



Facultad de Ciencias de la Salud

Postgrado de Endodoncia

Tema:

“Evaluación in vitro del grado de susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* a medicamentos usados intraconductos”

Tesis para la obtención del título de Especialista en Endodoncia

Postulante:

Dr. Julio Eduardo Alvarez Carrero

Tutor:

Dr. Kevin David Villota Trejo

Quito, septiembre del 2025

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo principal evaluar el grado de susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* a medicamentos usados intraconductos. Para ello, se realizó un estudio comparativo e in vitro, desarrollado en el laboratorio de microbiología de la Universidad Hemisferios, en el cual, se emplearon cepas de *Enterococcus faecalis*, en contacto con pastas triantibióticas convencionales, triantibióticas modificadas y biantibióticas para observar la presencia de halos de inhibición que posteriormente fueron medidos mediante un vernier digital. Las bacterias se sembraron en cajas Petri estériles de agar bilis esculina e incubadas a 37.5 °C por 24 horas en aerobiosis; pasado dicho tiempo se inoculó el microorganismo en un tubo de ensayo con suero fisiológico con turbidez de 0.5 (McFarland), se extrajeron 100 uL de la solución y se depositaron en una caja Petri del mismo agar y se diseminaron los microorganismos con un asa Digrafsky, dicho procedimiento se repitió 20 veces. Se prepararon las pastas a estudiar, se retiraron las cubiertas a las tabletas de los medicamentos, se trituraron en un mortero estéril para almacenarlos en envases de color ámbar estériles para cada fármaco durante 14 y 28 días. Se mezclaron en proporción 1:1:1 para las pastas triantibióticas (convencional y modificada) y 1:1 para la pasta biantibiótica; posteriormente se mezclaron con glicerina (vehículo) en una proporción 1:1. En las cajas Petri previamente inoculadas con la cepa se abrieron pozos correspondientes para cada una de las pastas (100 µL) y se llevaron a incubadora a 37.5 °C durante 24 horas; posteriormente se midieron los halos con vernier digital, dichas medidas fueron registradas en Excel y analizadas estadísticamente utilizando la prueba ANOVA y HSD de Tukey. Este procedimiento se repitió a los 14 y 28 días con los medicamentos previamente almacenados. Los resultados mostraron que la pasta triantibiótica modificada presentaba halos mayores a 27 mm, la pasta triantibiótica convencional y biantibiótica presentaban halos mayores a 21 mm. En conclusión, el estudio evidenció que la cepa de *Enterococcus faecalis* es sumamente

sensible a las pastas estudiadas y que el tiempo de almacenamiento no influyó en la efectividad de cada uno de los medicamentos.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*; pasta triantibiótica; pasta biantibiótica.

Declaración de Aceptación de Norma Ética y Derechos

El presente documento se ciñe a las normas éticas y reglamentarias de la Universidad Hemisferios. Así, declaro que lo contenido en este ha sido redactado con entera sujeción al respeto de los derechos de autor, citando adecuadamente las fuentes. Por tal motivo, autorizo a la Biblioteca a que haga pública su disponibilidad para lectura dentro de la institución, a la vez que autorizo el uso comercial de mi obra a la Universidad Hemisferios, siempre y cuando se me reconozca el cuarenta por ciento (40%) de los beneficios económicos resultantes de esta explotación.

Además, me comprometo a hacer constar, por todos los medios de publicación, difusión y distribución, que mi obra fue producida en el ámbito académico de la Universidad Hemisferios.

De comprobarse que no cumplí con las estipulaciones éticas, incurriendo en caso de plagio, me someto a las determinaciones que la propia Universidad plantee.

Julio Eduardo Alvarez Carrero

C. I.: 1758285249

Dedicatoria

Con profunda gratitud dedico este trabajo de investigación a quienes han sido pilares fundamentales en este camino. A mis padres y hermanos por su amor incondicional, apoyo silencioso pero firme, y por creer en mi sin importar las circunstancias.

A mis colegas y amigas: Melany Merino, Eulalia Valenzuela, Jasmine Argüello y Nicole Vinuesa por compartir conmigo no solo conocimientos, sino también gratos momentos durante estos dos años que, sin duda, le dieron un valor intangible al tiempo compartido.

Al Dr. Kevin Villota, por su acompañamiento, observaciones críticas y constante disposición al diálogo constructivo, que influyeron favorablemente en el desarrollo de la investigación.

A la Dra. Soledad Peñaherrera, por su liderazgo, orientación y compromiso con la excelencia, elementos que han sido fundamentales tanto para el desarrollo de la investigación como para mi desarrollo como especialista.

