





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

**TESIS :**

**RESISTENCIA BACTERIANA DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* CONTRA  
AMOXICILINA Y CLINDAMICINA**

Presenta:

**Verónica Icel Carranco Esparza**

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P., MEXICO, JUNIO 2021



*Resistencia bacteriana de enterococcus faecalis contra amoxicilina y clindamicina* por Verónica Icel Carranco Esparza se distribuye bajo una [licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGIA

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

TESIS :

**RESISTENCIA BACTERIANA DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* CONTRA  
AMOXICILINA Y CLINDAMICINA**

Presenta:

**Verónica Icel Carranco Esparza**

DIRECTOR DE TESIS

**Rita Elizabeth Martínez Martínez**

Doctora en Ciencias Biomédicas Básicas

CODIRECTOR

**Jairo Mariel Cárdenas**

Doctor en Ciencias Biológicas

ASESOR

**Ricardo Martínez Rider**

Cirujano Maxilofacial

SAN LUIS POTOSI, S.L.P., MEXICO, JUNIO 2021

## **Agradecimientos**

A la vida por permitirme vivir y cumplir esta meta personal y profesional.

A mis papas por el apoyo incondicional a cada una de mis metas, en especial ésta.  
Gracias por estar siempre.

A quienes conocí en el trayecto de este proyecto y quienes me permitieron aprender ,  
gracias.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo para  
la realización de mis estudios de Maestría.

## Resumen

Los enterococos resultan importantes patógenos en el área odontológica, debido a su persistencia en los conductos radiculares así como la multiresistencia a grupos antibióticos. Así mismo el *Enterococcus faecalis* ha mostrado capacidad de participar en procesos infecciosos locales, y sistémicos graves como meningitis y endocarditis infecciosa, las cuales resultan potencialmente mortales en personas sistemáticamente comprometidas.

El *Enterococcus faecalis* es uno de los principales patógenos presente en las infecciones endodónticas persistentes, por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue identificar la resistencia bacteriana que presenta el *Enterococcus faecalis* contra Amoxicilina y Clindamicina debido a que son los medicamentos de primera elección como profilácticos antibióticos, este estudio se realizó mediante espectrofotometría, durante 24 y 48 horas. Se analizó un aislado clínico de *E. faecalis* para evaluar la resistencia bacteriana a diferentes concentraciones de Amoxicilina y Clindamicina. Se concluyó que el aislado clínico de *Enterococcus faecalis*, presenta mayor resistencia antibiótica invitro a Clindamicina y una mayor susceptibilidad a Amoxicilina en todas sus concentraciones. Se recomienda el uso de Amoxicilina, como antibiótico profiláctico de primera elección. Se sugiere una evaluación periódica de la resistencia a antibióticos como una parte importante de la practica odontológica en las cepas orales que presentan mayor resistencia. así como cambiar el esquema de profilaxis en pacientes alérgicos a Amoxicilina, siguiendo esta línea de investigación.

## Índice

Agradecimientos .....	p.9
Resumen .....	p.10
Lista de cuadros y tablas.....	p.11
Introducción.....	p.14
Justificación .....	p.22
Hipótesis .....	p.23
Objetivos .....	p.23
Sujetos y métodos .....	p.24
Ética .....	p.27
Análisis estadístico .....	p.28
Resultados .....	p.28
Discusión .....	p.37
Conclusiones .....	p.38
Limitaciones y/o nuevas perspectivas de investigación .....	p.39
Bibliografía .....	p.40
Anexo 1 (carta del comite de ética)	

## Lista de tablas

Cuadro 1. Procedimientos dentales y frecuencia de bacterias.

Cuadro 2. Régimen de profilaxis antimicrobiana en procedimientos dentales AHA.

Tabla 1. Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones, a 24 y 48 horas.

Tabla 2. Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina, en diferentes concentraciones, a 24 y 48 horas.

Figura 1. Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones a 24 horas.

Figura 2. Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones a 48 horas.

Figura 3. Comparación de la resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina a 24 y 48 horas.

Figura 4. Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina en diferentes concentraciones a 24 horas.

Figura 5. Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina en diferentes concentraciones a 48 horas.

Figura 6. Comparación de la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina a 24 y 48 horas.

Figura 7. Comparación de la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina y Clindamicina a 24 horas.

Figura 8. Comparación de la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina y Clindamicina a 48 horas.



## Introducción

El microbioma oral está constituido por una gran diversidad de especies bacterianas, estas especies están distribuidas por los diferentes nichos ecológicos de la cavidad bucal, tales como las fosetas y fisuras del órgano dentario, el surco gingival y los tejidos pulpares y periapicales dentro de los cuales se encuentra al *Enterococcus faecalis*.

El *Enterococcus faecalis*, es una bacteria grampositiva anaerobia facultativa, con una alta resistencia, que soporta periodos prolongados de inanición, logrando sobrevivir en condiciones ambientales extremas y desarrollarse a temperaturas que van de los 10 a 45°C, resistiendo hasta los 60°C durante 30 minutos (Stuart et al., 2006).

El *E. faecalis* presenta una serie de factores de virulencia (enzimas líticas, citolisina, sustancia de agregación, feromonas y ácido lipoprotéico) que le confieren la capacidad la adherencia al huésped y con esto, su invasión a los tejidos, además de formar comunidades organizadas en biopelículas, característica que le confiere la capacidad de resistencia y persistencia bacteriana (Baca et al., 2011).

Recientemente, *E. faecalis* se le ha considerado un patógeno importante debido a su creciente resistencia a los antimicrobianos (Jeong S et al. 2019).

Se le ha relacionado con diferentes formas de infección radicular, principalmente en infecciones persistentes de los tejidos pulpares y periapicales, así mismo se ha asociado a las infecciones tanto primarias como secundarias, se presenta cuando el tratamiento de endodoncia llega a fracasar por diferentes motivos. (Figdor et al., 2007) (Stuart et al., 2006)

Por lo general, el tratamiento de endodoncia resulta razonablemente predecible con tasas de éxito de entre el 86% y el 98%. Sin embargo el fracaso del tratamiento se ha asociado a la persistencia de microorganismos dentro del conducto, por un procedimiento de desinfección ineficaz (Prada et al., 2019).

Estos microorganismos pueden sobrevivir a los procedimientos biomecánicos o haber invadido el canal a través de una filtración de origen coronario. (Pinheiro et al., 2003). Los estudios han revelado que la microbiota del conducto radicular de los dientes con tratamiento endodóntico fallido difiere de la que se encuentra normalmente en los dientes no tratados. Parece ser una variedad muy limitada de microorganismos, con especies Gram-positivas, anaerobias facultativas, especialmente el *Enterococcus faecalis* (Figdor et al., 2007).

En general, se cree que la principal causa del fallo endodóntico se debe a un selladoápico coronal deficiente; esto como consecuencia de preparaciones inadecuadas de los conductos, obturaciones con falta de sellado apical, conductos no tratados, transporte apical, cavidades de acceso mal diseñadas, perforaciones, vías de acceso falsas, fractura de instrumentos, filtración en la restauración, etc. Adicional a esto, existen situaciones en las que los conductos radiculares sellados adecuadamente pueden contaminarse desde la cavidad bucal debido a filtraciones a través de los materiales restauradores, ya sea temporales o permanentes; fractura de la estructura del diente; caries recurrentes que exponen el material de obturación radicular; o retraso en la aplicación del material de restauración definitivo. Por consecuencia los fluidos tisulares ricos en glicoproteínas logran filtrarse al conducto radicular, proporcionando un sustrato favorable a los microorganismos restantes, y con esto logran proliferar y alcanzar un número suficiente para generar o perpetuar la lesión perirradicular. En estas circunstancias, si el relleno de la raíz no evita la percolación de saliva, los microorganismos pueden invadir y volver a colonizar el sistema de conductos. Por tanto, cuando se produzca una exposición coronal de la obturación radicular durante un período de 30 días o más, lo más recomendable es optar por volver a realizar el tratamiento de conductos (Prada et al., 2019).

