A. Voss, Jaa Hoogkamp-Korstanje, y el grupo europeo de estudio VRE realizaron una investigación en donde establecieron Antimicrobial Susceptibility Patterns of Enterococci Causing Infections in Europe, este estudio tiene como objetivo determinar la susceptibilidad de Enterococcus a diferentes antibióticos que pertenecen a los grupos glicopeptidos, estreptomicinas, everninomicina y fluoroquinolonas. Para estos se tomaron 4,208 cepas y se probaron 16 antibióticos. Las muestras fueron recolectadas en 49 hospitales de 27 países de Europa, las muestras fueron tomadas de sangra, líquido cefalorraquídeo, tracto respiratorio, abdomen, heridas, orinas y cualquier otro material orgánico. Se les realizo pruebas bioquímicas utilizando API 20 STREP, pruebas de methyl-- D -glucopy-Ranosido. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron por micro dilución con caldo Mueller-Hinton. Se encontró a E. faecalis en un (13,6%) de las muestras analizadas, se encontró VRE en un 0,06%. Donde se encontró que presenta resistencia a carbapenems, fluoroquinolonas, etc <sup>15</sup>.

En 1999 en Medellín, Colombia, el cabeza del Dr. Robledo de la Corporación para investigaciones biológicas (CIB) y cols, reportarón al Programa SENTRY en Colombia. Hallazgos iniciales en tres hospitales de Medellín. Revista Infection. El estudio tuvo como objetivo reportar la susceptibilidad antimicrobiana de diferentes aislamientos provenientes de pacientes con bacteremias, neumonía, heridas de piel y tejidos blandos e infecciones urinarias, lo cual servirá para conocer las resistencias en Colombia y compararlas con países latinoamericanos y del mundo, e implementar medidas de prevención. Según el microorganismo se realizaron con diferentes antibióticos dentro de los cuales están las cefalospirinas, fluoroquinolonas, aminoglicosidos. El estudio se realizó con 213 aislados bacterianos de diferentes géneros. Hubó 7 aislados de Enterococcus, un aislado tuvo resistencia intermedia a Vancomicina, y otro resistencia a Gentamicina, hubo aislados sensibles a cefalosporinas de primera, tercera y cuarta generación <sup>14</sup>.

En 2008 en Venezuela German Pardi, Carolina Guilarte, Elsi Natali Briceño realizaron una investigación en la que establecieron la DETECCIÓN DE *Enterococcus faecalis* EN DIENTES CON FRACASOS EN EL TRATAMIENTO ENDODONTICO, el estudio fue presentado en la Acta de Odontología y tiene como objetivo las características, definición, el aislamiento y la detección de *E. faecalis* en muestras tomadas de conductos. El género *Enterococcus* es un coco gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. Se encuentran dos tipos de especies aislados en clínica, las cuales son; *E. faecalis* (80-90%) y *E. faecium* (5-10%). Estas especies causan infecciones muy diversas y se han podido aislar en infecciones de pulpo-periapical y de bolsas periodontales. Al ser *E. faecalis* el más común se realizó un estudio con 20 muestras de dientes con fracaso en el tratamiento endodontico, las cuales fueron tomadas por un cono de papel, los cuales se transportaron en tioglicolato y se sembraron en medio Agar *Enterococcus*, fueron incubados a 37°C durante 72 horas. Para la identificación definitiva se utilizó el sistema rápido API Rapid Strep donde se encontró que este microorganismo estaba presente en dientes con fracaso en el tratamiento endodontico y que habían sido obturados con Hidróxido de Calcio ya que tienen la capacidad de sobrevivir a este tipo de ambiente <sup>16</sup>.

En 2010 en Cuba Lilia María Ortega González realizó una revisión donde se estableció *Enterococos*: actualización, este estudio fue presentado al Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí y tiene como objetivo hacer una revisión del tema, pero teniendo diferentes elementos.

Microbiológicamente los *Enterococos* tienen unas características propias y tienen una gran variedad de especies, esto hizo que ellos emergieran como patógenos nosocomiales. Ya que presentan una resistencia a tratamiento antibacterianos, se presenta en ambientes hospitalarios (mala higiene) y viven por tiempos prolongados, según la NNSI demostró que Estados Unidos presentaba este microorganismo con mayor frecuencia. Se describieron reservorios, modos de transmisión,

patogenicidad y virulencia, diferentes enfermedades en las que se presenta y los tratamientos que se pueden usar <sup>11</sup>.

En 2011 en España Emilia Cercenado realizó una investigación en la que estableció el *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España, el estudio fue presentado al Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, tiene como objetivo la revisión bibliográfica de las multirresistencias intrínseca y la resistencia adquirida por nuevos genes de los *Enterococcus*. Resistencia a beta-lactámicos debido a las PBP, pero es una resistencia para *E. Faecium* ya que no tienen el mismo gen con *E. faecalis* debido a esto se han descrito muy pocas cepas resistentes a ellas. Resistencia a aminoglucósidos se debe a la deficiencia de ellos a la interior de la bacteria. Resistencia a glicopeptidos que actúan inhibiendo la síntesis de pared celular, para hacer la pérdida de la estructura de la pared bacteriana y realizar la muerte celular; esta resistencia es frecuente en *E. faecium*. Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas A y B. Resistencia a Fluoroquinolonas. Resistencia a oxazolidinonas. Sensibilidad disminuida a la daptomicina, donde la resistencia se desarrolla durante el tratamiento con estos antibióticos y se debe a las mutaciones de unos genes de la pared celular. Se pudo concluir en España que los causantes de las infecciones multirresistentes se debe a *E. faecalis* y *E. faecium* y se debe a sus modificaciones genéticas siendo necesario la vigilancia de la diseminación de estos genes para evitar la adquisición de nuevos genes de resistencia <sup>17</sup>.

En 2012 en Venezuela María A. Rivas, Shadia Yulany, Ingrid Daboin, Clara Díaz, Elaysa Salas O, Leonidas E. Urdaneta P. realizaron una investigación en la que establecieron la frecuencia de aislamiento y susceptibilidad de *enterococcus faecalis* en pacientes endodónticos, el estudio fue presentado a la Facultad de Odontología de la Universidad de los Andes y se realizó con el fin

aislar, identificar y tener el antibiótico de elección para este microorganismos, por eso se realizó toma de muestras de conductos radiculares de 32 personas, entre adultos y adolescentes que no habían tomado tratamiento antibacteriano y que acudieron al área de endodoncia de la universidad. Estas muestras se transportaron al laboratorio de Bacteriología Anaerobia “Roberto Gabaldon”, donde se realizó medios de cultivos en agar sangre y Bilis Esculina e incubados a 37°C de 24-48 horas. Se les hizo a las colonias que crecieron un estudio macroscópico y coloración de gram para cocos gram positivos, para la confirmación de la especie se realizaron pruebas bioquímicas Strepto System 9R donde se encontró que eran *E. faecalis*. Luego se realizó una suspensión en solución salina estéril a 0.5 de la escala de Mac Farland para someterlas a pruebas de susceptibilidad por el método de Kirby Bauer donde se probó con: tetraciclina, ampicilina, eritromicina, ciprofloxacina y vancomicina; se siguieron las especificaciones de la CLSI. Se encontró que en solo el 12,5% de las muestras hubo crecimiento de *E. faecalis*, de las cuales la mayoría de cepas tuvieron resistencia a ciprofloxacina y sensibilidad a vancomicina <sup>18</sup>.

En 2013 en India Neelam Mittal, Jyoti Jain, realizaron una revisión donde establecieron Antibiotics as an intracanal medicament in endodontics: A review, este estudio tiene como objetivo revisar el uso de antibióticos intracanales durante el tratamiento endodóntico y el tratamiento de los dientes. Como es espacio de la pulpa del conducto radicular es tan pequeño es necesario la desinfección de ellos con la aplicación de irrigantes y enjuagues (antibióticos). En 1951, Grossman utilizó una pasta poliantibiótica conocida como PBSC (penicilina, bacitracina, estreptomina y caprilato, Dium) PBSC. En 1960 Ledermix uso corticosteroides para controlar el dolor y la inflamación utilizando (triamcinolona y demeclociclina) que eran capaces de pasar a través de tubos dentinarios y cementos odontológicos. Septomixine Forte contiene dos antibióticos, neomicina y sulfato de polimixina B pero no resulto eficaz la aplicación de esta pastilla. Se probó el polvo de clindamicina mezclado con solución salina pero tampoco se demostró que tampoco era eficiente, se



realizaron estudios y se demostró que el metronidazol-clorexidina tiene la capacidad de la eliminación de los biofilms de *E. faecalis*. Triple pasta antibiótica, es la utilización de metronidazol, clindamicina y minociclina las cuales demostraron que al ser aplicada en conductos durante 24 horas era eficaz para *E. faecalis* <sup>19</sup>.

En 2014 en India Shivani Gupta, Suman Kapur, corresponding, DV Padmavathi realizaron una investigación donde se estableció Comparative Prevalence of Antimicrobial Resistance in Community-Acquired Urinary Tract Infection Cases from Representative States of Northern and Southern India, el cual tiene como objetivo mirar la prevalencia de patógenos urinarios y su resistencia microbiana en dos partes de la India. Se tomaron muestras de pacientes adultos y se evaluó su susceptibilidad por el método Kirby-Bauer. Esto arrojó la presencia de varios microorganismos como *E. faecalis* en un 15.8%, al ser el microorganismo más prevalente se recomienda hacer un control de vigilancia a patógeno <sup>20</sup>.

En 2014 en Cuba Manuel Medell, Marcia Hart, María Luisa Batista. Realizaron un estudio titulado Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* obtenidos de pacientes hospitalizados, el estudio fue presentado Departamento de Microbiología, Hospital Clínico-Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras", La Habana, Cuba y tiene como objetivo aislar *Enterococcus* spp en pacientes hospitalizados. Se realizó un aislamiento de este microorganismo en 50 muestras de pacientes, se les realizó a cada muestra la identificación y la sensibilidad de antibióticos por varios métodos. Se encontró que el 60% de los pacientes tenían infección por *E. faecalis* y 40% de *E. faecium*. Al probar los diferentes antibióticos se demostró que las cepas aisladas presentaban mayor porcentaje de resistencia a toda la literatura estudiada, pero el más resistente es *E. faecium* por su resistencia a la vancomicina <sup>21</sup>.

En 2015 Ethiopia Abdulhakim Abamecha, Beyene Wondafrash y Alemseged Abdissa. Realizaron un estudio titulado Perfiles de resistencia de especies de Enterococcus aislados en el tracto gastrointestinal en pacientes hospitalizados. Etiopia. Revista BCM Research Notes. El objetivo fue determinar los perfiles de resistencia de Enterococcus del tracto gastrointestinal en pacientes hospitalizados. Se obtuvieron 114 aislados de materia fecal, cultivada en medios selectivos como el agar bilis esculina. Se utilizó pruebas bioquímicas rápidas para la identificación de las especies. Se realizaron los antibiogramas por la técnica de Kirby-Baurer. El 29,8% fueron *E. faecalis*. Se encontró resistencia del 36% a ampicilina, 34% a gentamicina, 50% a ciprofloxacina, 63% a eritromicina, 65% a tetraciclina, 5% a vancomicina <sup>12</sup>.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1.GENERALIDADES DE *E. FAECALIS***

*E. faecalis* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0,8 micrómetros. La temperatura de crecimiento *in vitro* es de 35°C, no obstante, se ha observado crecimiento entre 10 y 45°C <sup>20</sup>. Todas las cepas pueden crecer en medios que contengan esculina, la cual la hidrolizan en presencia de sales biliares al 40%. Casi todas las cepas son homofermentativas, siendo el ácido láctico el producto principal de la fermentación de la glucosa y no produce gas <sup>20</sup>.