A todos ellos, mi más sincero agradecimiento.

Índice

Declaración de aceptación de norma ética y derechos.....	4
Dedicatoria.....	5
Índice.....	6
Índice de tablas.....	8
Índice de Gráficos.....	9
Resumen	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
Metodología.....	14
Materiales.....	14
Medios empleados.....	14
Muestra.....	15
Soluciones de estudio.....	15
Grupo control negativo.....	15
Grupo control positivo.....	15
Procesamiento de bacterias.....	16
Preparación de pastas triantibióticas y biantibióticas.....	16

Interacción de las pastas medicadas y el <i>Enterococcus faecalis</i>	17
Análisis estadístico para el procesamiento de datos.....	18
Resultados.....	18
Discusión.....	23
Conclusión.....	26
Referencias.....	28
Anexos.....	32

Índice de Tablas

Tabla 1. Grupos de estudio y ensayos.....	16
Tabla 2. Prueba ANOVA.....	21
Tabla 3. Tabla de análisis post hoc de Tukey.....	22
Tabla 4. Subconjuntos homogéneos.....	23

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Relación fecha/halo de inhibición.....	19
Gráfico 2. Tamaño de los halos de inhibición en las placas a los 28 días.....	20

“Evaluación in vitro del grado de susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* a medicamentos usados intraconductos”

Julio Eduardo Alvarez Carrero

Juls_2044@hotmail.com

Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo principal evaluar el grado de susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* a medicamentos usados intraconductos. Para ello, se realizó un estudio comparativo e in vitro, desarrollado en el laboratorio de microbiología de la Universidad Hemisferios, en el cual, se emplearon cepas de *Enterococcus faecalis*, en contacto con pastas triantibióticas convencionales, triantibióticas modificadas y biantibióticas para observar la presencia de halos de inhibición que posteriormente fueron medidos mediante un vernier digital. Las bacterias se sembraron en cajas Petri estériles de agar bilis esculina e incubadas a 37.5 °C por 24 horas en aerobiosis; pasado dicho tiempo se inoculó el microorganismo en un tubo de ensayo con suero fisiológico con turbidez de 0.5 (McFarland), se extrajeron 100 uL de la solución y se depositaron en una caja Petri del mismo agar y se diseminaron los microorganismos con un asa Digrafsky, dicho procedimiento se repitió 20 veces. Se prepararon las pastas a estudiar, se retiraron las cubiertas a las tabletas de los medicamentos, se trituraron en un mortero estéril para almacenarlos en envases de color ámbar estériles para cada fármaco durante 14 y 28 días. Se mezclaron en proporción 1:1:1 para las pastas triantibióticas (convencional y modificada) y 1:1 para la pasta biantibiótica; posteriormente se mezclaron con glicerina (vehículo) en una proporción 1:1. En las cajas Petri previamente inoculadas con la cepa se abrieron pozos correspondientes para cada una de las pastas (100 µL) y se llevaron a incubadora a 37.5 °C durante 24 horas; posteriormente se

midieron los halos con vernier digital, dichas medidas fueron registradas en Excel y analizadas estadísticamente utilizando la prueba ANOVA y HSD de Tukey. Este procedimiento se repitió a los 14 y 28 días con los medicamentos previamente almacenados. Los resultados mostraron que la pasta triantibiótica modificada presentaba halos mayores a 27 mm, la pasta triantibiótica convencional y biantibiótica presentaban halos mayores a 21 mm. En conclusión, el estudio evidenció que la cepa de *Enterococcus faecalis* es sumamente sensible a las pastas estudiadas y que el tiempo de almacenamiento no influyó en la efectividad de cada uno de los medicamentos.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*; antibacteriano; medicamentos para el canal radicular.

Abstract

The main objective of this study was to evaluate the susceptibility of *Enterococcus faecalis* to intracanal medications. To achieve this, a comparative in vitro study was conducted at the Universidad Hemisferios' microbiology laboratory, using *Enterococcus faecalis* strains in contact with conventional tri-antibiotic pastes, modified tri-antibiotic pastes, and bi-antibiotic pastes to observe the presence of inhibition zones, which were subsequently measured with a digital vernier caliper. The bacteria were cultured in sterile Petri dishes containing bile esculin agar and incubated at 37.5 °C for 24 hours under aerobic conditions. After this period, the microorganism was inoculated into a test tube with physiological serum at a turbidity of 0.5 McFarland. Then, 100 µL of the solution was extracted and deposited in a Petri dish containing the same agar, and microorganisms were spread using a Digrafsky loop. This procedure was repeated 20 times. The pastes were prepared for study by removing the coatings from the tablets of the medications, crushing them in a sterile mortar, and storing them in sterile, amber-colored containers for each drug for 14 and 28 days. The tri-antibiotic pastes (conventional and modified) were mixed in a