Su prevalencia oscila entre el 24 y el 77% en lesiones periapicales crónicas asintomáticas. Se ha encontrado que los casos de tratamiento de conductos radiculares fallidos tienen nueve veces más probabilidades de contener *E. faecalis* que las infecciones endodónticas primarias (Chavez de la Paz., 2003).

Peciulien y cols, (2000, 2001) han reportado una frecuencia de hasta el 70% de enterococos presentes en un aislamiento de cultivo puro o como componente principal en dientes con diagnóstico de periodontitis apical crónica, con posibilidad de diseminarse a otros espacios, debido a su capacidad de adhesión a la dentina e invadir los túbulos dentinarios.

La periodontitis apical, se asocia a dientes con tratamiento endodóntico previo, es provocada por microorganismos que alguna vez fueron miembros de infecciones primarias, secundarias, o ambas; que ganaron resistencia a la terapéutica de desinfección endodóntica y antimicrobiana durante el tratamiento de conductos, y lograron adecuarse a las condiciones ambientales radiculares. Por lo tanto se caracteriza por ser una infección mediada por biopelículas; donde la biopelícula protege a la bacteria de las defensas del huésped, lo que aumenta su resistencia a los protocolos de desinfección intraconducto, aunque por lo general, no es clínicamente posible distinguir entre las infecciones endodónticas secundarias y persistentes, los estudios moleculares y de cultivo han encontrado asociaciones entre las infecciones endodónticas secundarias y las infecciones persistentes, ya que muestran una microbiota mucho menos diversa en comparación con las infecciones primarias (Ravinanthana y col. 2018). Se reconoce que la persistencia de la

enfermedad se debe más comúnmente a las dificultades que ocurren durante el tratamiento endodóntico (Figdor, 2007).

El *E. faecalis* a nivel sistémico se ha relacionado a enfermedades como Meningitis, Infecciones nosocomiales y Endocarditis infecciosa las cuales son potencialmente mortales en personas sistemáticamente comprometidas (Figdor, 2007).

Existen reportes de que se ha encontrado el *E. faecalis* (efaA) el cual se ha identificado como uno de uno de los patógenos comunes asociados con la endocarditis infecciosa. Se ha demostrado que la expresión del factor de virulencia de endocarditis efaA es inducida por el crecimiento de *E. faecalis* en suero, y se ha demostrado que su capacidad para adherirse al colágeno juega un papel importante en la patogenia de la endocarditis,. Dado que los tejidos dentinarios comparten proteínas comunes con los tejidos cardíacos, la función de las adhesinas ace, esp y de superficie como efaA debería facilitar la adhesión bacteriana al colágeno y la matriz extracelular relevante en las infecciones endodónticas (Preethee T et al., 2012).

Desde hace más de 50 años, la diseminación hematógica de bacterias de la cavidad oral por procedimientos dentales, se ha considerado un factor decisivo en la patogénesis de enfermedades de importancia sistémica, principalmente en pacientes susceptibles (Tomas et al., 2012).

### **Endocarditis Infecciosa (EI)**

La Asociación Americana del Corazón (AH) define a la Endocarditis Infecciosa (EI), también llamada Endocarditis bacteriana, como una infección causada por bacterias que ingresan al torrente sanguíneo y se asientan en el revestimiento del corazón, las válvulas cardíacas o un vaso sanguíneo. La EI, se presenta con mayor frecuencia en personas con antecedente de alguna afecciones cardíacas.

### **Epidemiología**

La Endocarditis infecciosa resulta ser una afección común hoy en día, su incidencia en los Estados Unidos aumentó de 9,3 por 100 000 habitantes en 1998 ,a 15 por 100 000 en 2011. Se ha identificado con mayor frecuencia en hombres, con una tendencia de presentarse adultos mayores. Este aumento de la incidencia se debe, en parte, a una mayor frecuencia asociada a la atención de la salud-enfermedad(A Wang, J Gaca, V Chu, 2018).

Se describen dos tipos

- La endocarditis bacteriana aguda, avanza rápidamente y se presenta con un inicio repentino de fiebre alta, escalofríos, sepsis y complicaciones sistémicas. Esta presentación por sí sola es indistinguible de otras causas de sepsis, pero cuando también hay un soplo cardíaco de nueva aparición, se debe considerar el diagnóstico de endocarditis infecciosa aguda.

- La endocarditis bacteriana subaguda, presenta un difícil diagnóstico. Se caracteriza por desarrollar síntomas inespecíficos como fatiga, disnea o pérdida de peso durante varias semanas o meses. La fiebre puede estar presente o no.(A Wang, J Gaca, V Chu, 2018)

Los factores de riesgo que desarrollan esta enfermedad incluyen pacientes con antecedente de:

- Enfermedad de las válvulas cardíacas
- Cirugía previa de válvulas cardíacas
- Enfermedad cardíaca congénita
- Uso de medicación intravenosa
- Historia previa de IE
- Bacteremias por tratamientos dentales

(Parahitiyawa N., y col.,2009).

El origen de una bacteremia por *E. Faecalis*, podría presentarse asociada a la atención médica u adquirida en el hospital (Dahl, A et al., 2019).

Según la evidencia actual, es probable que uno de los factores etiológicos de la Endocarditis bacteriana sea de origen oral, y que las bacterias ingresen al torrente sanguíneo a través de nichos bucales por varios mecanismos (Parahitiyawa N et al., 2009).

El riesgo de bacteremia se presenta en algunos procedimientos realizados en odontología. Los procedimientos dentales que involucren manipulación del tejido gingival o de la región periapical del diente o perforación de la mucosa oral. Imperativa siempre que se prevea sangrado, tales como extracciones dentales, cirugía periodontal y periapical, colocación de implantes, hilo retractor y tratamiento de conductos.(Parahitiyawa N et al., 2009).

Se ha evidenciado que la magnitud de las bacteremias transitorias resultantes del tratamiento dental se consideran bajas y similares a la que se presenta por realizar actividades cotidianas como:

cepillarse los dientes, uso de hilo dental, o el masticar alimentos. Esto permite aceptar la especulación de que el riesgo infeccioso de las actividades cotidianas de higiene dental presentan un riesgo superior al de las intervenciones odontológicas.(Parahitayawa N et al., 2009).

A pesar de esto, estudios retrospectivos y de casos y controles, han demostrado una prevalencia estimada de Endocarditis infecciosa que varía del 5% para la bacteremia por enterococos mixtos, al 13% para la bacteremia por *E. faecalis* monomicrobiana. (Dahl, A et al., 2019).

Dahl, A et al en 2019, encontraron una alta prevalencia de EI del 26% en pacientes con bacteremia por *E. faecalis*.

Se ha demostrado que la Endocarditis Infecciosa por *E. faecalis* a ido en aumento en los últimos años, esto probablemente se encuentre relacionado con una población que llega a envejecer con más comorbilidades, antecedentes de implantes protésicos cardíacos (Dahl, A et al., 2019).

Cuadro 1 Procedimientos dentales y frecuencia de bacterias

Procedimiento dental	Frecuencia de bacteremia	Referencias
Extracción dental	16-97%	46
Cirugía periodontal	10-46%	29
Endodoncia	8-80%	19
Detartraje ultrasónico	53%	44
Colocación de aislamiento	29%	45
Sondeo periodontal	43%	14
	Skaug N, Bakken V. Complicaciones Sistémicas de las infecciones endodóncicas. Bergenholtz G, Horsted- Bindslev P, Reit C. Endodoncia. 2da Ed. El Manual Moderno. 2011:128-139.	

La American Heart Association (AHA) no recomienda la administración de profilaxis antimicrobiana en procedimientos de operatoria dental, tallado protésico, colocación de provisionales, tratamiento de conductos en los que no se rebase la unión cemento-dentinaria, colocación de postes, toma de radiografías, remoción de puntos de sutura, colocación, ajuste o remoción de aditamentos de ortodoncia, colocación de puentes removibles, exfoliación de dientes deciduos o traumatismo de los labios y la mucosa bucal; sin embargo, la administración de profilaxis antimicrobiana es imperativa siempre que se prevea sangrado.