Puede normalmente ser identificados por pruebas adicionales, en donde se ha observado que es arabinosa negativo y es el único de éste grupo que tolera el telurito <sup>38</sup>. Esta especie posee un carbohidrato del grupo D (antígeno de Lancefield) como antígeno en su pared celular, el cual es un ácido teicoico intracelular asociado a la membrana citoplasmática, igualmente en su pared

celular posee una gran cantidad de peptidoglicano que ayuda a mantener la forma bacteriana y a proteger el esqueleto formado por polisacáridos alternos como N-acetilglucosamina (GlcNAc) y ácido N-acetilmurámico (MurNAc) <sup>38</sup>.

*E. faecalis* pertenece al mismo grupo de *E. Faecium*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii* y *E. gallinarum*, estas cinco especies crecen en caldo de manitol e hidrolizan arginina, sin embargo, fallan en la formación de ácido en caldo de sorbosa <sup>34,39</sup>.

Este tipo de bacteria es frecuentemente encontrada dentro de los túbulos dentinales de los conductos infectados ya que el colágeno es ampliamente considerado como el principal sustrato para la unión específica del *E. faecalis* a la dentina, en donde la proteína de unión al colágeno y la proteasa de serina juegan un papel fundamental en esta unión, así como las adhesinas <sup>38</sup>. Este tipo de invasión dentinal oscila entre 10 - 150µm y está relacionada con la presencia de barro dentinal generado durante la terapia biomecánica y la irrigación intraconducto, en estudios recientes se ha demostrado que no hay diferencias significativas en la invasión tubular en lesiones primarias y secundarias o persistentes <sup>38,40</sup>. Varios factores afectan la capacidad de invasión bacteriana, como la disminución de la permeabilidad de los túbulos que se da con el paso de los años, así como una baja concentración de nutrientes durante el periodo de incubación o la presencia de colágeno no mineralizado, esto limita su capacidad para formar biopelícula <sup>38,40</sup>.

El *E. faecalis*, es considerado el más virulento debido a su mayor prevalencia en infecciones, resistencia antimicrobiana y transferencia de esta resistencia a otros miembros del género e incluso otras bacterias que puedan estar colonizando la cavidad oral; esto también debido a su gran maquinaria de virulencia, que incluye en algunos casos, la expresión de hemolisinas, gelatinasas, feromonas (para la comunicación inter-bacteriana), producción de bacteriocinas (como forma de defensa ante otras bacterias invasoras), desarrollo y producción de biofilm, expresión de factores de adherencia y producción de sustancias agregantes; por todo lo anterior no es de extrañarse que *E. faecalis* colonice tan fácilmente la cavidad oral, pues aunque no se han hallado reportes del

aislamiento de especies vancomicina-resistentes en casos de tratamiento de canales radiculares, si se han hallado la producción de proteínas asociadas al gen VanA (esto siendo un claro indicio de que si hay prevalencia del gen VanA, aquél involucrado en la resistencia ante la vancomocina) <sup>23</sup>.

## **2.2.FACTORES DE VIRULENCIA**

El *E. faecalis* tiene la capacidad invadir tejidos y provocar enfermedades, esto se debe a que posee enzimas líticas, feromonas y ácido lipoteicoico, que le permiten adherirse a las células del huésped y a la matriz extracelular. Algunos de los factores de virulencia más importantes son <sup>25, 26</sup>:

### **2.2.1. Sustancia de agregación (AS)**

Es una proteína que facilita la unión entre las bacterias, facilita el intercambio de plásmido entre el receptor y la cepa donante. Además, potencia considerablemente la adherencia a tejidos del hospedero y la internalización del microorganismo en los macrófagos <sup>25</sup>.

Participa en la difusión de plásmidos que codifican los factores de virulencia, como la citolisina, también facilita la unión de a las células epiteliales renales y/o intestinales y a la colonización de estas superficies, además ayuda a proteger contra la acción de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) o contra la muerte mediada por macrófagos evitando la fagocitosis de la bacteria, el mecanismo para esta protección puede ser a través de una modificación de la maduración fagosomal <sup>25</sup>.

### **2.2.2. Proteína de superficie**

Su papel aún no está claro, pero se cree que ayuda a retirar la proteína de la superficie bacteriana y de este modo evitar el reconocimiento por parte del sistema inmune. También se ha logrado que participe de manera activa en la formación de biopelículas y en la unión ligando-matriz

extracelular, y es responsable del aumento de las interacciones hidrofóbicas; así mismo, se sabe que su parte N-terminal participa en la interacción con el huésped <sup>25</sup>.

### 2.2.3. Proteasas

Proporcionan péptido-nutrientes a los organismos y son causantes del daño de los tejidos del huésped. El *E. faecalis* segrega dos tipos de proteasas; gelatinasa y proteasa de serina. La gelatinasa es una metalo-endopeptidasa la cual es una proteína hidrófoba capaz de hidrolizar caseína, insulina, hemoglobina, colágeno, fibrinógeno y pequeños péptidos, también inactiva la endotelina humana que es un péptido vasoactivo <sup>25, 26</sup>.

### 2.2.4. Hemolisina (citolisina)

Es una toxina codificada por plásmidos, producida por los microorganismos  $\beta$ .hemolíticos. Es responsable de la lisis de eritrocitos, neutrófilos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, bacterias y de la actividad antimicrobiana formando poros en la membrana citoplasmática de las células bacterianas <sup>25, 26</sup>.

### 2.2.5. Bomba de protones

*E. faecalis* al poseerla en su membrana, le proporciona un mecanismo para mantener el pH citoplasmático, para lograr este equilibrio sintetizan proteínas extracelulares y utilizan mecanismos intrínsecos como la bomba de protones la cual permite el intercambio de cationes y protones en el cuerpo de la célula con el fin de mantener el pH neutro en el citoplasma. Por esta razón medicamentos como el hidróxido de calcio en muchos casos es ineficiente en su erradicación del conducto radicular. Se ha demostrado que este microorganismo es incapaz de sobrevivir a un pH igual o mayor a 11.5 <sup>26</sup>.

### 2.2.6. Formación de Biopelícula

Se define como una comunidad microbiana multicelular caracterizada por tener células que están firmemente unidas a la superficie y embebidas en una matriz de sustancia polimérica extracelular

autoproducida, esta matriz por lo general son polisacáridos. La capacidad para formar biopelículas ha sido considerada como un factor de virulencia, y se ha estimado que el 65-80% de las infecciones bacterianas están conformadas por bacterias contenidas en biopelículas <sup>27, 28, 29</sup>.

El establecimiento de una biopelícula parece seguir ciertas etapas de desarrollo, la primera etapa implica la adsorción de macromoléculas formando una matriz polimérica o “película acondicionada, en la superficie de los dientes esta película está formada por proteínas, glicoproteínas de la saliva y fluido crevicular gingival, degradados por medio de proteasas, peptidasas y glicosidasas. En la segunda etapa hay una adhesión y colonización por parte de bacterias individuales o planctónicas en una fase líquida, a través de la producción de polímeros y el desarrollo de estructuras de superficie que fortalecen esta unión, permitiendo la formación de microcolonias distribuidas estratégicamente, separadas por canales de agua y organizadas en capas que pueden llegar a un espesor de hasta 300 capas o más, esta distribución estratégica de interacción metabólica favorece la función ecológica de la comunidad. La tercera etapa implica la multiplicación y el metabolismo de los microorganismos adheridos resultando en una comunidad microbiana mixta estructuralmente organizada <sup>30, 31</sup>.

El desarrollo de estas comunidades proporciona un cierto número de ventajas a las bacterias, como la creación de un rango más amplio de hábitat para el crecimiento de una microbiota más diversa, el aumento de la diversidad metabólica y mayor eficiencia de las redes alimentarias, así mismo la protección de microorganismos competidores, contra las defensas del huésped, agentes antimicrobianos y contra el estrés ambiental. También facilita los intercambios genéticos favoreciendo un aumento en la patogenicidad y la resistencia a los antimicrobianos <sup>27, 32, 33</sup>. Todas estas características de colaboración bacteriana sofisticada requieren una comunicación intercelular, dada por las moléculas específicas de señalización liberadas por las células al medio ambiente a través de difusión, distribución y detección por otras células, para alcanzar una densidad celular necesaria <sup>25, 33</sup>.

## 2.3.MECANISMO DE RESISTENCIA

*E. faecalis* presenta una resistencia a la mayoría de los antibióticos, una sensibilidad a la penicilina y una resistencia intrínseca a las cefalosporinas, aminoglucocidos y clindamicina <sup>17</sup>.

### 2.3.1. Resistencia a beta-lactamasas

La resistencia de *E. faecalis* a beta-lactamasas ocurre por lo general mediante dos mecanismos; uno es por la producción de beta-lactamasas que es propia del *E. faecalis*, puesto que el enterococcus puede producir cantidades pequeñas de la enzima, la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ampicilina frente a enterococcus oscila entre 1 y 16 mg/l y las CMI de ampicilina frente a aislados clínicos de *E. faecalis* son generalmente más bajas que aquellas frente a cepas de *E. faecium*. Parece ser susceptible a penicilina y ampicilina (17, 34). La segunda es la presencia en la pared celular de una proteína de unión a penicilina (PBP) de baja afinidad (PBP5), descrita fundamentalmente en cepas de *E. faecium* <sup>35</sup>.

### 2.3.2. Resistencia a glucopeptidos

*E. faecalis* tiene una resistencia adquirida a vancomicina que es un glucopeptido de estructura compleja que se sintetiza de forma natural, actúa inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana uniéndose a los precursores pentapeptídicos del peptidoglicano, impidiendo el entrecruzamiento de estos precursores, lo que conduce a la pérdida de integridad estructural y a la muerte celular. Es sumamente efectivo frente a bacterias Gram positivas (*S.aureus*, *S.pyogenes*, *S.viridans*, *S.pneumoniae*, *C. difficile*) y eso se debe a la estructura de la pared bacteriana, ya que es más fácil atravesar la membrana de estas <sup>34, 36</sup>.

Los mecanismos de resistencia son genotípicamente y fenotípicamente distintos, y hacen que la bacteria adquiera una compleja maquinaria de enzimas que son responsables de detectar la

presencia de glucopéptidos en el entorno, cambiar el precursor normal del pentapéptido y eliminar los precursores normales del peptidoglicano de modo que la célula utiliza casi exclusivamente los precursores resistentes.