1:1:1 ratio, while the bi-antibiotic paste was mixed in a 1:1 ratio. Subsequently, all pastes were mixed with glycerin (vehicle) in a 1:1 proportion. Wells corresponding to each paste (100 µL) were opened in the previously inoculated Petri dishes, then incubated at 37.5 °C for 24 hours. After incubation, inhibition zones were measured using a digital vernier caliper. These measurements were recorded in Excel and statistically analyzed using the ANOVA test and HSD de Tukey. The same procedure was repeated at 14 and 28 days with the previously stored medications. The results showed that the modified tri-antibiotic paste exhibited inhibition zones greater than 27 mm, while the conventional tri-antibiotic and bi-antibiotic pastes presented inhibition zones greater than 21 mm. In conclusion, the study demonstrated that the *Enterococcus faecalis* strain is highly sensitive to the studied pastes, and storage time did not affect the effectiveness of any of the medications.

Keywords: Enterococcus faecalis; antibacterial; root canal medicaments.

Introducción

Uno de los objetivos principales de la endodoncia es remover el tejido pulpar remanente presente en cámara pulpar y conductos radiculares para poder llevar a cabo una óptima instrumentación, desinfección y limpieza del sistema de conductos (Leiva-Vulasich, 2022), que nos permita realizar un sellado tridimensional de los mismos, evitando dejar espacios vacíos, o filtraciones (Vo, 2022), haciendo uso de los diferentes materiales disponibles en el mercado, como lo son los conos de gutapercha y los distintos cementos de obturación endodóntica, siendo imprescindibles a la hora de intentar alcanzar un sellado ideal en el tercio apical radicular sin sobrepasar la constricción apical (Li, 2021).

La persistencia de la infección podría estar dada por la formación de biopelículas microbianas que son comunidades dinámicas de células que interactúan entre ellas y que están unidas a un sustrato sólido (Prada et al., 2019) y que se ubican en zonas de alta

complejidad anatómica como los istmos, conductos laterales y túbulos dentinarios lo que condiciona el proceso de limpieza y desinfección del sistema de conductos (Versiani et al., 2023). En tal sentido, se ha demostrado que de uno de los factores principales asociados al fracaso del tratamiento endodóntico se relaciona con la persistencia de la infección microbiana dentro del sistema de conductos radiculares y que lograron sobrevivir a pesar de la preparación químico-mecánica realizada (Prada et al., 2019).

Así mismo, por medio de la endodoncia se busca eliminar o disminuir la carga bacteriana al interior de los conductos radiculares (Siqueira, 2022) responsable de la infección de origen endodóntica y que se caracteriza por la presencia de diversos microorganismos, entre ellos se encuentran los *Fusobacterias nucleatum*, *Porphyrromonas endodontalis*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, este último se presenta frecuentemente en tratamientos de conductos que, por múltiples razones, no han tenido un desenlace exitoso (Algamdhi, 2020), las cuales además exhiben factores de virulencia que favorecen su adherencia a las paredes del conducto radicular (Francisco et al, 2020).

El *Enterococcus faecalis* corresponde a una especie bacteriana que se encuentra comúnmente en las lesiones endodónticas secundarias o persistentes, es de naturaleza grampositiva y anaerobia facultativa (Bouillaguet et al., 2018), posee la capacidad de persistir en condiciones ambientales adversas y durante periodos prolongados de escasez de nutrientes; además, muestra resistencia frente a ciertos medicamentos intraconductos aplicados durante el tratamiento (Ali et al., 2020), a través de un pili asociado a la biopelícula es capaz de adherirse a la superficie externa de la raíz y formar biopelículas densas (Momenijavid et al., 2022); De ahí que el objetivo de esta investigación será evaluar el grado de susceptibilidad del *Enterococcus faecalis* a medicamentos usados intraconductos según el tiempo de conservación de los medicamentos.

Metodología

El presente artículo se planteó de tipo experimental, comparativo e in vitro y fue presentado al Comité de Ética de la Universidad Hemisferios con código de aprobación CEUHE25-78. El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la Universidad Hemisferios, bajo un medio estéril. Se utilizaron cepas de *Enterococcus faecalis*, pasta triantibiótica convencional, pasta triantibiótica modificada, pasta biantibiótica y se determinó la susceptibilidad a estos compuestos; los resultados fueron analizados a través del halo de inhibición y reducción/eliminación del biofilm bacteriano.