## **Tratamiento**

Con la finalidad de evitar o reducir en lo posible situaciones infecciosas sistemáticas en este tipo de pacientes se prescribe de manera preventiva antibiótico anticipado a procedimientos dentales, no sólo enfocado a la prevención de endocarditis infecciosa, sino también evitar en lo posible infecciones a distancia (Parahitayawa et al., 2009).

El uso de los antimicrobianos está indicado en pacientes odontológicos en diversas situaciones clínicas para evitar que, debido a los procedimientos realizados, se expongan a ciertos microorganismos patógenos que podrían constituir un riesgo importante de infección focal, causada por una aglomeración primaria que se irradia a partes locales o sistémicas.

La profilaxis antimicrobiana en todas las modalidades debe administrarse una hora antes del procedimiento dental o y, si por alguna razón involuntaria el paciente no cumplió con las indicaciones, podría administrarse en el consultorio inmediatamente antes del procedimiento o, hasta 2 h después del mismo.

La Amoxicilina es el antibiótico de primera opción a utilizar en la profilaxis antimicrobiana. Es un fármaco representante de las penicilinas de amplio espectro, presenta gran actividad frente a bacterias aerobias y anaerobias de la cavidad oral. Actúa interrumpiendo la correcta formación de la pared celular bacteriana, ocasionando la muerte del microorganismo susceptible (Cubas y Asmat, 2016).

La clindamicina es la principal alternativa cuando no es posible administrar amoxicilina, debido a riesgo de anafilaxia; presenta un amplio espectro, pertenece al grupo de las lincosamidas, Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de las primeras etapas de la síntesis proteica mediante la unión a la subunidad 50S del ribosoma de la bacteria (Reusser, 1975). La clindamicina muestra una excelente actividad contra las bacterias anaeróbicas. Los estreptococos anaerobios, los bacilos grampositivos y la mayoría de los bacilos anaerobios gramnegativos muestran tasas de susceptibilidad del 93 100%. La clindamicina constituye una excelente alternativa a la penicilina, especialmente en infecciones orales severas. (Dahlen, 2002). Así mismo, la clindamicina es de elección en pacientes inmunodeprimidos o inmunosuprimidos por ser un antimicrobiano de amplio espectro con actividad contra los aerobios grampositivos y una extensa gama de bacterias anaerobias, entre ellas los patógenos productores de betalactamasa, además reduce la virulencia de las bacterias y refuerza las actividades fagocíticas de los linfocitos inmunitarios del huésped, convirtiéndolo idóneo en estos pacientes, pero siempre vigilando el riesgo de colitis asociada a antibióticos y como segunda opción en pacientes con cardiopatía alérgicos a la penicilina (Dar-Odeh NS., 2010).

Cuadro 2.

### **Régimen de profilaxis antimicrobiana en procedimientos dentales AHA**

	Antibiótico	Adultos	Niños	
Vía oral	Amoxicilina	2 gr	50 mg/kg	1 hr antes del tratamiento
Alergia a penicilina	Clindamicina	600 mg VO	20 mg/kg	1 hr antes del tratamiento
	Azitromicina	500 mg VO		
Incapacidad de Administración Oral	Ampicilina	2 gr IM o VO	50 mg/kg	1 hr antes del tratamiento
Alergia a penicilina e incapacidad de ingesta oral	Cafazolina	1gr IM o IV	50 mg/kg	1 hr antes del tratamiento
	Clindamicina	600 mg IM o IV	20 mg/kg	1 hr antes del tratamiento

## Justificación

El tratamiento de endodoncia resulta razonablemente predecible con tasas de éxito de entre el 86% y el 98%. Sin embargo el fracaso del tratamiento, se ha asociado a la presencia de microorganismos dentro del conducto, debido a un procedimiento de desinfección ineficaz, así como un sellado apico coronal deficiente (Prada et al., 2019). El microorganismo mayormente aislado asociado a estas infecciones es el *E. Faecalis*, debido a sus características que le confieren capacidades de adhesión al huésped así como formación de biopelículas, características que le confieren resistencia al proceso de desinfección endodóntica así como resistencia a algunos antibacterianos y persistencia dentro del conducto radicular, así mismo se le ha encontrado relación con enfermedades de carácter sistémico como meningitis y endocarditis infecciosa, las cuales son potencialmente mortales en pacientes sistemáticamente comprometidas.

Desde hace más de 50 años, la diseminación hematogena de bacterias de la cavidad oral por procedimientos dentales, se ha considerado un factor decisivo en la patogénesis de enfermedades de importancia sistémica, principalmente en pacientes susceptibles (Tomas et al., 2012)

El *E. Faecalis* es el microorganismo mayormente aislado asociado a reinfecciones endodónticas, así mismo se le ha encontrado relación con enfermedades de carácter sistémico como meningitis y endocarditis infecciosa, las cuales son potencialmente mortales en pacientes sistemáticamente comprometidas.

Debido a que este microorganismo resulta ser altamente resistente, con capacidades puede llegar a diseminarse al torrente sanguíneo, mediante un procedimiento de reintervención endodóntica provocando bacteremia y esto a su vez desencadenar Endocarditis bacteriana, en pacientes sistémicamente comprometidos. Resulta necesario conocer si el régimen de profilaxis antibiótica (**amoxicilina y clindamicina**) para endocarditis bacteriana resulta efectivo contra un microorganismo como *E. faecalis*, y así evitar el riesgo de Endocarditis Infecciosa.

## **Hipótesis**

La cepa de *Enterococcus faecalis* muestra resistencia bacteriana contra Amoxicilina y Clindamicina.

## **Objetivos**

- Objetivo general
  - Identificar la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* contra Amoxicilina y Clindamicina.
- . Objetivos específicos
  - Comparar la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* en diferentes concentraciones de Amoxicilina (2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml) a 24 y 48 hrs.
  - Comparar la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* en diferentes concentraciones de Clindamicina (2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml) a 24 y 48 hrs.
  - Comparar la resistencia bacteriana entre Amoxicilina y Clindamicina a 24 y 48 hrs.

## **Sujetos y métodos**

El presente trabajo, es un estudio experimental in vitro.

Se realizó mediante el uso de un aislado clínico de *Enterococcus faecalis* identificado con el numero (025), obtenido previamente y almacenado en el laboratorio de Odontología Genómica, de la Maestría en Ciencias Odontológicas, UASLP.

Esta cepa fue obtenida de un paciente con necrosis pulpar, y fue identificado mediante PCR para comprobar su naturaleza.

Los antibióticos utilizados en esta prueba fueron:

### **Amoxicilina**

BIMOXIL L.A®

Solución Inyectable

100 ml

### **Clindamicina**

Dalacin C® 600 mg

Pfizer Solución inyectable.

## **Materiales y métodos**

El lugar de realización fue el laboratorio de la Maestría de Ciencias Odontológicas, de la Facultad de estomatología, UASLP.

## Plan de trabajo

### Determinación de la resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina y Clindamicina, por medio de espectrofotometría.

Para iniciar con la prueba experimental se realizó un cultivo fresco del aislado clínico de *E. faecalis* en caldo BHI el cual fue incubado a 37°C por 24 horas. En condiciones aeróbicas.

Posterior a esto se ajustaron las dosis de ambos antibióticos a 2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml, reportadas en la literatura por Loyola y col. 2014.