### 2.3.3. Resistencia a los aminoglucoSIDOS

el *E. faecalis* poseen una resistencia intrínseca de menor grado debido a un transporte deficiente del aminoglucoSIDO al interior de la bacteria, se caracteriza por presentar valores de CMI que oscilan entre 4 y 64 mg/l de gentamicina y entre 16 y 256 mg/l de estreptomycinA haciendo que no sea eficaz los tratamientos frente a los *E. faecalis*. Cuando se asocia un aminoglucoSIDO con otro antibiótico que actúe en la pared celular, como un beta-lactámico o un glucopéptido, se produce un gran aumento de la captación del aminoglucoSIDO, resultando en un efecto sinérgico bactericida necesario para el tratamiento de infecciones graves <sup>17, 34, 35</sup>.

### 2.3.4. Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas

Los *E. faecalis* presenta dos mecanismos de resistencias a los macrólidos; uno es por la modificación de la diana de acción y dos es por el flujo activo de los antibióticos. Estos mecanismos confieren diferentes fenotipos de resistencia a los antibióticos por la producción de una enzima que metila un residuo adenina en la subunidad 23S del ARN ribosómico, lo que se traduce en una reducción de la unión al ribosoma no solamente de la eritromicina y otros macrólidos (azitromicina y claritromicina), sino también de las lincosamidas y las estreptograminas B. Este fenotipo se denomina MLSB (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B). La resistencia adquirida a las lincosamidas (lincomicina y clindamicina) de *E. faecalis* se debe a la expresión del gen *lnu* (B), al producir una nucleotidiltransferasa que adenila un grupo hidroxilo en estos antibióticos <sup>51, 35</sup>.

### 2.3.5. Resistencia a la fluoroquinolonas



Las quinolonas generalmente exhiben moderada actividad contra enterococos. Estas inhiben el crecimiento de la bacteria interfiriendo con la replicación del ADN, específicamente por la unión a la topoisomerasa tipo II que controla el superenrollamiento e inhibe su función. La resistencia a las quinolonas y también a las fluorquinolonas (como la ciprofloxacina), se deben a modificaciones en el sitio blanco de la ADN girasa evitando así que los antibióticos se unan y la enzima pueda trabajar en el desenrollamiento del ADN para su transcripción necesaria en la replicación bacteriana y la producción de proteínas <sup>34, 52</sup>.

#### 2.3.6. Resistencia a nitromidazoles

*E. faecalis* presenta una resistencia adquirida a los nitromidazoles, para patologías odontológicas se suministra en combinación con dos antibióticos más. Es capaz de inhibir a los microorganismos sensibles durante la fase de crecimiento. Esto se debe a que el metronidazol penetra a las células bacterianas por difusión pasiva, siendo activado por un proceso de reducción, en aquellas células que poseen un sistema enzimático adecuado, como son las bacterias anaerobias.

De la reducción del metronidazol resultan metabolitos activos que dañan el ADN de la bacteria, causando su muerte <sup>53</sup>.

### **2.4.PATOGENIA DE *E. FAECALIS***

En las lesiones persistentes uno de los organismos que con mayor frecuencia se recuperan de conductos previamente tratados es el *E. faecalis* y eso se debe a que puede sobrevivir y crecer en microambientes que pudieran ser tóxicos para muchas bacterias, en particular zonas con altas concentraciones de sales (6,5% de Cloruro de Sodio) y temperaturas extremas (15-60°C), así adquiriendo la capacidad de supervivencia en los conductos radiculares de dientes que han sido sometidos a tratamiento endodóntico <sup>55</sup>.

El evento de mayor importancia que determina el origen de una infección enterocócica consiste en la colonización de las mucosas humanas por parte del agente etiológico. Por ende, este microorganismo debe contar con moléculas superficiales que comporten como adhesinas.

Diversos estudios "*in vitro*", han demostrado que las adhesinas enterocóccicas más destacadas corresponden a proteínas, ácidos lipoteicoicos de la pared celular y uno o más carbohidratos superficiales <sup>38, 39</sup>.

Después de la realización del proceso de adherencia, el microorganismo es capaz de introducirse en regiones anatómicas estratégicas, lo que provoca diversas alteraciones patológicas <sup>39, 40</sup>. Se ha observado que una proteína superficial es la sustancia de agregación (AS) que induce la internalización del microorganismo en las células HT-29 y es una herramienta eficaz para sobrevivir a la fagocitosis macrofágica <sup>39, 40, 41</sup>.

### 3. INFECCIÓN ENDODÓNTICA

#### 3.1.E. *FAECALIS* Y SU RELACIÓN LA ENFERMEDAD ENDODONTICA.

La enfermedad endodontica se caracteriza por presentar una microbiota mixta. Generalmente, se pueden encontrar más de tres especies distintas de microorganismos dentro de un canal radicular con <sup>3, 5</sup>. *E. faecalis* ha sido identificado ocasionalmente en los canales radiculares de dientes con esta patología <sup>18</sup>. En las lesiones endodónticas persistentes *E. faecalis* ha sido señalado como un microorganismo predominante <sup>4, 42</sup>. Este microorganismo es el patógeno más frecuente, y a veces el único aislado en la lesión endodóntica secundaria, lo que sugiere que esta especie por sí sola tiene el potencial de mantener la infección <sup>28</sup>. Para que este microorganismo pueda causar una enfermedad post-tratamiento, debe sobrevivir dentro de los canales radiculares ya obturados y poseer las propiedades patogénicas necesarias para perpetuar la inflamación externa. Además, debe ser capaz de tolerar las condiciones ecológicas existentes en los canales radiculares tratados endodónticamente. Este microorganismo se encuentra en las pulpas necróticas y se aloja en túbulos dentinarios, ramificaciones, deltas apicales, situación que le es propicia a la hora de restablecer la infección endodóntica <sup>26, 27, 43</sup>. La presencia de este microorganismo en etapas iniciales de la infección, podría asociarse con posibles fracasos endodónticos, y subsecuentes a enfermedades sistémicas si éste no es eliminado en su totalidad durante la irrigación e instrumentación biomecánica <sup>21</sup>. *E. faecalis* es menos sensible a las terapias antimicrobianas, y gracias a esto persiste con mayor frecuencia en los conductos radiculares luego de los procedimientos endodónticos. Además, esta bacteria puede colonizar el interior de los canales radiculares o invadir la obturación de los mismos por filtración coronal luego de la terapia endodóntica <sup>26, 27</sup>.

#### 3.2. INFECCIÓN PRIMARIA

Después de la necrosis pulpar originada por caries, traumas, restauraciones inadecuadas o grietas en el esmalte producidas durante la preparación de la cavidad, se originan rutas de acceso a los tejidos dentinarios que conlleva a una infección pulpar <sup>11</sup>, en donde las bacterias orales comienzan a colonizar el conducto radicular estableciéndose dentro de la anatomía intraconducto y formando verdaderas biopelículas, originando una lesión que se desarrolla alrededor de la raíz, y la cual es denominada periodontitis apical y puede presentarse clínicamente como asintomática o sintomática <sup>12, 13</sup>.

En la fase inicial de la infección endodóntica, el número de especies bacterianas es normalmente bajo, y puede variar entre 1 a 12 tipos de bacterias diferentes, y el número de células puede variar entre  $10^2$  a  $10^8$  por muestra. Se demostró que los microorganismos son los causantes de las infecciones peri-radicales y hasta el momento se han descubierto más de 460 taxones bacterianos asociados a las patologías endodónticas, demostrando que un diente con lesión siempre presenta una infección polimicrobial en la cual una sola especie puede jugar diferentes roles o puede dominar varios estadios de la lesión, sin llegar a producir por sí sola el desarrollo de la lesión <sup>14</sup>.

15.

Factores como la disponibilidad de nutrientes, la habilidad para obtenerlos y el pH local dentro del conducto influyen en el crecimiento de determinada microbiota y en la inhibición de otros microorganismos <sup>16, 17</sup>. El consumo de oxígeno y la producción de dióxido de carbono y de hidrogeno acompañado de un bajo potencial de óxido-reducción provocado por las primeras bacterias colonizadoras, favorece el crecimiento de bacterias anaerobias, las cuales son capaces de utilizar aminoácidos y péptidos. Esta es una de las razones por las cuales en la microflora radicular predominan bacterias anaerobias facultativas en la parte coronal de la raíz expuesta a la cavidad oral, y bacterias anaerobias en la parte apical <sup>16, 18</sup>.

Diferentes estudios han mostrado las fases de crecimiento bacteriano dentro del canal radicular, inicialmente hay un rápido crecimiento de bacterias sacarolíticas que consumen altos niveles de carbohidratos dando lugar a la formación de ácido láctico. En la segunda fase, las proteínas son hidrolizadas, algunos aminoácidos son fermentados y los carbohidratos se separan de las glicoproteínas del suero <sup>18</sup>.

Diferentes estudios indican que hay mayor diversidad y número de bacterias en infecciones sintomáticas en comparación con lesiones asintomáticas, por lo tanto la capacidad de la comunidad bacteriana para causar enfermedad está relacionada con la patogenicidad colectiva, sugiriendo que la composición de la comunidad bacteriana puede ser mucho más importante para el desarrollo y la intensidad de los síntomas, que la sola presencia de una sola especie potencialmente patógena <sup>19, 20</sup>.

En las lesiones endodónticas primarias las bacterias que se encuentran son anaerobias facultativas (69%) y bacterias Gram-positivas (70%), las especies aisladas más comunes pertenecen a los géneros *Peptostreptococcus*, *Streptococcus spp.*, *Porphyromonas spp.*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Eubacterium* y *Campylobacter* <sup>19, 20</sup>. La evidencia actual sugiere que algunas bacterias anaerobias Gram-negativas están estrechamente relacionadas con la etiología de las lesiones periapicales sintomáticas, incluyendo procesos agudos, fiebre y dolor severo. Se ha encontrado que algunas de estas especies también se han aislado en lesiones asintomáticas, debido a la capacidad de variar sus factores de virulencia permitiendo su presencia en los dos tipos de patología <sup>20</sup>.

### **3.3. INFECCIÓN SECUNDARIA**

Las infecciones secundarias son causadas por microorganismos que no estaban presentes en la infección primaria y que han penetrado en el sistema de conductos radiculares durante el tratamiento, entre las citas, o después de la conclusión del tratamiento endodóntico. Si los

microorganismos que penetraron el conducto tienen éxito en la supervivencia y colonización de los conductos radiculares, se establece una infección secundaria <sup>9, 11</sup>.

Los factores ambientales ejercen influencia en el conducto radicular durante y después del tratamiento, lo que puede seleccionar ciertos tipos de microorganismos para colonizar o sobrevivir, por lo tanto, las pocas especies microbianas que tiene esta capacidad pueden estar involucradas en el pronóstico del tratamiento endodóntico <sup>9</sup>.

### **3.4. INFECCIÓN PERSISTENTE**

Las infecciones persistentes son causadas por microorganismos presentes en la infección primaria o secundaria y que persistieron en el conducto después del tratamiento y lograron sobrevivir. Las bacterias presentes en las lesiones pueden ser identificadas después de la instrumentación, de la medicación intraconducto o de la obturación.