Materiales

Cajas Petri (22 unidades).

Vasos de precipitación de 40 ml.

Micropipetas de 20 μ l y 100 μ l.

Asa Digrafsky, Asa de inoculación, mecheros y gradillas.

Balanza electrónica (A&D Weighing®).

Vernier calibrador digital (Truper®).

Contenedores estériles color ámbar (3).

Cámara de flujo laminar.

Incubadora (BIOBASE, Shandong, China).

Medios Empleados

Agar Bilis Esculina (HIMEDIA, Pennsylvania, USA)

Suero fisiológico

Muestra

Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212™ (SAFEMLAB, REF. 0366P, Fecha de caducidad: 12-2015).

Soluciones de Estudio

Pasta biantibiótica

Metronidazol (Procops S.A. 500 mg, cápsula, Barranquilla, Colombia).

Ciprofloxacina (Interpharm, 500 mg, tabletas, Guayaquil, Ecuador).

Pasta triantibiótica modificada

Metronidazol (Procops S.A. 500 mg, cápsula, Barranquilla, Colombia).

Ciprofloxacina (Interpharm, 500 mg, tabletas, Guayaquil, Ecuador).

Amoxicilina (La Santé, 500 mg, cápsulas, Bogotá, Colombia).

Grupo Control Negativo

Suero fisiológico.

Grupo Control Positivo

Pasta triantibiótica convencional

Metronidazol (Procops S.A., 500 mg, cápsula, Barranquilla, Colombia).

Ciprofloxacina (Interpharm, 500 mg, tabletas, Guayaquil, Ecuador).

Minociclina (Laboratorios Rowe S.R.L., 100 mg, cápsulas, Santo Domingo, República Dominicana)

Tabla 1*Tabla de Grupos de estudio y ensayos*

	Soluciones	Numero de ensayos
Grupo Control Positivo	Pasta triantibiótica convencional (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina)	22
Grupo De Estudio	Pasta biantibiótica (metronidazol y ciprofloxacina)	22
	Pasta triantibiótica modificada (ciprofloxacina, metronidazol y amoxicilina)	22
Grupo Control Negativo	Suero fisiológico	22

Fuente: elaboración propia.

Procesamiento de bacterias

En condiciones de aerobiosis, las bacterias se sembraron en agar bilis esculina (HIMEDIA, Pennsylvania, USA) en una caja Petri, utilizada como placa inicial, donde se incubaron por 24 horas a 37.5°C para el desarrollo de la cepa. Luego de la reactivación, se tomaron tres colonias bacterianas de la placa original utilizando un asa de inoculación y se transfirieron a un tubo de ensayo que contenía suero fisiológico.

Se evaluó la turbidez cada 5 min por un tiempo de 15 min hasta que alcanzo el 0.5 en la escala de McFarland.

Para la siembra, se extrajeron 100 µL de la solución anterior y se depositaron en una caja Petri de Agar Bilis Esculina. La siembra fue llevada a cabo utilizando un asa Digralsky. Esta secuencia se repitió 22 veces para cada solución de estudio.

Preparación de las pastas triantibióticas y biantibióticas

Primero, a las tabletas de los medicamentos se les retiraron sus cubiertas y luego se trituraron en morteros estériles.

En segundo lugar, las muestras fueron colocadas en frascos de vidrio ámbar estériles, debidamente identificados con el nombre que corresponde a cada fármaco.

Las pastas medicadas se prepararon en las siguientes formulaciones: pasta A: pasta triantibiótica convencional (ciprofloxacina, metronidazol y minociclina), pasta B: pasta biantibiótica (metronidazol y ciprofloxacina) y pasta C: pasta triantibiótica modificada (ciprofloxacina, metronidazol y amoxicilina),

Se utilizó 1 mg de cada uno de los antibióticos en polvo en una proporción de 1:1 (pasta biantibiótica), 1:1:1 (pastas triantibióticas) y se mezclaron con la glicerina (Laboratorios Lira, 60 ml, Quito, Ecuador) como vehículo en una proporción de 1:1, formando una preparación pastosa de 1 mg/ mL de polvo/líquido. La ejecución de esta etapa se efectuó mediante el uso de una balanza calibrada con precisión de 0,001g (A&D Weighing®).

Interacción de las pastas medicadas y el *Enterococcus faecalis*

En la investigación, las evaluaciones se realizaron en tres días específicos: día 0, día 14, día 28. En el día cero, para la preparación de las pastas, se utilizaron componentes nuevos, recién obtenidos de comprimidos o cápsulas; posteriormente, en los días 14 y 28 se utilizaron los medicamentos almacenados durante los 14 y 28 días transcurridos. Finalmente, se utilizaron 22 placas para toda la investigación.