Se utilizaron dos microplacas de 96 pozos, utilizando una para probar Amoxicilina y otra para probar Clindamicina, en las cuales se colocaron 200 µl en cada pozo y se diseño de la siguiente manera:

Blanco	Medio BHI estéril
C+	Medio de cultivo (cepa)
C-	Hipoclorito de sodio 5.25%
Amoxicilina	2 µg/ml A2
	4 µg/ml A4
	8 µg/ml A8
	16 µg/ml A16
10x	

Blanco	Medio BHI estéril
C+	Medio de cultivo (cepa)
C-	Hipoclorito de sodio 5.25%
Clindamicina	2 µg/ml C2
	4 µg/ml C4
	8 µg/ml C8
	16 µg/ml C16
10x	

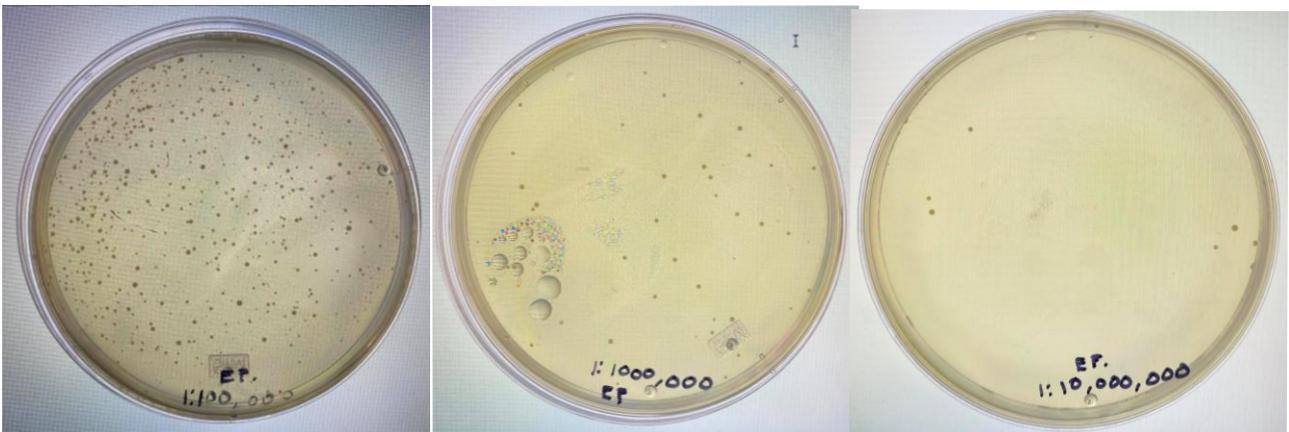
Se realizó a incubación a 37°C en condiciones aeróbicas por 24 hrs.

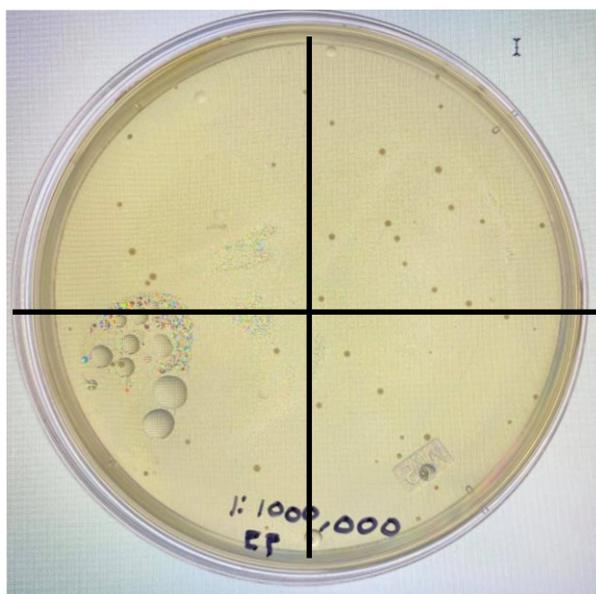
Una vez transcurrido este tiempo, se realizó la medición de absorbancia de las microplacas mediante espectrofotometría (Multiskan™ FC Microplate Photometer, Waltham, Massachusetts) utilizando un filtro de 620 nm de longitud de onda.

La medición se realizó tanto a las 24 como a las 48 horas.

Con las lecturas arrojadas, se procedió a realizar la conversión de unidades de absorbancia a unidades formadoras de colonias para determinar de manera más precisa el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.

Para esto previamente se sembró en placas de Agar, diferentes diluciones de *E. Faecalis* 1:100,000, 1:1000,000, 1:10,000,000.





Donde observamos que el crecimiento de *E. Faecalis* se lograba apreciar de manera más cuantitativa en 1:1000,000.

Se determinó que el crecimiento máximo del *E. Faecalis* fue de  $2.3 \times 10^7$  UFC por ml.

### **Ética**

Este estudio fue aprobado por el H. Comité de ética en investigación de la Facultad de Estomatología.

Financiado a través de un proyecto de Investigación de Científica Básica, CONACYT.

Apegado a las Normas del Sistema Nacional de Salud

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-013-SSA2-2006, PARA LA  
PREVENCIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES BUCALES.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM004SSA32012, DEL EXPEDIENTE  
CLÍNICO

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-012-SSA3-2012, ESTABLECE LOS  
CRITERIOS PARA LA EJECUCIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN  
PARA LA SALUD EN SERES HUMANOS.

## **Análisis Estadístico**

Se realizó la estadística descriptiva expresando media, mediana, Desviación Estándar y rango.

Se determinó la distribución de las variables con la prueba de Shapiro-Wilk.

Dependiendo de la distribución, se utilizó la prueba ANOVA-Tukey y T Student (paramétrica) ó Kruskal-Wallis-Dunn y U de Mann Whitney (no paramétricas)

## **Resultados**

En presente estudio invitro se identifican las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de un aislado clínico de *Enterococco faecalis* y su resistendencia a dos antibióticos de uso común en odontología, indicados como profiláctico antibiótico en pacientes con antecedente cardiovascular, Amoxicilina y Clindamicina,

(Tabla 1) Muestra los recuentos media, desviación estándar, rango y la prueba estadística para las diferentes concentraciones de Amoxicilina (2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml) en las 24 y 48 hrs, de manera general. Y la (Tabla 2) muestra los mismos valores pero analizados en Clindamicina.

Tabla 1. Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones, a 24 y 48 hrs.

Media ±DE ( Rango)			
	24 hrs	48 hrs	p*
C+	2.3×10 <sup>7</sup> ± 2×10 <sup>6</sup> (2×10 <sup>7</sup> - 2.7×10 <sup>7</sup> )	2.3×10 <sup>7</sup> ± 2×10 <sup>6</sup> (2×10 <sup>7</sup> - 2.7×10 <sup>7</sup> )	1
2µg/ml	2.7×10 <sup>5</sup> ± 7.5×10 <sup>4</sup> (2×10 <sup>5</sup> - 4.7×10 <sup>5</sup> )	2.6×10 <sup>5</sup> ± 7.1×10 <sup>4</sup> (2×10 <sup>5</sup> - 4.3×10 <sup>5</sup> )	0.7433
4µg/ml	2.7×10 <sup>5</sup> ± 6.9×10 <sup>4</sup> (2×10 <sup>5</sup> - 3.7×10 <sup>5</sup> )	2.6×10 <sup>5</sup> ± 8.6×10 <sup>4</sup> (1.3×10 <sup>5</sup> - 3.7×10 <sup>5</sup> )	0.7985
8µg/ml	2.2×10 <sup>5</sup> ± 3.1×10 <sup>4</sup> (1.7×10 <sup>5</sup> - 2.7×10 <sup>5</sup> )	2.3×10 <sup>5</sup> ± 5.8×10 <sup>4</sup> (1.7×10 <sup>5</sup> - 3 x10 <sup>5</sup> )	0.5332
16µg/ml	2.2×10 <sup>5</sup> ± 3.4 x10 <sup>4</sup> (1.7×10 <sup>5</sup> - 2.6×10 <sup>5</sup> )	2.3×10 <sup>5</sup> ± 3.6×10 <sup>4</sup> (1.7×10 <sup>5</sup> - 2.7×10 <sup>5</sup> )	0.2245
p**	p < 0.0001	p < 0.0001	

\* U de Mann Whitney

\*\*Kruskall-Wallis-Dunn

DE: Desviación Estándar

Tabla 2. Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina, en diferentes concentraciones, a 24 y 48 horas.