No se ha establecido bien si las bacterias presentes en la zona periapical de dientes tratados endodónticamente que presentan lesión son bacterias que persisten después del tratamiento (lesión persistente), llamadas bacterias sobrevivientes a corto plazo o son una consecuencia de la reinfección (lesión secundaria), bacterias denominadas sobrevivientes a largo plazo <sup>4</sup>. Sin embargo, la evidencia parece indicar que la causa del fracaso del tratamiento endodóntico son las lesiones persistentes, ya que es mayor la incidencia de este tipo de lesiones en dientes que presentaban lesiones preoperatorias, por el contrario se ha evidenciado una mayor tasa de éxito en los dientes vitales que fueron sometidos a tratamiento endodóntico <sup>8</sup>.

Generalmente una o unas pocas especies se recuperan de los conductos de dientes con lesiones después del tratamiento endodóntico, estos son predominantemente microorganismos Gram positivos y hay una distribución equitativa de anaerobios facultativos y estrictos, siendo los más comunes *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus* y *E. faecalis*. Esta flora microbiana es claramente diferente a la encontrada en infecciones de dientes sin tratar, donde

normalmente es una población polimicrobiana con proporciones casi iguales de especies Gram positivas y Gram-negativas, con predominio de anaerobios estrictos <sup>14, 18</sup>.

El diagnóstico de las lesiones persistentes está basado en el examen clínico y radiográfico: la presencia de inflamación de los tejidos adyacentes, tracto sinuoso, dolor a la percusión, a la palpación, examen de oclusión y de los tejidos periodontales son componentes esenciales en los exámenes de rutina. Las lesiones inflamatorias por lo general comprometen el hueso esponjoso y no llegan a las corteza por lo que en algunos casos son difícilmente perceptibles en las radiografías convencionales <sup>22</sup>.

Dentro de los factores que influyen en la persistencia de bacterias después de la finalización de un tratamiento de conducto esta la resistencia bacteriana a la acción de los irrigantes utilizados en la práctica endodóntica. El hipoclorito de sodio (NaOCl) sigue siendo el irrigante más utilizado, a pesar que diferentes estudios han demostrado la presencia bacteriana en un 40-60% de los casos después de su uso a diferentes concentraciones que van desde 0.5% - 6%. En estudios in vitro sobre EDTA se ha demostrado su capacidad de limpieza y de desprender biopelículas que se adhieren a las paredes del conducto radicular, así como también su efectividad en remover el barro dentinal afectando el componente inorgánico de la dentina, sin embargo sus propiedades antisépticas son relativamente limitadas. En estudios previos se demostró la eficacia de utilizar NaOCl al 5% intercambiándolo regularmente y terminando la irrigación con EDTA al 17% para la eliminación de flora bacteriana, incluyendo el *Enterococcus faecalis*.

La utilización de hidróxido de calcio como medicamento intraconducto genera una alcalinización no homogénea a lo largo del conducto radicular, generando pH más altos en la parte coronal y cervical y pH más bajos en la parte apical. Las bacterias capaces de tolerar altos niveles alcalinos pueden dividirse en dos grupos: las bacterias alcalófilas que necesitan un pH 9 para su crecimiento y las bacterias alcalotolerantes como los *E. faecalis*, las cuales crecen óptimamente en un pH neutro <sup>25</sup>.

Debido a la escasez de nutrientes las bacterias varían su comportamiento e inician la etapa de inanición y de interacción con otras bacterias para obtener aminoácidos y vitaminas, limitando las cantidades de nutrientes que requieren, para ahorrar la energía que será utilizada en el metabolismo con el fin de garantizar la supervivencia por largos periodos de tiempo <sup>25</sup>.

El barro dentinal ha demostrado ser una barrera mecánica para la penetración de bacterias, aunque en estudios in vitro, el *E. faecalis* penetra los túbulos aún en presencia de barro dentinal. Los mecanismos por los cuales las bacterias invaden los túbulos no está claro todavía, sin embargo, la capacidad de penetración no parece depender de la motilidad de las células bacterianas, ya que la mayoría de especies que mejor invaden los túbulos son inmóviles <sup>22, 24</sup>.

El uso indiscriminado de antibióticos en medicina y odontología ha hecho que las bacterias aumenten su resistencia, volviéndolas no susceptibles a los antibióticos formulados hasta el momento para el manejo de infecciones comunes. Bacterias de diferentes especies pueden cambiar la expresión de genes gracias al proceso de adaptación, modificando así los factores de virulencia determinantes en la patogenicidad bacteriana. En lesiones secundarias/persistentes la asociación entre especies bacterianas endodónticas y las no susceptibles a los antibióticos, resulta en una potencialización de esta resistencia. Se ha informado de la resistencia bacteriana en infecciones endodónticas en un 9-19%, las bacterias Gram-negativas predominantes en lesiones primarias, son eliminadas en su mayoría, mediante la exposición al NaClO y la exposición de oxígeno, solo se ha demostrado la resistencia antibiótica de algunas cepas productoras  $\beta$ -lactamasas, mientras que las bacterias Gram-positivas como el *E. faecalis* han demostrado en estudios in vitro ser resistentes a la vancomicina y macrólidos <sup>6, 27, 28</sup>.



## **4. PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA**

Para realizar la identificación de *E. faecalis* de las demás especies de Enterococos, las pruebas bioquímicas que permiten el diagnóstico del género son: catalasa (negativa), hemólisis ( $\alpha$ ), bilis esculina (+), PYR (+) y RapID STR Remel <sup>71</sup>.

### **4.1.PRUEBA DE CATALASA**

Evidencia la presencia de la enzima catalasa del *E. faecalis*. Esta enzima es capaz de descomponer el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) en agua y oxígeno, por consiguiente se presenta una prueba negativa para la identificación del microorganismo <sup>72</sup>.

### **4.2.PRESENCIA DE HEMOLISIS**

La presencia de un halo transparente alrededor de la colonia donde los glóbulos rojos han sido completamente lisados. Este patrón es designado hemólisis de tipo beta y es de considerable importancia para *E. faecalis* <sup>73</sup>.

#### **4.3.BILIS ESCULINA**

*E. faecalis* es una bacteria capaz de hidrolizar la esculina a esculetina y glucosa. La reacción de la esculetina a citrato amónico férrico es la causa por la cual el halo marrón negrozco pasa a negro alrededor de las colonias. La bilis de buey inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas excepto de los Enterococos, mientras que la Azida sódica suprime las bacterias Gram negativas <sup>74</sup>.

#### **4.4.PYRROLIDONYL ARILAMIDASA PYR**

PYR es un método colorimétrico rápido para la identificación presunta de *E. faecalis* en función de la actividad de la enzima pirolidonil arilamidasa. La beta-naftilamida del ácido Lpiroglutámico se impregna en el disco y sirve como sustrato para la detección de la Pirolidonil Arilamidasa. La hidrólisis del sustrato produce beta-naftilamida que se combina con el Reactivo PYR (p-dimetilamino-cinamaldehído) para formar un color rosa brillante a rojo cereza <sup>75</sup>.

#### **4. 5.RAPID STR REMEL**

Es un panel de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos Gram positivos, las pruebas usadas en el sistema RapID STR se basan en la degradación microbiana de sustratos específicos detectados por varios sistemas indicadores. Los reactivos utilizados son una combinación de pruebas convencionales y pruebas cromogénicas de monosustrato. *E. faecalis*

presenta pruebas positivas para Arginina, Esculina, Manitol, Sorbitol, Glucosa, p-nitrofenil-nacetil- $\beta$ , D-glucosaminida, p-nitrofenil fosfato y PYR <sup>76</sup>.

## **5. PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANAS**

Se encuentran diferentes métodos para poder determinar la sensibilidad de los microorganismos a medicamentos antimicrobianos. El más conocido es el antibiograma por dilución que puede llevarse a cabo en caldo o en agar y el antibiograma por difusión en agar.

### **3.1. TÉCNICA DE DILUCIÓN**

La técnica de dilución se basa en la realización de una serie de diluciones del antibiótico frente a una concentración determinada del microorganismo. Esta técnica determina la concentración del antimicrobiano requerida para inhibir el crecimiento bacteriano (concentración mínima inhibitoria, MIC) y usualmente se expresa en microgramos por mililitro (ug/ml). Puede realizarse en caldo o en agar y aunque no es un método de rutina debido a que es muy costosa y dispendiosa puesto que implica realizar una serie de diluciones por cada antibiótico, es una técnica muy precisa y da una estimación cuantitativa que indica la sensibilidad o resistencia del microorganismo frente al antibiótico <sup>43, 44</sup>.

### **5.1. TÉCNICA DE DIFUSIÓN**

También llamada método de Kirby Bauer, utiliza discos impregnados con una concentración de antimicrobiano determinada que se coloca sobre una agar Mueller-Hinton con una concentración

bacteriana conocida ( $1$  a  $2 \times 10^8$ ) UFC/ml. La preparación se incuba por un período determinado durante el cual, el antibiótico se difunde dentro del agar. A una distancia específica para cada disco, se logra establecer la MIC que se reconoce por la presencia de un halo de inhibición de crecimiento. El diámetro de cada zona debe ser medido e interpretado de acuerdo a estándares internacionales preestablecidos. El tamaño de la zona de inhibición, se puede afectar por factores como el medio de cultivo utilizado, las condiciones de incubación y la sensibilidad antimicrobiana del microorganismo que se está probando. Es una técnica muy rápida, económica y de fácil ejecución aunque la sensibilidad se valora subjetivamente y no se pueden conocer las concentraciones de los antibióticos a las cuales es sensible el microorganismo <sup>43, 45</sup>.

## **5.2.PRUEBA DE EPSILON**

En los últimos años se ha incrementado el uso de un nuevo método para determinar la actividad antimicrobiana denominado E-test (prueba de Epsilon). Esta técnica incluye el uso de una tira de plástico que conlleva un gradiente de concentraciones del antimicrobiano. Una vez colocada la tira sobre el agar el antimicrobiano comienza a difundir y produce resultados tanto cualitativos como cuantitativos de la susceptibilidad del microorganismo frente al agente probado, es decir, permite cuantificar la MIC <sup>43, 44</sup>.

## **5.3.INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN**

### **5.3.1. Categorías de interpretación de resultados**

Susceptible: una infección debida a la cepa puede ser tratada con las dosis de agente antimicrobiano recomendada para este tipo de infección y especie infectante <sup>43,46</sup>.

Intermedia: Incluye aislamientos con MIC similares a los niveles de medicamentos usualmente encontrados en sangre y tejidos y para los cuales las tasas de respuesta pueden ser menores que

para los aislamientos susceptibles. Esta categoría implica eficiencia clínica en sitios del cuerpo donde los medicamentos se concentran fisiológicamente o en casos donde la dosis usada puede ser mayor <sup>43,46</sup>.

Resistente: Cuando el microorganismo no es inhibido por el antimicrobiano a las dosis que normalmente se usan <sup>43, 46</sup>.