Para cada grupo se hicieron dos pozos en la caja Petri (el espacio entre pozos será de 15 mm) para la colocación de cada una de las soluciones a estudiar. Para cada aplicación se seleccionó una porción representativa de cada una de las pastas, las cuales se dividieron en subporciones iguales de 100 μ L con ayuda de una micropipeta. Se utilizaron 20 μ L de solución fisiológica que se depositaron en los pozos de control negativo.

Para culminar, las placas fueron incubadas a 37.5°C durante un periodo de 24 horas. A continuación, se llevó a cabo la evaluación de la actividad antimicrobiana de las formulaciones mediante la medición de los halos de inhibición utilizando un vernier calibrador (Truper®, precisión de $\pm 0.0005'' / 0.01 \text{ mm}$) y se compararon con la escala de Duraffourd (Checalla et al. 2021), que establece los siguientes parámetros: Nula: menor o igual a 8 mm (-), Sensible: de 9 a 14 mm (+), Muy sensible: de 15 a 19 mm (++), Sumamente sensible: igual o superior a 20 mm (+++).

Análisis estadístico para el procesamiento de datos

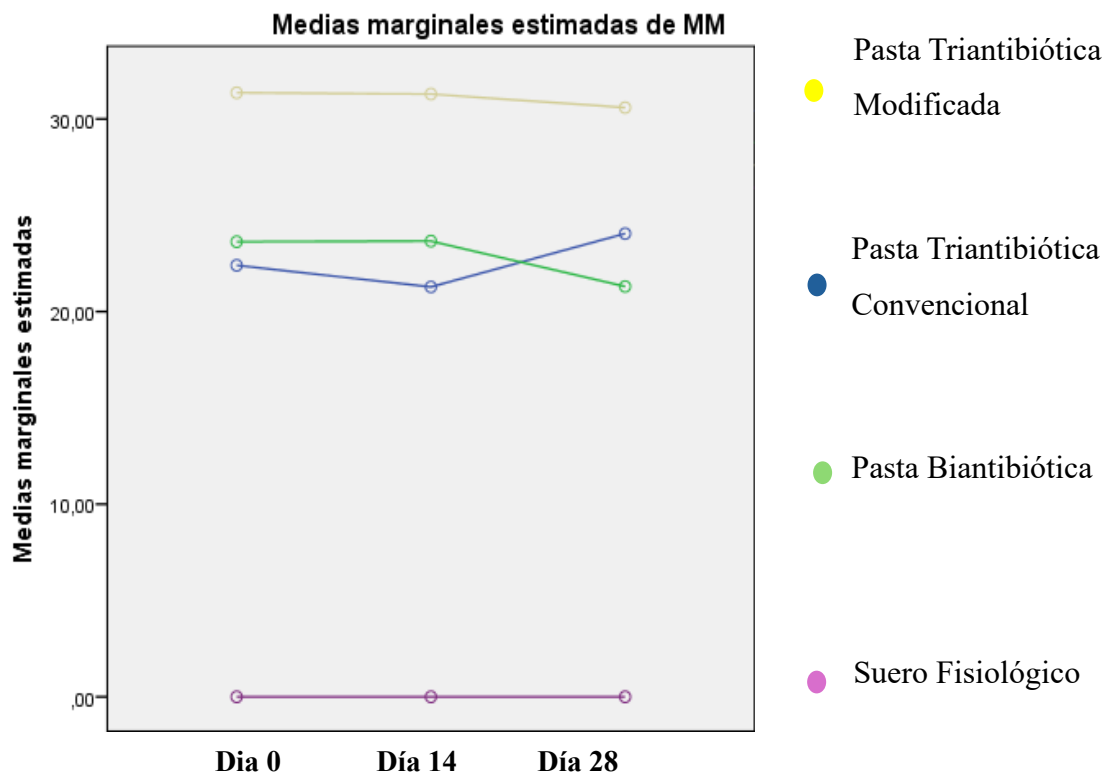
Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS Statics versión 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.). Para evaluar las diferencias entre los grupos se utilizó la prueba ANOVA. Cuando ANOVA mostro diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$), se aplicó la prueba post hoc HSD de Tukey para realizar comparaciones múltiples y determinar que grupos diferían entre sí.