Media ±DE ( Rango)			
	24 hrs	48 hrs	p*
C+	2.3×10 <sup>7</sup> ± 2×10 <sup>6</sup> (2×10 <sup>7</sup> - 2.7×10 <sup>7</sup> )	2.3×10 <sup>7</sup> ± 2×10 <sup>6</sup> (2×10 <sup>7</sup> - 2.7×10 <sup>7</sup> )	1
2µg/ml	2.3×10 <sup>7</sup> ± 1.4×10 <sup>6</sup> (2.1×10 <sup>7</sup> - 2.5×10 <sup>7</sup> )	2.4×10 <sup>7</sup> ± 9.1×10 <sup>5</sup> (2.2×10 <sup>7</sup> - 2.5×10 <sup>7</sup> )	0.3036
4µg/ml	2.1×10 <sup>7</sup> ± 2.6×10 <sup>6</sup> (1.8×10 <sup>7</sup> - 2.8×10 <sup>7</sup> )	2.4×10 <sup>7</sup> ± 2.1×10 <sup>6</sup> (2.2×10 <sup>7</sup> - 2.9×10 <sup>7</sup> )	< 0.0212
8µg/ml	2×10 <sup>7</sup> ± 1.7×10 <sup>6</sup> (1.7×10 <sup>7</sup> - 2.3×10 <sup>7</sup> )	2.3×10 <sup>7</sup> ± 8.3×10 <sup>5</sup> (2.2×10 <sup>7</sup> - 2.4×10 <sup>7</sup> )	< 0.0001
16µg/ml	1.9 x10 <sup>7</sup> ± 1.5×10 <sup>6</sup> (1.7×10 <sup>7</sup> - 2.2×10 <sup>7</sup> )	2.2×10 <sup>7</sup> ± 7×10 <sup>5</sup> (2.2×10 <sup>7</sup> - 2.4×10 <sup>7</sup> )	< 0.0001
p**	< 0.0001	0.4876	

p\* T. Student

p\*\* ANOVA

Observando la resistencia que muestra el *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en sus diferentes concentraciones en 24 horas, teniendo como parámetro el control positivo, se mostró el *Enterococcus faecalis* resulta sensible a todas las concentraciones de Amoxicilina, con una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ , Kruskal-Wallis-Dunn) ya que sus unidades formadoras de colonias en sus diferentes concentraciones logra una disminución de pasando de  $2.3 \times 10^7$  a  $10^5$  manteniéndose similar a 48hrs. (figura. 1 y 2)

Figura 1.- Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones a 24 hrs.

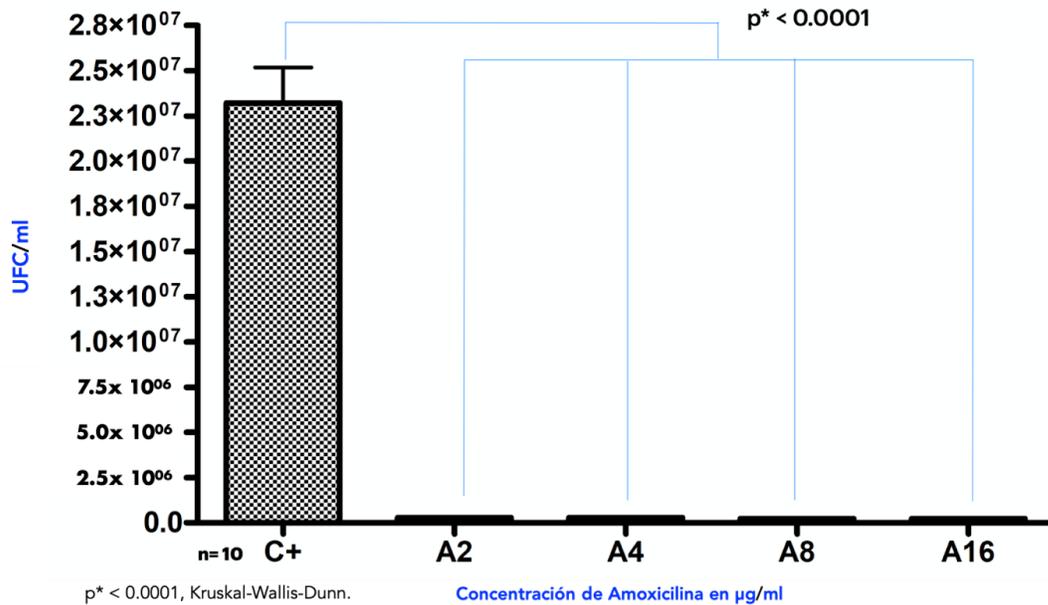
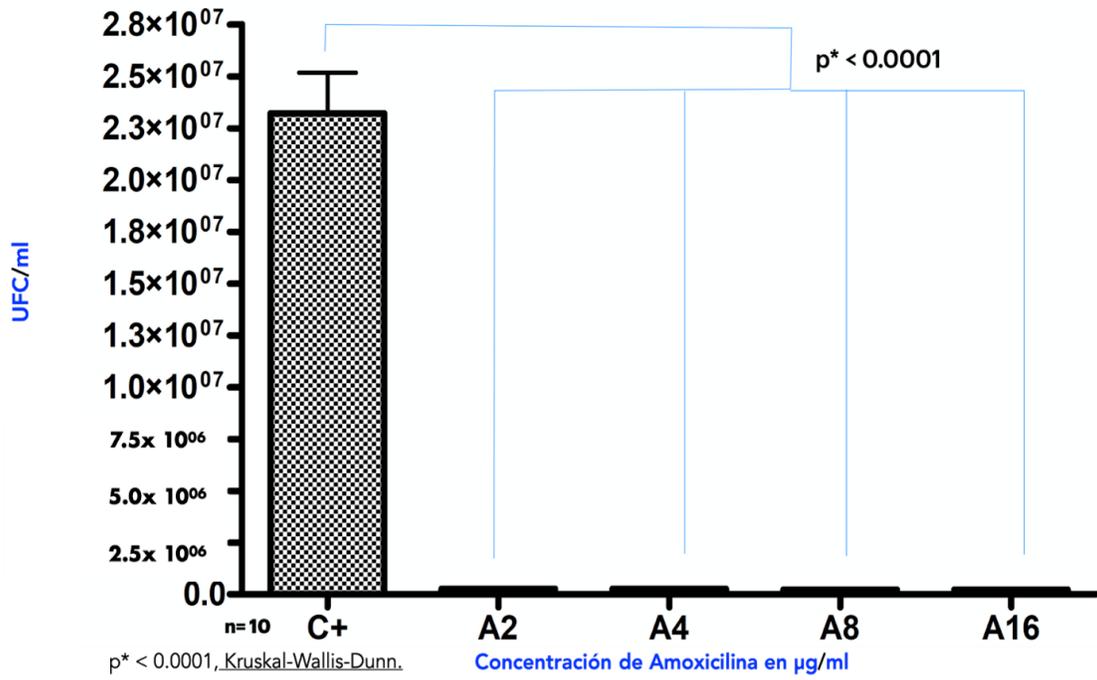
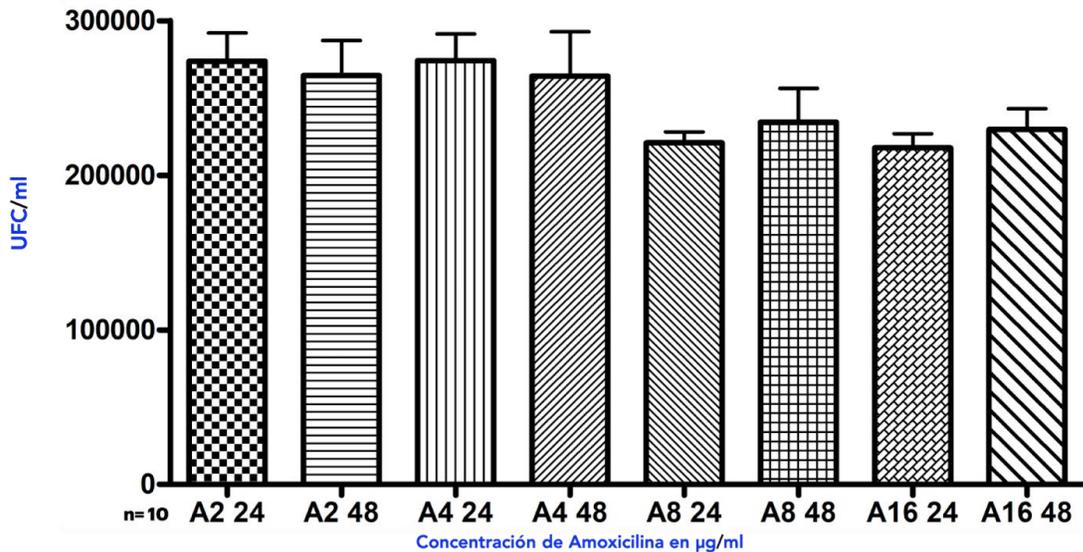


Figura 2.- Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina en diferentes concentraciones a 48 hrs.