## 6. DISEÑO METODOLÓGICO

**Tipo de estudio:** Descriptivo.

**Muestra:** Se utilizaron 40 aislados de *E. faecalis* provenientes de pacientes con enfermedad endodóntica, estos aislados habían sido utilizados en la primera fase del estudio y conservados en leche descremada a -70°C.

**Población:** Aislados de pacientes que acuden a las clínicas odontológicas de la Universidad Nacional de Colombia – sede Bogotá. De estos se escogieron solo las muestras que tenían patología endodóntica en un periodo comprendido entre Enero a Octubre de 2016

**Variable:** Nominal-Categórica

Perfil de resistencia de *E. faecalis* frente a amoxicilina, eritromicina, vancomicina, cefotaxime, clindamicina, ciprofloxacina y metronidazol.

### 5.1. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 5.1.1. Obtención de las muestras.

Las muestras fueron tomadas para hacer parte de un trabajo realizado por una estudiante de Endodoncia de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Donde obtuvo 69 muestras de pacientes que acudieron a las clínicas, tuvo como criterio de exclusión pacientes con tratamiento endodóntico por primera vez 29 (42,02%) y retratamiento endodóntico 40 (57,97%). De los cuales 40 casos fueron causados por *E. faecalis*. Fueron conservados en leche descremada a -70°C durante tres meses en el Cepario del laboratorio de Microbiología Oral. Primero se procedió a sacar los viales para descongelar las bacterias, posteriormente se mezcló por 1 minuto en el agitador Vortex Mirer LVM 202, a fin de homogeneizar el contenido.

### 5.1.2. Cultivo de las muestras y posterior incubación de los medios.

Después de homogenizar el contenido se tomó 100 µl y se sembraron en medio de cultivo Agar sangre y medio de cultivo selectivo Bilis-esculina.

Posterior a la colocación del inóculo en las cajas, se extendió la muestra por toda la superficie del medio con asa de Drigalsky estéril. Luego se incubaron los medios a 37°C por 24 horas en condiciones de microaerofilia en la incubadora Memmert.

### 5.1.3. Observaciones macroscópicas

Las muestras sembradas en agar sangre e incubadas por 24 horas a 37°C, se observó crecimiento de colonias pequeñas, blancas y opacas; de morfología circular y de borde liso y la mayoría presentaban alfa-hemólisis <sup>37</sup>. En Agar bilis-esculina se tomaron las colonias de color negro sospechosas de *E. faecalis*, ya que es una bacteria capaz de hidrolizar la esculina a esculetina y glucosa. La reacción de la esculetina a citrato amónico férrico es la causa por la cual el halo marrón negrozco pasa a negro alrededor de las colonias.

### 5.1.4. Observaciones microscópicas

A partir de las colonias bacterianas obtenidas en agar sangre que presentaban similitud con las colonias de *E. faecalis* se realizó coloración de Gram donde se observa Cocos Gram positivos<sup>37</sup>.

### 5.1.5. Pruebas de identificación bacteriana

Para la identificación de *E. faecalis* se realizaron pruebas de exclusión como catalasa que es negativa, prueba Pyrrolidonyl Arilamidasa (PYR) positiva para *E. faecalis* y pruebas colorimétricas de la marca Remel (RapidID STR Remel); se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego se realizó la lectura comparándola con una tabla de colores y el código fue introducido en el Software Eric y por último se realizó la clasificación según información obtenida según los pacientes antes de la toma de las muestras.

### 5.1.6. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Los antibiogramas se realizaron mediante una suspensión de *E. faecalis* aislados del canal endodóntico en solución salina estéril hasta obtener una turbidez de acuerdo a la escala 0.5 escala de Mac Farland utilizando la técnica de difusión de disco o Kirby Bauer en medio Mueller-Hinton. Mediante esta técnica se probaron los siguientes antibióticos: amoxicilina, eritromicina, vancomicina, cefotaxime, clindamicina, ciprofloxacina y metronidazol.

#### 5.1.6.1. Lectura de los antibiogramas.

A las 24 horas se realizó la lectura de los antibiogramas donde se consideró *E. faecalis* resistente según la CLSI 2016 (tabla 1) <sup>47, 48</sup>.

**Tabla 1. Puntos de corte para *E. faecalis* según la CLSI 2016**

	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
AMOXICILINA	>17 mm	14-17	<13 mm
VANCOMICINA	>17 mm	15-16	<16 mm
ERTITROMICINA	>23 mm	-	<13 mm
CEFOTAXIMA	>26 mm	15-25	<14 mm
CLINDAMICINA	>21 mm	-	<14 mm
METRONIDAZOL	-	-	.
CIPROFLOXACINO	>21 mm	16-20	<15 mm

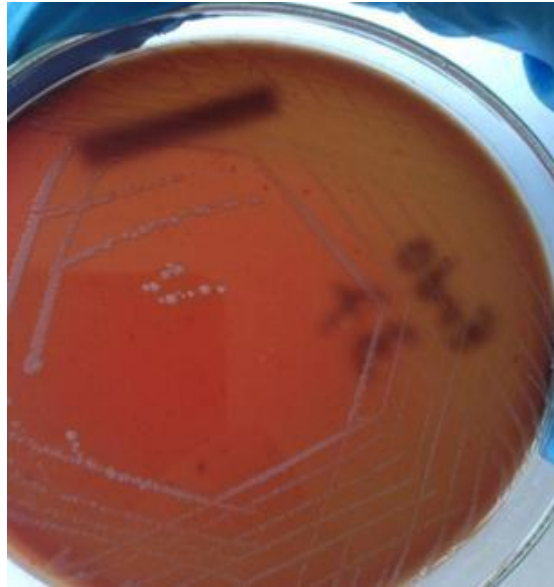
## 6. RESULTADOS

### 6.1. CULTIVO DE MUESTRAS, OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA

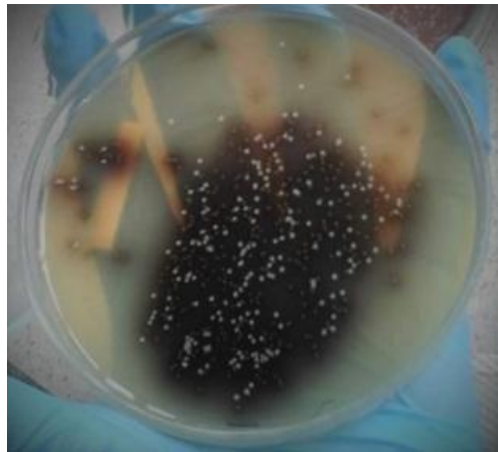
Los 40 aislados fueron sembrados e incubados a 37°C y leídos luego de 24 horas, todos los aislados crecieron en agar sangre (ilustración 1) donde se observa crecimiento de colonias de *E. faecalis* con un tamaño de 0.5 y 1 mm, opacas, blandas y con presencia de una alfa hemólisis. En medio



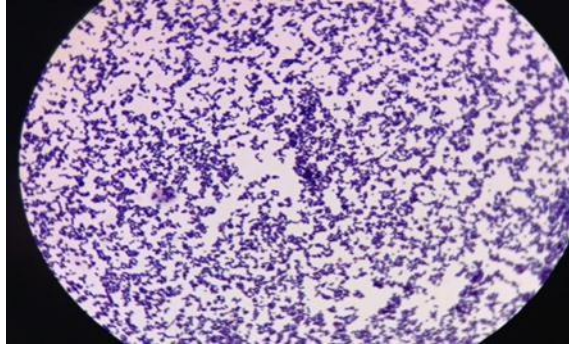
selectivo Bilis Esculina (ilustración 2) también hubo crecimiento de los 40 aislados donde se observa los halos de color negro, colonias características de *E. faecalis*. Luego de la obtención de estos resultados se procedió a realización de coloración de Gram a todos los aislados positivos para este microorganismo, (ilustración 3) donde se puede observar Cocos Gram positivos.



**Ilustración 1. Observaciones macroscópicas de las colonias y la alfa-hemolisis de *E. faecalis* en agar sangre**



**Ilustración 2. Colonias de *E. faecalis* características en medio de cultivo selectivo Bilis Esculina**



**Ilustración 3. Observación de las colonias de *E. faecalis* de cocos Gram positivos en coloración de Gram**

## **6.2. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA**

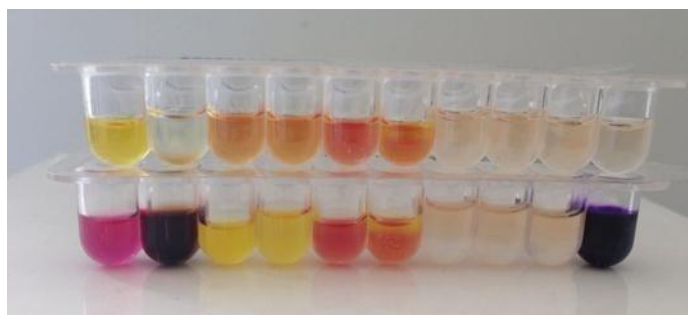
Para la identificación de los 40 aislados de *E. faecalis* se realizaron pruebas bioquímicas de exclusión como la prueba de catalasa que para todos los aislados fue negativo como se observa en la (ilustración 4), pruebas Pyrrolidonyl Arilamidasa PYR (ilustración 5) donde *E. faecalis* es el único positivo del grupo Enterococo y por último se realizó pruebas bioquímicas mediante el kit comercial para cocos Gram positivos RapID STR Remel (ilustración 6) donde se observa positivo para Arginina, Esculina, Manitol, Sorbitol y PYR; las cuales fueron realizadas según inserto, incubadas por cuatro horas y leídas según la escala de colores y mediante el software ERIC se obtuvieron los resultados de los 40 aislamientos (tabla 2) donde todos fueron identificados como *E. faecalis*. 25 (62,5%) tuvieron el 99.9% de concordancia y 15 (37,5%) el 99,8% llevando a concluir que eran cepas puras para seguir con el estudio. .