Resultados

En el presente estudio se evaluaron un total de 88 pozos, de los cuales 22 no fueron tomados en cuenta debido a la ausencia de halos de inhibición; estos corresponden a los pozos del grupo control negativo, que carece de actividad antimicrobiana. A las 24 horas (día 0) se midieron 6 placas, a los 14 días se midieron 7 placas y a los 28 días se midieron 9 placas, dichos datos fueron registrados en una ficha de recolección de datos, en Excel (versión 2507) especificando día y numero de placa para cada pasta evaluada.

Gráfico 1

Relación fecha/ halo de inhibición. Línea amarilla: pasta triantibiótica modificada. Línea verde: pasta biantibiótica. Línea azul: pasta triantibiótica convencional.

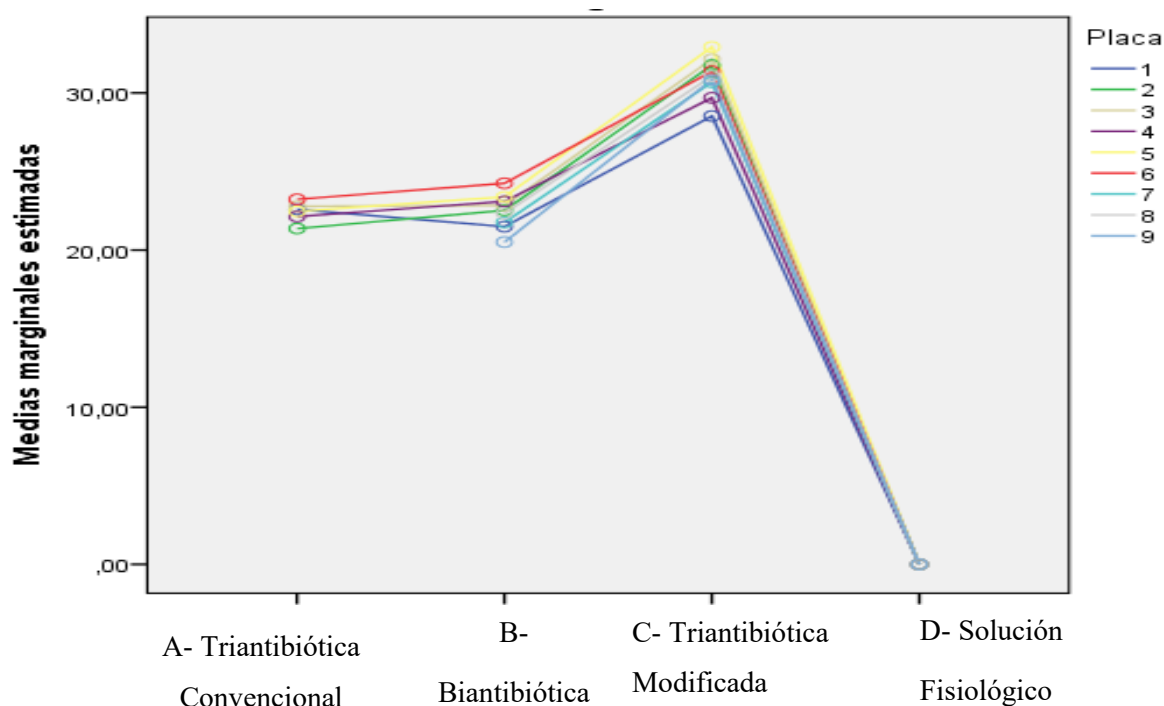


Fuente: elaboración propia.

La pasta triantibiótica modificada presento valores más altos y constantes, con halos de inhibición cuyos diámetros eran significativamente mayores en relación con las demás pastas evaluadas. La pasta biantibiótica muestra un descenso progresivo en su actividad durante los días 14 y 28 lo que sugiere una pérdida de eficacia antimicrobiana. La pasta triantibiótica convencional comenzó con halos moderados, a los 15 días presento un leve descenso y a los 28 días se presente mayor actividad antimicrobiana (Gráfico 1).

Gráfico 2

Tamaño de los halos de inhibición en las placas de estudio a los 28 días.



Fuente: elaboración propia.

El gráfico 2 muestra el tamaño de los halos de inhibición en las nueve placas de estudio a los 28 días. Se puede observar que las tres formulaciones antimicrobianas alcanzaron valores elevados y semejantes entre sí; sin embargo, la pasta triantibiótica modificada registró mayor diámetro en los halos de inhibición, lo que sugiere una actividad antimicrobiana superior frente a las demás preparaciones.