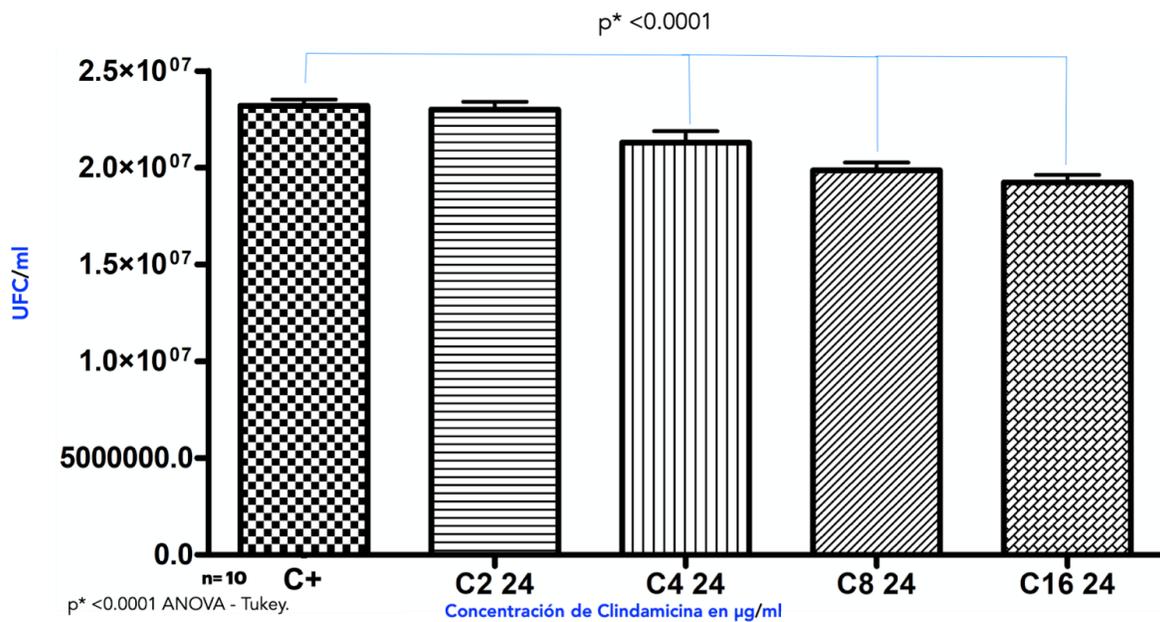
Sin embargo las diferentes concentraciones de Amoxicilina a 24 y 48 horas, no mostraron diferencia lo que significa que todas las concentraciones tanto a 24 como 48 hrs controlan de forma similar el crecimiento de *E. faecalis* logran mantener cifras muy similares, teniendo en cuenta que a las 48 hrs los valores de absorbancia podrían resultar inestables debido al crecimiento progresivo y rápido de la bacteria así como la posible sedimentación bacteriana. (Figura 3).

Figura 3.- Comparación de la resistencia de *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina a 24 y 48 hrs.



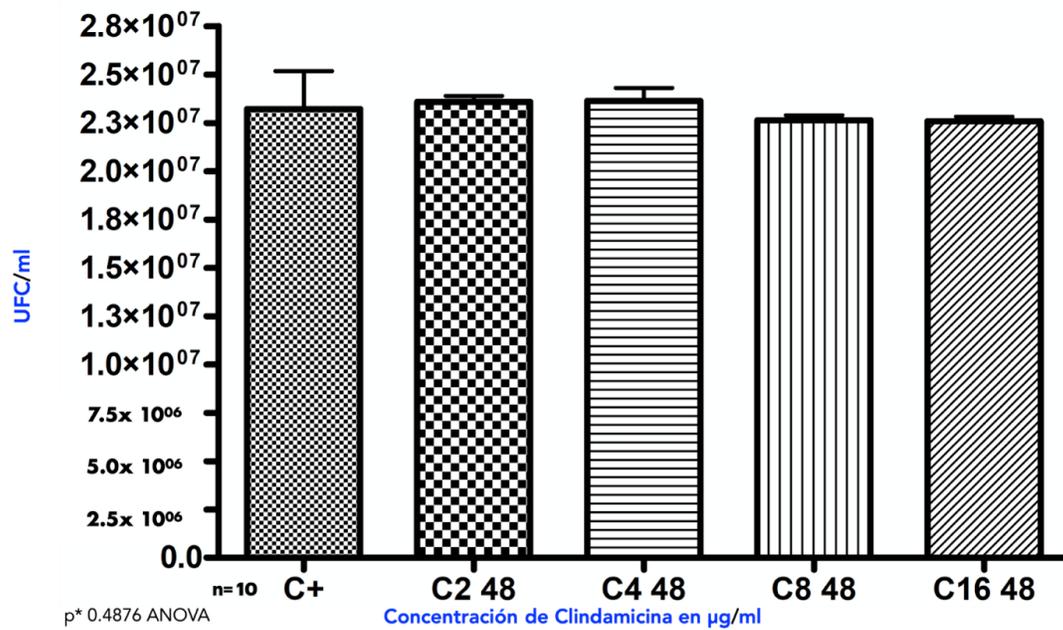
Sin embargo la la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina a 24 hrs, al comparar el Control positivo (c+) con  $2.5 \times 10^7$  UFC con las diferentes concentraciones de Clindamicina (2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) nos muestra que el *Enterococcus faecalis* presenta resistencia mayor a Clindamicina 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , y que en las concentraciones mas altas (4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) muestra diferencia significativa, ( $p > 0.0001$  ANOVA-TUKEY) lo que determina que el *E. faecalis* se muestra sensible a las mayores concentraciones de antibiótico. (Figura 4)

**Figura 4.- Resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina en diferentes concentraciones a 24 hrs.**



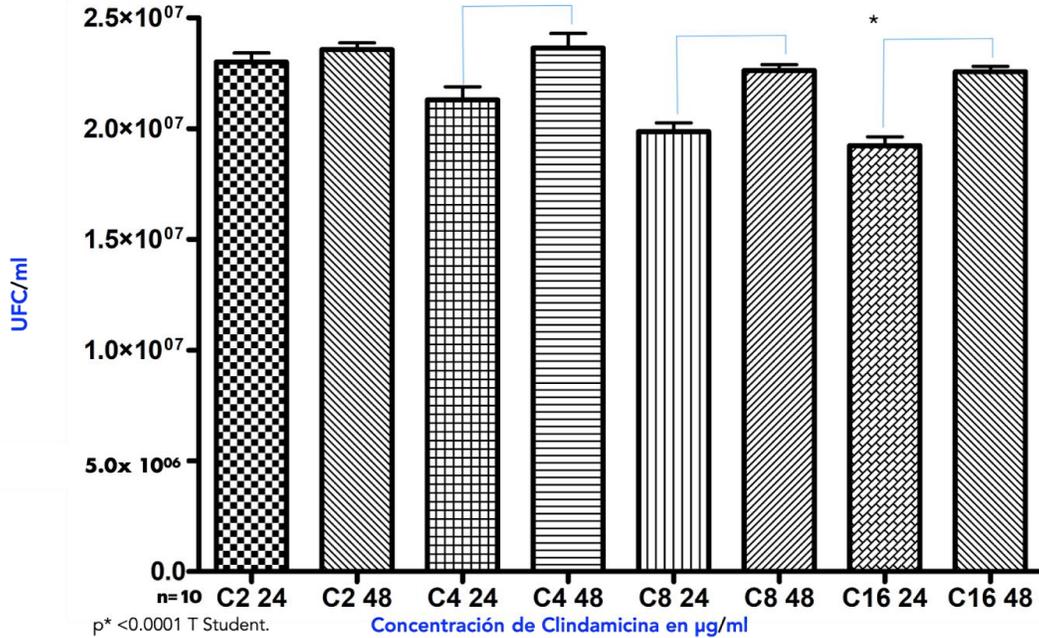
Al comparar la resistencia bacterina del *E. faecalis* a Clindamicina 48 hrs. El *E. Faecalis* mostró resistencia ante todas las concentraciones establecidas. Manteniéndose similar a las UFC del Control positivo (c +) , por lo que no se encontró diferencia estadísticamente significativa. ( $p > 0.4876$  ANOVA) (Figura 5).