**Ilustración 4. Prueba de catalasa negativa para *E. faecalis***



**Ilustración 5. Prueba Pyrrolidonyl Arilamidasa (PYR) positivo para *E. faecalis* en el lado izquierdo y negativo en el lado derecho.**



**Ilustración 6. Pruebas bioquímicas RapID STR Remel. En la parte inferior se observa el resultado positivo para *E. faecalis* de uno de los 40 aislados**

**Tabla 2. Pruebas bioquímicas RapID STR Remel para la detección de *E. faecalis***

N° DE MUESTRAS	ARG	ESC	MNL	SBL	RAF	INU	GAL	GLU	NAG	PO4	TYR	HPR	LYS	PYR	HEM	IDENTIFICACION
1, 2, 3, 5, 8, 10, 11, 12, 15, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 38, 39, 40	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	99,9% <i>Enterococcus faecalis</i>
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	
	7			1			6			1			2			
4, 6, 7, 9, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 26, 27, 28, 29, 37	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	99,8% <i>Enterococcus faecalis</i>
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	
	7			1			6			0			2			

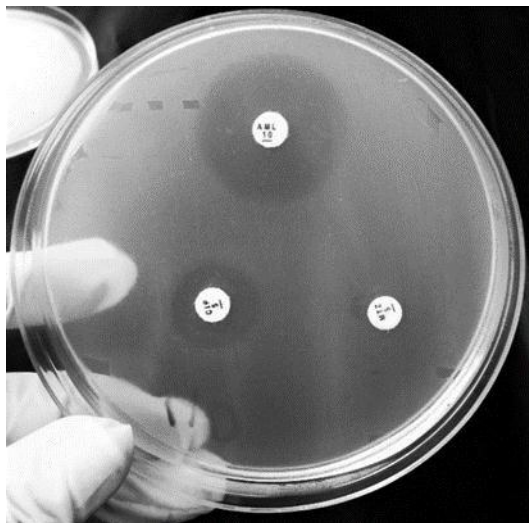
De los 40 aislados obtenidos de pacientes que asistieron a las clínicas de endodoncia se les aisló *E. faecalis* a los 40 (100%), a los pacientes que más se les halló el microorganismo fueron los que presentaron fracaso en el tratamiento (Tabla 3) que los aislados que iban por primera vez a tratamiento endodontoico.

**Tabla 3. Frecuencia de *E. faecalis* en población de estudio**

	<b>Frecuencia n=40</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<b>Sin tratamiento endodóntico previo</b>	9	22,5
<b>Fracaso en el tratamiento endodóntico</b>	31	77,5

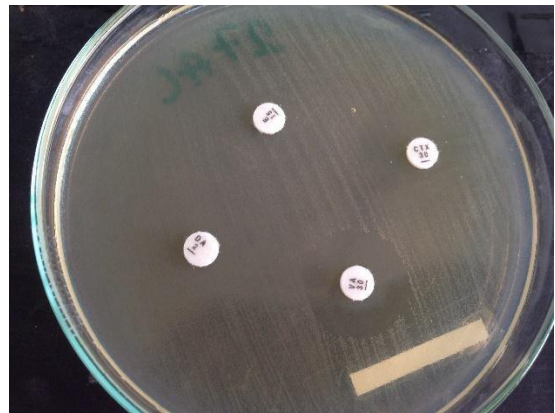
### **6.3. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA MÉTODO KIRBYBAUER**

Después de analizar todos los aislados y encontrar que todos eran *E. faecalis* se realizaron los 40 antibiogramas, cada uno con los diferentes discos de Amoxicilina, Metronidazol, Clindamicina, Eritromicina, Cefotaxime, Vancomicina y Ciprofloxacina (ilustración 11 y 12) por la técnica de difusión en disco o Kirby Bauer. Luego de 24 horas de incubación se realiza la lectura midiendo halos de inhibición (tabla 3) donde se observa la resistencia, la sensibilidad y la sensibilidad intermedia de estos aislados, todos fueron sensibles a amoxicilina, en cuanto a ciprofloxacina 7 (17,5%) fueron sensibles, 28 (70%) tuvieron sensibilidad intermedia y 5 (12,5%) fueron resistentes; para vancomicina 30 (75%) fueron sensibles y 10 (25%) tuvieron sensibilidad intermedia. Todos los aislamientos fueron resistentes a cefotaxime, clindamicina, eritromicina y metronidazol (ilustración 9).



AML: Amoxicilina  
 CIP: Ciprofloxacina  
 MTZ: Metronidazol

**Ilustración 7. Antibiograma con discos de Amoxicilina, Ciprofloxacina y Metronidazol donde se observa los halos de susceptibilidad y la resistencia**



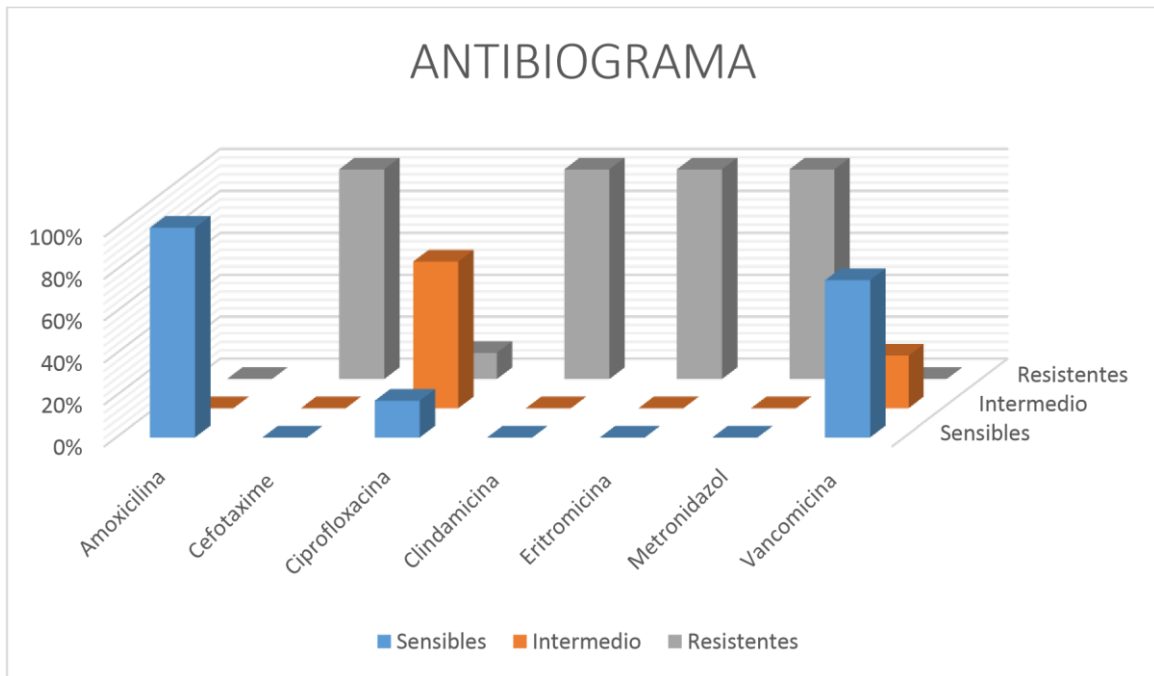
E: Eritromicina  
 VA: Vancomicina  
 DA: Clindamicina  
 CTX: Cefotaxime

**Ilustración 8. Antibiograma con discos de Eritromicina, Vancomicina, Clindamicina y Cefotaxime. Donde se observa la sensibilidad intermedia a Vancomicina**

**Tabla 4. Medición de los halos de inhibición en los antibiogramas según los puntos de corte recomendados por la CLSI 2016. Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R)**

Muestra	Amoxicilina	Cefotaxime	Ciprofloxacina	Clindamicina	Eritromicina	Metronidazo l	Vancomicin a
1	33mm S	R	11mm R	R	R	R	19 mm S
2	27mm S	R	19 mm I	R	R	R	16 mm I
3	28mm S	R	20 mm I	R	R	R	19 mm S
4	24mm S	R	19 mm I	R	R	R	19 mm S
5	29mm S	R	21 mm S	R	R	R	19 mm S
6	27mm S	R	18 mm I	R	R	R	18 mm S
7	24mm S	R	13 mm R	R	R	R	19 mm S
8	24 mm S	R	13 mm R	R	R	R	20 mm S
9	25 mm S	R	17 mm I	R	R	R	17 mm S
10	28 mm S	R	19 mm I	R	R	R	18 mm S
11	28 mm S	R	19 mm I	R	R	R	18 mm S
12	24 mm S	R	13 mm R	R	R	R	17 mm S
13	37 mm S	R	28 mm S	R	R	R	16 mm I

14	26 mm S	R	18 mm I	R	R	R	17 mm S
15	23 mm S	R	13mm I	R	R	R	18 mm S
16	22 mm S	R	15 mm S	R	R	R	19 mm S
17	35 mm S	R	26 mm S	R	R	R	18 mm S
18	17 mm S	R	31 mm S	R	R	R	17 mm S
19	45 mm S	R	25 mm S	R	R	R	19 mm S
20	30 mm S	R	25 mm S	R	R	R	16 mm I
21	30 mm S	R	16 mm I	R	R	R	16 mm R
22	30 mm S	R	14 mm R	R	R	R	18 mm S
23	18 mm S	R	16mm I	R	R	R	19 mm S
24	24mm S	R	17 mm I	R	R	R	16 mm I
25	29mm S	R	18 mm I	R	R	R	17 mm S
26	28 mm S	R	19 mm I	R	R	R	17 mm S
27	23 mm S	R	19 mm I	R	R	R	18 mm S
28	24 mm S	R	17 mm I	R	R	R	16 mm I
29	27 mm S	R	16 mm I	R	R	R	18 mm S
30	26 mm S	R	17 mm I	R	R	R	16 mm I
31	23 mm S	R	18 mm I	R	R	R	16 mm I
32	25 mm S	R	18 mm I	R	R	R	17 mm S
33	23 mm S	R	16 mm I	R	R	R	19 mm S
34	25 mm S	R	18 mm I	R	R	R	19 mm S
35	24 mm S	R	16 mm I	R	R	R	18 mm S
36	26 mm S	R	18 mm I	R	R	R	16 mm I
37	26 mm S	R	16 mm I	R	R	R	16 mm I
38	22 mm S	R	18 mm I	R	R	R	18 mm S
39	28 mm S	R	19 mm I	R	R	R	17 mm S
40	25 mm S	R	17 mm I	R	R	R	15 mm I



**Ilustración 9.** Resultados obtenidos de los 40 aislados. En el eje X se encuentra los siete antibióticos utilizados en este estudio y en el eje Y se ubican los porcentajes de aislamientos obtenidos 40 (100%)

## 7. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *E. faecalis* y hallar la frecuencia de la resistencia antimicrobiana en aislados provenientes del canal endodóntico, ya que si bien, se conoce que este patógeno está involucrado en fracasos endodónticos debido a la alta virulencia que presenta.

Una vez logra entrar en el conducto radicular, puede adherirse al colágeno de la dentina y al colágeno del tejido óseo y de otros tejidos, también puede penetrar en los túbulos dentinarios, resistir a medicamentos y formar biopelícula, originando lesiones periapicales persistentes <sup>78</sup>. El presente estudio se realizó en 40 aislados provenientes del canal endodóntico de pacientes que acudieron a la clínica de odontología de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá. Donde por medio de métodos microbiológicos se confirma la presencia de *E. faecalis* como principal patógeno causante de dichas lesiones, eso se corrobora con Maria A. Rivas et al <sup>79</sup> donde a 32 personas se

les recolecto muestras de conductos radiculares y se le realizaron pruebas microbiológicas como coloración de Gram, prueba de catalasa, pruebas PYR, pruebas bioquímicas para la identificación de *E. faecalis* y la realización de pruebas de susceptibilidad por el método Kirby Bauer. Dichos aislados conservados en leche descremada a  $-70^{\circ}\text{C}$  no fueron contaminados ya que en estudios anteriores tuvieron una identificación adecuada y las condiciones de conservación fueron las pertinentes.