Tabla 2*Prueba ANOVA*

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
FechaHoras	Inter- grupos	37,193	52	,715	1,029	,489
	Intra- grupos	14,591	21	,695		
	Total	51,784	73			
HaloInhib	Inter- grupos	72,541	52	1,395	.	.
	Intra- grupos	,000	21	,000		
	Total	72,541	73			
Placa	Inter- grupos	269,542	52	5,183	,952	,574
	Intra- grupos	114,364	21	5,446		
	Total	383,905	73			

Fuente: elaboración propia.

El análisis de varianza de un factor (ANOVA) reveló que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a las variables 'Fecha-Horas' ($p = 0.489$) y 'Placa' ($p = 0.574$), lo que sugiere que estos factores no influyeron de manera relevante en los resultados obtenidos. Para la variable "HaloInhib", el análisis no pudo realizarse debido a una ausencia total de variabilidad dentro de los grupos, lo que indica que todos los sujetos dentro de cada grupo tenían exactamente el mismo valor, requiriendo una revisión de los datos para este caso. Motivo por el cual se procede a realizar una prueba de comparaciones múltiples o post hoc de HSD de Tukey.

Tabla 3

*Análisis post hoc de Tukey. Valores con * indican diferencias estadísticamente significativas.*

(I)Halo de Inhibición		Diferencia de medias (I-J)	Error típ.	Valor- P
A- Triantibiótica convencional (+)	B- Pasta Biantibiótica	-,2207	,66186	,987
	C- Triantibiótica Modificada	-8,5575*	,66186	,000
	D- Solución Fisiológica (-)	22,4675*	,66186	,000
B- Pasta Biantibiótica (+)	A- Triantibiótica convencional	,2207	,66186	,987
	C- Triantibiótica Modificada	-8,3368*	,48336	,000
	D- Solución Fisiológica (-)	22,6882*	,48336	,000
C- Triantibiótica Modificada (+)	A- Triantibiótica convencional	8,5575*	,66186	,000
	B- Pasta Biantibiótica	8,3368*	,48336	,000
	D- Solución Fisiológica (-)	31,0250*	,48336	,000
D- solución Fisiológica (-) (+)	A- Triantibiótica convencional	-22,4675*	,66186	,000
	B- Pasta Biantibiótica	-22,6882*	,48336	,000
	C- Triantibiótica Modificada	-31,0250*	,48336	,000

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 3 se evidencian los resultados de la prueba post hoc de Tukey, en los cuales se establece el valor de p correspondiente a cada comparación. El análisis post hoc HSD de Tukey reveló que no hubo diferencia significativa entre la pasta triantibiótica convencional y la biantibiótica ($p = 0,987$). Sin embargo, todas las demás comparaciones fueron estadísticamente significativas ($p = < 0,000$), destacando que la formulación

modificada presento halos de inhibición significativamente mayores a los demás tratamientos.

Tabla 4

Subconjuntos homogéneos.

Halo de inhibición	N	Subconjuntos		
		1	2	3
D- Solución Fisiológica (-)	22	0		
A- Triantibiótica convencional (+)	22		22,4675	
B- Pasta Biantibiótica	22		22,6882	
C- Triantibiótica Modificada	22			31,025
Sig.		1	0,981	1

Fuente: elaboración propia.

En la tabla 4, por medio de la prueba post hoc HSD de Tukey, se agruparon los cuatro tratamientos en tres subconjuntos en donde se evidenció que la pasta convencional y la biantibiótica ubicadas en el subconjunto 2, presentaron actividades similares y moderadas (~ 22, 5 mm), clasificadas como sumamente sensibles (+++) según la escala de Duraffourd (Checalla et al. 2021). Así mismo, la pasta triantibiótica modificada ubicada en el subconjunto 3 obtuvo una media 31,025 mm, clasificadas como sumamente sensibles (+++) según la escala antes mencionada, representando un valor significativamente superior al de los demás tratamientos, lo que sugiere ser la opción más efectiva.

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que la pasta biantibiótica mostró una disminución progresiva en su eficacia antimicrobiana en los días 14 y 28, lo que podría estar vinculado con la pérdida de estabilidad de sus principios activos o con la ausencia de un tercer agente antibiótico que refuerce su espectro de acción. Este patrón confirmado por Montero et al. (2018) señalando que las formulaciones en las que se

presentan un menor número de agentes antibióticos presentaban una reducción notable de potencia antimicrobiana, lo que comprometía su capacidad terapéutica.