Figura 5.- Resistencia de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina en diferentes concentraciones a 48 hrs.



(Figura 6) Al momento de comparar las diferentes concentraciones de Clindamicina a 24 y 48 horas, se observó que las concentraciones a 24 horas, mantienen un mejor control del crecimiento bacteriano que las concentraciones a 48 horas, y las concentraciones de 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml, resultan ser a las que el *Enterococcus faecalis*, presenta una mayor susceptibilidad. (Figura 6)

Figura 6.- Comparación de la resistencia bacteriana de *Enterococcus faecalis* a Clindamicina a 24 y 48 hrs.



Realizando una comparación entre Amoxicilina y Clindamicina (2 µg/ml, 4 µg/ml, 8 µg/ml, 16 µg/ml) a las 24 y 48 hrs, (Figura 7 y 8) se observa que la Amoxicilina marca una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.0001$ , U de Mann-whitney), logrando ser más efectiva hasta en sus concentraciones mas bajas para controlar el crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*, manteniéndolo en no más de  $2.7 \times 10^5$  UFCs, al contrario de la Clindamicina la cual su cifra menor fue de  $1.9 \times 10^7$ .

Lo que nos lleva a determinar que el *Enterococcus faecalis*, presenta un alto nivel de resistencia bacteriana contra la clindamicina. Y la amoxicilina resultó ser el antibiótico con mayor actividad de manera invitro, frente a *Enterococcus faecalis*.

Figura 7.- Comparación de la resistencia bacteriana a *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina y Clindamicina a 24hrs.

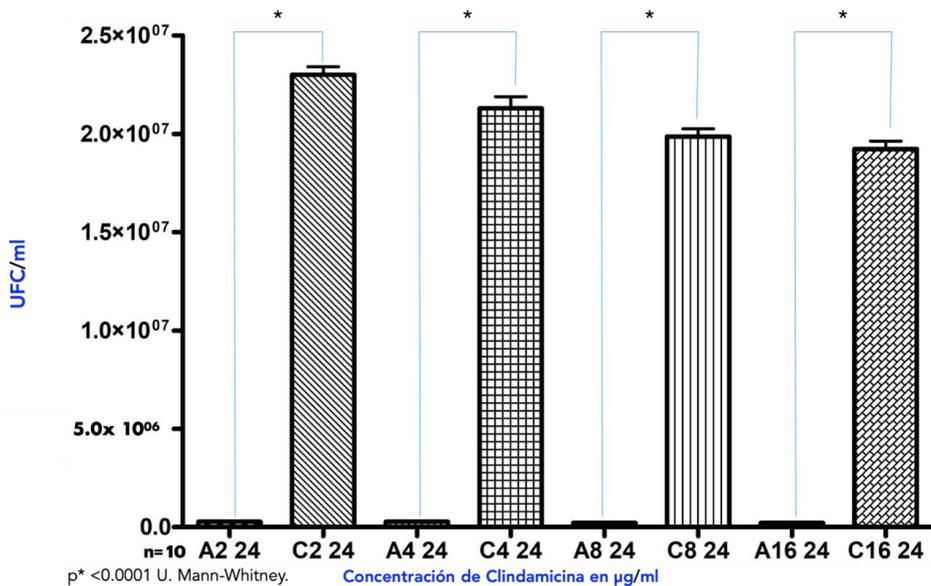
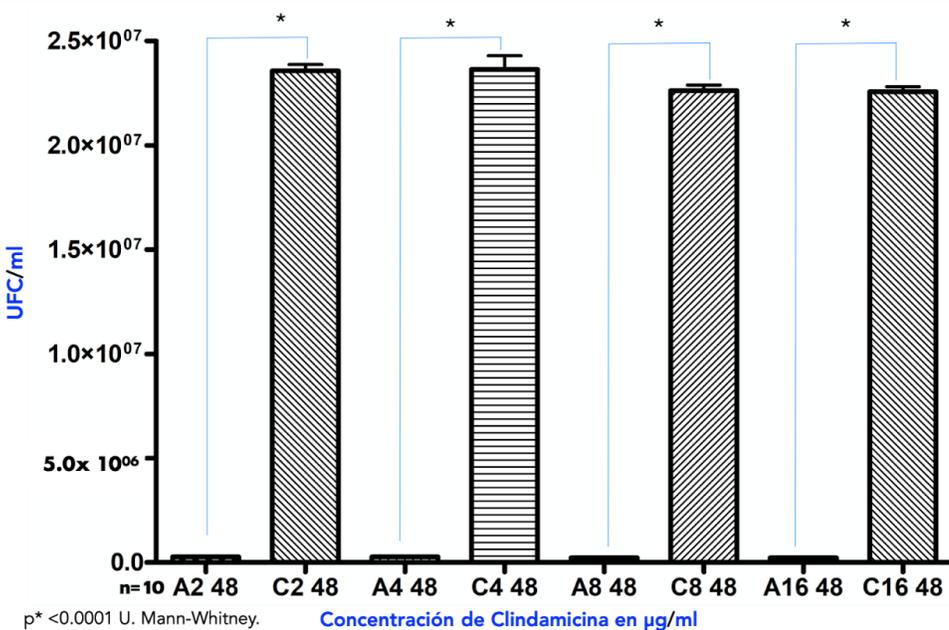


Figura 8.- Comparación de la resistencia bacteriana a *Enterococcus faecalis* a Amoxicilina y Clindamicina a 48hrs.



## Discusión

El *Enterococcus faecalis* se ha definido como un microorganismo altamente resistente a protocolos de desinfección, y terapia antibiótica. Así mismo tiene la capacidad de participar en procesos infecciosos locales, y sistémicos graves como meningitis y endocarditis infecciosa, las cuales resultan potencialmente mortales en personas sistemáticamente comprometidas.

Se ha encontrado en estudios retrospectivos y de casos y controles, una prevalencia estimada de Endocarditis infecciosa que varía del 5% para la bacteremia por enterococos mixtos, al 13% para la bacteremia por *Enterococcus faecalis* monomicrobiana. (Dahl, A et al., 2019).

Así mismo se ha demostrado que la Endocarditis Infecciosa por *E. faecalis* a ido en aumento en los últimos años, esto probablemente se encuentre relacionado con una población que llega a envejecer con más comorbilidades, antecedentes de implantes protésicos cardíacos (Dahl, A et al., 2019).

Actualmente existen reportes en donde se ha asociado al factor de virulencia del *Enterococcus faecalis efaA*, identificado como uno de los patógenos comunes asociados a la Endocarditis Infecciosa, es inducido por el crecimiento de *Enterococcus faecalis* en suero, y este ha presentado capacidades de adhesión al colágeno y dado que los tejidos dentinarios comparten proteínas comunes con los tejidos cardíacos la función de las adhesivas ace, esp, actúan facilitando la adhesión bacteriana al colágeno, y con esto su transporte entre tejido dentinario y tejido cardíaco, en pacientes con antecedente de válvula protésica.