En Colombia pocos estudios evalúan la susceptibilidad antimicrobiana en tratamiento de conducto y eso se debe al uso de la pasta triantibiótica recomendada por los odontólogos (amoxicilina, ciprofloxacina y metronidazol) para que actué frente a la diversidad microbiana que se encuentra en boca. Un estudio es el descrito por Gina et al <sup>70</sup> donde se determinó la proporción de *E. faecalis* en muestras de pacientes que acudieron a la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena con infecciones endodónticas donde se tomaron 114 muestras de las cuales 62 (54,38%) eran causadas por *E. faecalis*.

Es de suma importancia conocer la resistencia antimicrobiana en la enfermedad endodóntica para ofrecer el tratamiento adecuado al paciente y no generar resistencias a los diferentes antibióticos. En pacientes diagnosticados con infección del canal radicular que requieren antibioticoterapia oral, esta se inicia días antes de la realización de la endodoncia del diente afectado, en esta técnica se retira el material necrótico del conducto irrigándolo con soluciones bactericidas y bacteriostáticas con el objetivo de “esterilizar” el canal favoreciendo la penetración de los antibióticos.

La resistencia de *E. faecalis* a los diferentes antibióticos probados por Lysakowska et al <sup>59</sup> mostro que dicho microorganismo no presentaba resistencia a la penicilina, Pinheiro et al <sup>60</sup> reportaron una sensibilidad a la amoxicilina del 100%, comparado con lo encontrado en este estudio donde los 40 aislados obtenidos presentan dicha sensibilidad, se puede sugerir que la amoxicilina es el antimicrobiano de elección para tratamientos endodónticos. Son escasos los reportes en la literatura del comportamiento de *E. faecalis* frente a metronidazol, su alta resistencia fue corroborada por



Barbosa-Ribeiro et al <sup>61</sup>, Zhu et al en <sup>62</sup> y Jungermann en el <sup>63</sup> con resultados similares a lo encontrado en el presente estudio ya que el metronidazol es suministrado para tratamientos causados por otros microorganismos. *E. faecalis* ha mostrado susceptibilidad variable a ciprofloxacina en los estudios de Ferrari et al <sup>64</sup>, Barbosa-Ribeiro et al <sup>68</sup> y Al-Ahmad et al <sup>65</sup> eso se correlaciona con lo encontrado en este estudio, donde se sugiere que se realicen pruebas moleculares para mirar los genes de resistencia y poder ser suministrado junto a otro antibiótico para tratamientos causados en el canal endodóntico. Emilia et al <sup>66</sup> demostró que los macrolidos, lincosamidas y cefalosporinas no se utilizan para tratamientos endodónticos con presencia de *E. faecalis* debido a la resistencia intrínseca que presenta este microorganismo a la clindamicina, eritromicina y cefotaxima, debido a la adquisición de genes de resistencia en plásmidos, transposones o mutaciones espontáneas. Maria et al <sup>67</sup> realizaron investigaciones para determinar los microorganismos asociados a enfermedad pulpar relacionadas a lesiones inflamatorias donde se encontró que *E. faecalis* es sensible a la vancomicina, siendo de interés epidemiológico ya que se podría garantizar un tratamiento efectivo para este tipo de germen presente en boca, lo que se encuentra en concordancia con lo encontrado en este estudio con aislados en su mayoría sensibles a este antibiótico, contrario a los resultados obtenidos en esta investigación aislados intrahospitalarios causados por *E. faecalis* se encuentra una resistencia a la Vancomicina (Enterococos Vancomicina Resistente) es lo encontrado por Giron et al <sup>68</sup>.

La presencia de este microorganismo en el canal radicular de los dientes afectados, sugiere revisar los protocolos de irrigación para la eliminación de *E. faecalis*, ya que según las características de este patógeno, se hace muy difícil de erradicar del sistema de canales radiculares con protocolos de irrigación convencionales. Asimismo, se vuelve decisiva la búsqueda de antibióticoterapias a los que este patógeno sea susceptible. De esta forma, se podría contribuir al éxito de la terapia endodóntica <sup>70</sup>.

## 8. CONCLUSIONES

- Se encontró la presencia de *E. faecalis* en los 40 aislados obtenidos de pacientes con enfermedad endodóntica.
- Todos los aislados fueron sensibles a amoxicilina, se puede sugerir como antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones endodónticas.
- *E. faecalis* presenta una resistencia intrínseca a metronidazol, clindamicina, eritromicina, cefotaxime, por ende, no es sugerido para tratamientos a nivel de infecciones endodónticas.
- A nivel bucal se encuentra una sensibilidad a vancomicina, se sugiere realizar futuros estudios para probarla y que pueda ser utilizado para tratamientos de enfermedad endodóntica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lins RX, de Oliveira Andrade A, Hirata Junior R, Wilson MJ, Lewis MAO, Williams DW, et al. Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. *J Dent.* septiembre de 2013;41(9):779-86.

2. Pinheiro ET, Gomes BPPA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* abril de 2003;18(2):100-3.
3. Dahlén G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. *Oral Microbiol Immunol.* Octubre de 2000;15(5):309-12.
4. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. En: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editores. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [citado 29 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
5. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence.* 15 de agosto de 2012;3(5):421-33.
6. Skucaite N, Peciuliene V, Vitkauskiene A, Machiulskiene V. Susceptibility of endodontic pathogens to antibiotics in patients with symptomatic apical periodontitis. *J Endod.* octubre de 2010;36(10):1611-6.
7. Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A, Planells P, Beltrí-Orta P, Ignacio Salmerón-Escobar J, et al. Utilización de antimicrobianos en las infecciones odontogénicas en niños y adolescentes: análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD). *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* diciembre de 2008;26(10):621-8.
8. Siqueira JF, Rôças IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* noviembre de 2008;34(11):1291-1301.e3.

9. Skucaite N, Peciuliene V, Vitkauskiene A, Machiulskiene V. Susceptibility of endodontic pathogens to antibiotics in patients with symptomatic apical periodontitis. *J Endod.* octubre de 2010;36(10):1611-6.
10. Isla A, Canut A, Rodríguez-Gascón A, Planells P, Beltrí-Orta P, Ignacio Salmerón-Escobar J, et al. Utilización de antimicrobianos en las infecciones odontogénicas en niños y adolescentes: análisis farmacocinético/farmacodinámico (PK/PD). *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica.* diciembre de 2008;26(10):621-8.
11. Ortega González L. Enterococos: actualización [Internet]. Scielo.sld.cu. 2017 [cited 10 April 2017]. Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2010000400010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010)
12. Abamecha A, Wondafrash B, Abdissa A. Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* species isolated from intestinal tracts of hospitalized patients in Jimma, Ethiopia [Internet]. 2017 [cited 10 April 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4467607/>
13. Kristich C, Rice L, Arias C. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2017 [cited 24 February 2017]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
14. Lins RX, de Oliveira Andrade A, Hirata Junior R, Wilson MJ, Lewis MAO, Williams DW, et al. Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections. *J Dent.* Septiembre de 2013;41(9):779-86. [Internet]. [cited 14 March 2017].
15. Schouten MA e. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. The European VRE Study Group. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov.

- 2017 [cited 14 March 2017]. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10508041>
16. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico [Internet]. Actaodontologica.com. 2017 [cited 6 April 2017]. Available from:  
<http://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-12/>
  17. cercenado e. Enterococcus: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España [Internet]. ELSEVIER DOYMA. 2017 [cited 15 April 2017]. Available from:  
<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/ccs-2010bacteriologia.pdf>
  18. Rivas M, Shadia Y, Daboin I, Díaz C, O. E, Paredes L. Frecuencia de aislamiento y susceptibilidad *Enterococcus faecalis* en pacientes endodónticos [Internet]. Erevistas.saber.ula.ve. 2017 [cited 14 April 2017]. Available from:  
<http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/odontoula/article/view/7067>
  19. Mittal N, Jain J. Antibiotics as an intracanal medicament in endodontics: A review [Internet]. Sciencedirect.com. 2017 [cited 12 April 2017]. Available from:  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0975962X12000123>
  20. Kapur S. Comparative Prevalence of Antimicrobial Resistance in Community-Acquired Urinary Tract Infection Cases from Representative States of Northern and Southern India [Internet]. NCBI. 2017 [cited 2 May 2017]. Available from:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4225884/>
  21. Medell M, Hart M, Batista M. Sensibilidad antimicrobiana in vitro en aislamientos de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* obtenidos de pacientes hospitalizados [Internet]. SCIELO. 2017 [cited 2 May 2017]. Available from:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572014000500007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572014000500007)

22. Siqueira JF, Rôças IN, Alves FRF, Silva MG. Bacteria in the apical root canal of teeth with primary apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Mayo de 2009; 107(5):721-6. [Internet]. [cited 20 Jun 2017].
23. Siqueira JF, Rôças IN. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. *J Oral Microbiol.* 10 de agosto de 2009;1. . [Internet]. [cited 20 Jun 2017]
24. Ramsey M, Hartke A, Huycke M. The Physiology and Metabolism of Enterococci. En: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editores. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [citado 20 de Jun de 2016]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190432/>
25. Portenier I, Waltimo TMT, Haapasalo M. *Enterococcus faecalis*– the root canal survivor and ‘star’ in post-treatment disease. *Endod Top.* 1 de noviembre de 2003;6(1):135-59. . [Internet]. [cited 20 Jun 2017]
26. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *J Endod.* febrero de 2006;32(2):93-8.
27. Siqueira JF, Rôças IN. Distinctive features of the microbiota associated with different forms of apical periodontitis. *J Oral Microbiol.* 10 de agosto de 2009;1. [internet]. [13 de Agosto del 2017].

28. Adl A, Shojaee NS, Motamedifar M. A Comparison between the Antimicrobial Effects of Triple Antibiotic Paste and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J*. 2012;7(3):149-55. [internet].
29. Schirrmeister JF, Liebenow A-L, Pelz K, Wittmer A, Serr A, Hellwig E, et al. New bacterial compositions in root-filled teeth with periradicular lesions. *J Endod*. febrero de 2009;35(2):169-74. [internet].
30. Siqueira JF, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. junio de 2009;107(6):870-8.
31. Chavez de Paz LE, Chávez de Paz L. Redefining the persistent infection in root canals: possible role of biofilm communities. *J Endod*. junio de 2007;33(6):652-62.
32. Svensäter G, Bergenholtz G. Biofilms in endodontic infections. *Endod Top*. 1 de noviembre de 2004;9(1):27-36.
33. Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M. Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. *J Endod*. abril de 2013;39(4):473-7.
34. Jawetz, Melnick y Adelberg. *Microbiología medica* [Libro]. [Cited 3 Sept 2017]
35. J A. Girón-González, R. Pérez-Cano. Tratamiento de las infecciones por enterococo [Internet]. *Revista Clinica Española* 2003. [Cited 3 Sept 2017]. Available from: <http://www.revclinesp.es/es/tratamiento-las-infecciones-porenterococo/articulo/13051438/>
36. Antonio Oliver Palomo. Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS EN *Enterococcus*. Control Calidad SEIMEC.