Así mismo Preethee T et al., 2012, analizaron el *Enterococcus faecalis efaA*, y observaron que este factor de virulencia se encontró presente *Enterococcus faecalis*, ubicado en el conducto radicular, por lo que se puede llegar a concluir que podría haber viajado por bacteremia hasta adherirse al endocardio o viceversa.

Se ha demostrado que la Endocarditis Infecciosa por *E. faecalis* a ido en aumento en los últimos años, esto probablemente se encuentre relacionado con una población que llega a envejecer con más comorbilidades, antecedentes de implantes protésicos cardíacos (Dahl, A et al., 2019).

Con la finalidad de evitar o reducir en lo posible situaciones infecciosas sistémicas en este tipo de pacientes se prescribe de manera preventiva un antibiótico anticipado a procedimientos dentales, no sólo enfocado a la prevención de endocarditis infecciosa, sino también evitar en lo posible infecciones a distancia (Parahitiyawa et al., 2009).

El uso de los antimicrobianos se prescribe en pacientes odontológicos en diversas situaciones clínicas para evitar que, debido a los procedimientos realizados, se expongan a ciertos microorganismos patógenos que podrían constituir un riesgo importante de infección focal, e irradiarse a partes locales o sistémicas.

Los antibióticos prescritos manera profiláctica en Odontología son la Amoxicilina y Clindamicina. Encontrando en la literatura que la primera opción, es la Amoxicilina de 2gr. vía oral en adultos indicándose 1 hora antes de iniciar el tratamiento dental. Cuando no es posible administrar amoxicilina, debido a riesgo de anafilaxia, la principal alternativa es la Clindamicina, se indica 600mg vía oral en adultos.

Teniendo esto en cuenta, este estudio se comparó la resistencia bacteriana que presenta el *E. faecalis*, a Amoxicilina y Clindamicina, mediante espectofotometría.

En este estudio se comparó la resistencia bacteriana que presenta el *E. faecalis*, a Amoxicilina y Clindamicina, mediante espectofotometría.

Sin embargo no se encontró en la literatura, estudios donde probaran la resistencia antibiótica mediante espectrofotometría. La utilización de este método nos permitió obtener resultados con alta precisión ya que se determinó de manera específica el crecimiento que muestra el *E. faecalis*, representado en UFC, arrojando una cuantificación absoluta del microorganismo. Así mismo resulta una prueba eficiente en cuanto a tiempo. Esto en comparación con los otros métodos utilizados en la literatura.

En la figura 1 y 2, observamos que el *E. faecalis*, se muestra altamente sensible a las diferentes concentraciones de Amoxicilina y pudimos observar que presenta un crecimiento sostenido a 24 y 48 horas. Nuestros resultados se muestran similares a los del estudio de Conceição N., et al 2020; realizaron un estudio para determinar la susceptibilidad que presentan los betalactámicos ante *E. faecalis*, mediante una evaluación comparativa de E test, métodos de difusión en disco contra la dilución en caldo. Observaron que el *E. faecalis*, se mostró alta mente resistente a Amoxicilina en los diferentes métodos utilizados

En la figura 3, al comparar las diferentes concentraciones de Amoxicilina a sus diferentes concentraciones en 24 y 48 horas, observamos que no se muestra una diferencia estadísticamente significativa entre ellas, por lo que se asume que la Amoxicilina, mantiene su efectividad frente a *E. faecalis*, a pesar de haber transcurrido 48 horas.

En la figura 4, se mostró que el *E. faecalis* a Clindamicina a diferentes concentraciones a 24 horas, se presenta ligeramente sensible. Sin embargo en la figura 5, el *E. faecalis* se muestra altamente resistente a las diferentes concentraciones de Clindamicina a 48 horas.

Por lo que se puede resumir que el *E. faecalis* aumenta de manera significativa su crecimiento, en concentraciones de 4, 8, 16 µg/ml esto al comparar 24 y 48 horas. Figura 6

A diferencia del estudio elaborado por Skucaite et al. 2010, donde evaluaron la sensibilidad de microorganismos patógenos endodónticos, mediante ETEST, aislados de periodontitis apical encontraron que el *E. faecalis*, mostró un 73% de sensibilidad a Clindamicina.

En la figura 7, observamos que el *E. faecalis* muestra una alta resistencia a Clindamicina en todas sus concentraciones en comparación con Amoxicilina donde se observa un crecimiento mínimo, manteniendo su crecimiento a 24 y 48 hrs. Por lo tanto la prescripción de Amoxicilina como antibiótico, deberá ser la primera opción siempre que las condiciones del paciente lo permitan, debido a su efectividad comprobada y prolongada contra *E. faecalis*.

## **Conclusiones**

El *E. faecalis*, resulta altamente sensible a Amoxicilina.

El *E. faecalis*, resulta altamente resistente a Clindamicina.

Se recomienda el uso de Amoxicilina como antibiótico de primera elección.

**Limitaciones y/ o nuevas perspectivas de investigación.**

Se sugiere cambiar el esquema de profilaxis antibiótica en pacientes alérgicos a Amoxicilina.

## Bibliografía

1. STUART C, SCHWARTZ S, BEESON T, OWATZ C. Enterococcus faecalis: Its Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics*. 2006;32(2):93-98.
2. Baca P. Residual and Antimicrobial Activity of Final Irrigation Protocols on Enterococcus Faecalis Biofilm in Dentin. *JOE*. 2011;(37).
3. Prada I, Mico-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Mico-Martinez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2019;;e364-e372.
4. Pinheiro E, Gomes B, Ferraz C, Teixeira F, Zaia A, Souza Filho F. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiology and Immunology*. 2003;18(2):100-103.
5. Chávez de Paz L, Dahlén G, Molander A, Möller Å, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *International Endodontic Journal*. 2003;36(7):500-508.
6. Trope M, Bergenholtz G. Microbiological basis for endodontic treatment: can a maximal outcome be achieved in one visit?. *Endodontic Topics*. 2002;1(1):40-53
7. Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small-understanding the endodontic microbial flora. *Australian Dental Journal*. 2007;52:S38-S51.
8. Zehnder M. Root Canal Irrigants. *Journal of Endodontics*. 2006;32(5):389-398.
9. Preethee T, Kandaswamy D, Hannah R. Molecular identification of an Enterococcus faecalis endocarditis antigen efaA in root canals of therapy-resistant endodontic infections. *Journal of Conservative Dentistry*. 2012;15(4):319.
10. Wang A, Gaca J, Chu V. Management Considerations in Infective Endocarditis. *JAMA*. 2018;320(1):72.
11. Parahitiyawa N, Jin L, Leung W, Yam W, Samaranyake L. Microbiology of Odontogenic Bacteremia: beyond Endocarditis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22(1):46-64.
12. American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2017
13. Baltimore RS, Gewitz M, Baddour LM, Beerman LB, Jackson MA, Lockhart PB, Willoughby R. Infective Endocarditis in Childhood: 2015 Update. *Circulation*, 2015;132(15):1487- 1515.
14. Hunter W. Oral sepsis as a cause of disease. *British Medical Journal*, 1900;2065(2):215-216.
15. Dar-Odeh NS, Abu-Hammad OA, Al-Omiri MK, Khraisat AS, Shehabi AA. Antibiotic prescribing practices by dentists: a review. *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2010;6:301-306.
16. Jeong S, Lee Y, Yun C, Park O, Han S. Propionate, together with triple antibiotics, inhibits the growth of Enterococci. *Journal of Microbiology*. 2019;57(11):1019-1024.

17. Rodríguez-Alonso E. Rodríguez-Monje MT. Tratamiento antibiótico de la infección odontogénica. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2009;33:67-79.
18. Dahl, A., Iversen, K., Tonder, N., Hoest, N., Arpi, M., Dalsgaard, M., ... Bruun, N. E. (2019). Prevalence of Infective Endocarditis in Enterococcus faecalis Bacteremia. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(2), 193–201.