[Cited 19 sept 2017]. Available from:  
<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/Vre.pdf>

37. Juan Silva A., Leyla Asserella R., Nury Bolados G., Nelson Herrera H. y Johanna Leyton O. Resistencia a antimicrobianos en cepas de *Enterococcus* sp aisladas en hospitales del norte de Chile. *Revista Chilena en infectologia*. [cited 19 sept 2017]. Available from:  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182006000300005](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182006000300005)
38. J.A Giron-Gonzalez y R.Perez-Cano. Tratamiento de las infecciones por enterococo. Comentarios clinicos del servicio de medicina interna del Hospital Universitario Puerta del Mar. [Internet] [Articulo] [cited 19 sept 2017]
39. Lilia María Ortega González. Enterococos: actualización. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* oct.-nov. 2010. [Internet]. [Cited 19 sept 2017]. Available from:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2010000400010](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010)
40. Raúl Garza-Velasco, Karen Hernández-Acosta y Adriana G. Mejía Chávez. Los factores de virulencia y la actual importancia clínica de *Enterococcus faecalis*. Departamento de Biología, Facultad de Química, UNAM. [Internet]. [Cited 19 sept 2017]. Available from:  
<http://depa.fquim.unam.mx/bacteriologia/pdfs/ART%20CDC-Enterococcus.pdf>
41. MSc. Marilyn Diaz Perez; DrC Claudio Rodriguez Martinez; DraC Raisa Zhurbenko. Aspectos fundamentales sobre el genero *Enterococcus* como patogeno de elevada importancia en la actualidad. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiologia* 2010. [Internet]. [Cited 19 sept 2017].
42. PM Giridhara Upadhyaya, KL Ravikumar, BL Umapatía. Revisión de los factores de virulencia del enterococo: un patógeno nosocomial emergente. *Articulo de revision* 2009. [Internet].



- [Cited 12 Ago 2017]. Available from: <http://www.ijmm.org/article.asp?issn=0255-0857;year=2009;volume=27;issue=4;spage=301;epage=305;aulast=Giridhara#ref4>
43. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology: Amazon.co.uk: Elmer W. Koneman, Stephen D. Allen, William M Janda, Paul C. Schreckenberger, Washington C. Winn: 9780397515295: Books [Internet]. [Citado 8 de Julio de 2017]. Available from: <https://www.amazon.co.uk/Color-Atlas-Textbook-Diagnostic-Microbiology/dp/0397515294>
  44. Wistreich GA. Microbiology Laboratory Fundamentals and Applications. 2 edition. Upper Saddle River, N.J: Benjamin Cummings; 2002. 688 p.
  45. M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement - M100S25\_sample.pdf [Internet]. [Citado 8 de Agosto de 2017]. Available from: [http://shop.clsi.org/site/Sample\\_pdf/M100S25\\_sample.pdf](http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M100S25_sample.pdf)
  46. DePalma G, Turnidge J, Craig BA. Determination of disk diffusion susceptibility testing interpretive criteria using model-based analysis: development and implementation. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. [Citado 30 de Agosto de 2017]; Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073288931630044X>
  47. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. Clinical Laboratory Standard Institute January 2015. [Internet]. [Cited 10 sept 2017]. Available from: [file:///D:/RECOVERY/DESCARGAS/CLSI\\_2015.pdf](file:///D:/RECOVERY/DESCARGAS/CLSI_2015.pdf)
  48. M100-S25: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement - M100S25\_sample.pdf [Internet]. [Cited 8 de Sept de 2017]. Available from: [http://shop.clsi.org/site/Sample\\_pdf/M100S25\\_sample.pdf](http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M100S25_sample.pdf)

49. Sato T, Hoshino E, Uematsu H, Noda T. In vitro antimicrobial susceptibility to combinations of drugs on bacteria from carious and endodontic lesions of human deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol.* junio de 1993;8(3):172-6.
50. Pinheiro ET, Gomes BPPA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol.* abril de 2003;18(2):100-3. [cited 14 March 2017]
51. Portillo. A, Lantero. M, Zarazaga. M, Gastañares. MJ, Olarte. I, colb. RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS MACROLIDOS-LINCOSAMIDAS-ESTREPTOGRAMINAS Y MECANISMOS IMPLICADOS EN CEPAS CLINICAS DE *Streptococcus spp.* EN LA RIOJA. Zubia Monografico 2000. [Internet]. [cited 20 sept 2017]. Available from: <file:///D:/RECOVERY/DESCARGAS/Dialnet-ResistenciaAntibioticosMacrolidoslincosamidasestr-298124.pdf>
52. Kristich CJ, Rice LB, Arias CA. Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. En: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editores. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 [cited 20 sept 2017]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>
53. Dra. Isabel Fernández. METRONIDAZOL. [Internet]. [Cited 21 sept 2017]. Available from: <http://www.infecto.edu.uy/terapeutica/atbfa/metro/METRONIDAZOL.htm>
54. Vidana R, Sullivan A, Billström H, Ahlquist M, Lund B. Enterococcus faecalis infection in root canals - host-derived or exogenous source? *Lett Appl Microbiol.* febrero de 2011;52(2):109-15. [Internet]. [Cited 21 sept 2017]

55. German Pardi, Carolina Guilarte, Elba Ines Cardozo, Elsi Natali Briceño. Detección de *Enterococcus faecalis* en dientes con fracaso en el tratamiento endodóntico. [Internet] 2008. *Acta odontologica Venezolana*. [Cited 21 sept 2017]. Available from: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-12/>
56. Rôças IN, Jung I-Y, Lee C-Y, Siqueira JF. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J Endod*. julio de 2004;30(7):504-8. [internet]. [11 de marzo del 2018].
57. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod J*. 1 de enero de 1998;31(1):1-7. [internet]. [11 de marzo 2018].
58. Anderson AC, Hellwig E, Vespermann R, Wittmer A, Schmid M, Karygianni L, et al. Comprehensive Analysis of Secondary Dental Root Canal Infections: A Combination of Culture and Culture-Independent Approaches Reveals New Insights. *PLOS ONE*. 12 de noviembre de 2012;7(11):e49576. [internet]. [11 de marzo del 2018].
59. Łysakowska ME, Ciebiada-Adamiec A, Sienkiewicz M, Sokołowski J, Banaszek K. The cultivable microbiota of primary and secondary infected root canals, their susceptibility to antibiotics and association with the signs and symptoms of infection. *Int Endod J*. mayo de 2016;49(5):422-30. [internet]. [03 de marzo del 2018].
60. Pinheiro ET, Gomes BPF, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J*. enero de 2003;36(1):1-11. [internet]. [01 de marzo del 2018].
61. Barbosa-Ribeiro M, De-Jesus-Soares A, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, Gomes BPF. Antimicrobial Susceptibility and Characterization of Virulence Genes of *Enterococcus*

- faecalis Isolates from Teeth with Failure of the Endodontic Treatment. J Endod. 1 de julio de 2016;42(7):1022-8. [internet]. [05 de marzo del 2018].
62. Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung GSP, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of *Enterococcus faecalis* isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. J Endod. diciembre de 2010;36(12):1950-5. [internet]. [05 de marzo del 2018].
63. Jungermann GB, Burns K, Nandakumar R, Tolba M, Venezia RA, Fouad AF. Antibiotic resistance in primary and persistent endodontic infections. J Endod. octubre de 2011;37(10):1337-44. [internet]. [05 de marzo del 2018]
64. Ferrari PHP, Cai S, Bombana AC. Effect of endodontic procedures on enterococci, enteric bacteria and yeasts in primary endodontic infections. Int Endod J. junio de 2005;38(6):372-80. [internet]. [10 de marzo del 2018].
65. Anderson AC, Jonas D, Huber I, Karygianni L, Wölber J, Hellwig E, et al. *Enterococcus faecalis* from Food, Clinical Specimens, and Oral Sites: Prevalence of Virulence Factors in Association with Biofilm Formation. Front Microbiol [Internet]. 11 de enero de 2016 [citado 10 de marzo de 2018];6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4707231/>
66. Emilia Cercenado. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. ELSIVER 2011. [Internet]. [11 de marzo del 2018]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/ccs-2010bacteriologia.pdf>
67. María A, Shadia Y, Ingry D, Clara D, Elaysa S, Leonidas E. Frecuencia de aislamiento y susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* en pacientes endodónticos. Trabajo de

investigación Vol.7 N°1 2012. [Internet]. [11 de marzo del 2018]. Disponible:  
<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/35680/1/articulo2.pdf>

68. J. A. Girón, R. Pérez. Tratamiento de las infecciones por enterococo. Revista Clínica Española  
2003. [Internet]. [14 de marzo del 2018]. Disponible en:  
<http://www.revclinesp.es/es/tratamiento-las-infecciones-porenterococo/articulo/13051438/>
69. Zhu X, Wang Q, Zhang C, Cheung GSP, Shen Y. Prevalence, phenotype, and genotype of *Enterococcus faecalis* isolated from saliva and root canals in patients with persistent apical periodontitis. *J Endod*. Diciembre de 2010;36(12):1950-5. [Internet]. [10 de mayo del 2018]
70. E. COVO, G. GUTIÉRREZ, L. PALACIOS. PREVALENCIA DE *Enterococcus Faecalis* EN CONDUCTOS RADICULARES DE PACIENTES CON PATOLOGÍA PULPAR Y PERIAPICAL. Universidad de Cartagena 2014. [Internet]. [12 de mayo del 2018].  
Disponible en:  
<http://repositorio.unicartagena.edu.co:8080/jspui/bitstream/11227/1747/1/Informe%20final.pdf>
71. B. Hervé, L. Porte. *Enterococcus* Parte II\*. Retrato microbiológico. [Internet]. [19 de mayo del 2018]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v24n4/art09.pdf>
72. Catalasa. MediaUmh. [Internet]. [19 de mayo del 2018]. Disponible en:  
<https://sites.google.com/a/goumh.umh.es/practicas-demicrobiologia/indice/identificacion-bacteriana/catalasa>
73. G. Rodríguez. Género *Streptococcus* y *Enterococcus*. TEMAS DE BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA MÉDICA. [Internet]. [19 de mayo del 2018]. Disponible en:

<http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/StreptococcusyEnterococcus.pdf>

74. BD Enterococcusel Agar. INSTRUCCIONES DE USO –MEDIOS EN PLACA LISTOS

PARA USAR. 2013. [Internet]. [19 de mayo del 2018].

Disponible: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8767>

75. KIT DE PRUEBA PYR Y REACTIVO PYR. IFU. [Internet]. [19 de mayo del 2018].

Disponible en:

[https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/content/hugo/PYRTestKit\\_Rgnt.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/PYRTestKit_Rgnt.htm)

76. Identificación bioquímica inserto. OXOID. [Internet]. [19 de mayo del 2018]. Disponible en:

[http://www.analisisavanzados.com/modules/mod\\_tecdata/R8311003%20RapID%20STR%20OXOID.pdf](http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/R8311003%20RapID%20STR%20OXOID.pdf)

77. REMEL Rapid STR System INSERTO. [Internet]. [19 de mayo del 2018]. Disponible en:

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Instructions/IFU8311003.pdf>