En cuanto a la pasta triantibiótica convencional, se observó una respuesta variable a lo largo del tiempo: inicialmente presentó halos de inhibición moderados, seguidos de una leve disminución en la actividad a los 15 días, y posteriormente un aumento al día 28. Este patrón sugiere la posibilidad de una acción retardada de los principios activos, cuyo efecto antimicrobiano se manifiesta en etapas posteriores. De hecho, estudios realizados por Wassel et al. (2022) reportaron resultados similares puesto que encontraron que ciertos vehículos permiten una liberación sostenida de combinaciones antibióticas dentro del sistema de conductos, pudiendo generar picos de actividad antimicrobiana posteriores a la aplicación, atribuidos a la composición del vehículo.

En respaldo a estas observaciones, se realizó un análisis estadístico que permitió contrastar cuantitativamente las diferencias entre las formulaciones. El análisis estadístico mediante ANOVA no reveló diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$, véase tabla 2). Sin embargo, la prueba post hoc HSD de Tukey aplicada para realizar comparaciones múltiples, indicó diferencias significativas entre algunos grupos ya que se observaron valores de p inferiores a 0.05. En este contexto, la pasta triantibiótica modificada se ubicó en un subconjunto independiente con una media de diámetro de halo de inhibición de 31,025 mm, valor estadísticamente superior al registrado en las demás formulaciones. Estos resultados respaldan su potencial como la alternativa más eficaz en términos de actividad antimicrobiana.

Estos resultados avalan la hipótesis de que integrar estratégicamente componentes adicionales a los medicamentos intraconductos pueden incrementar su eficacia terapéutica. Lo anterior se ve respaldado por Ulloa et al. (2024), quienes demostraron que la pasta

triantibiótica presenta una acción antimicrobiana eficiente, incluso en zonas de alta complejidad anatómica del sistema de conductos, atribuida a la complementariedad farmacológica entre sus componentes, así como a su capacidad de penetración. Tal como lo reporta Valan et al. (2021), la modificación de la pasta triantibiótica mostro acción antimicrobiana, permitiendo la eliminación del *Enterococcus faecalis*, incluso a concentraciones reducidas.

Adicionalmente, la comparación directa entre la pasta triantibiótica convencional (A) y la modificada (C) evidenció un efecto antimicrobiano significativamente mayor en esta última, lo cual sugiere que las modificaciones en la formulación podrían considerarse en una alternativa viable en situaciones clínicas complejas, especialmente en el tratamiento de infecciones endodónticas persistentes. En este sentido, Parashar et al. (2020) reportaron que al sustituir la minociclina por clindamicina se lograba preservación del efecto terapéutico al tiempo que permitía reduciendo su citotoxicidad, lo que fortalece la importancia clínica al modificar convenientemente los principios activos de la fórmula original.

En conjunto, estos hallazgos sustentan la hipótesis de que la incorporación estratégica de componentes adicionales en las pastas antimicrobianas puede potenciar su eficacia terapéutica, así como lo demostró Kansal et al. (2023) quienes evidenciaron que la modificación de la pasta triantibiótica con vehículos como la clorhexidina al 2% potenciaba la acción antimicrobiana. La pasta triantibiótica modificada representa, bajo las condiciones evaluadas, una opción prometedora para mejorar los resultados clínicos en endodoncia, particularmente en casos que requieren una acción prolongada y potente frente a microorganismos patógenos. En relación con esto último, Ribeiro et al. (2022) destacaron que las versiones modificadas de la pasta triantibiótica demostraron una actividad antimicrobiana duradera y eficaz frente a biofilms de *Enterococcus faecalis*.

A pesar de los resultados obtenidos, este estudio presenta ciertas limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los hallazgos. En primer lugar, el diseño in vitro no permite replicar completamente las condiciones clínicas del sistema de conductos, especialmente la respuesta inmunológica del huésped o la complejidad anatómica. Finalmente, no se evaluaron aspectos como la estabilidad química o la interacción con tejidos periapical, factores que podrían influir en la viabilidad clínica de las formulaciones propuestas.

Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos y el análisis comparativo entre las distintas formulaciones evaluadas, se concluye que la pasta triantibiótica modificada constituye una alternativa terapéutica superior en términos de eficacia antimicrobiana. La disminución progresiva observada de la pasta biantibiótica, junto con la respuesta variable de la fórmula convencional, evidencian la necesidad de optimizar las composiciones farmacológicas mediante la incorporación de vehículos y componentes estratégicos que favorezcan una liberación sostenida y dirigida de los principios activos.

Los hallazgos del presente estudio, sustentados por múltiples referencias recientes, confirman que las modificaciones en la fórmula – como el reemplazo de antibióticos o vehículos – no solo potencian la acción antimicrobiana, sino que también mejoran la penetración en el sistema de conductos y disminuyen la citotoxicidad. En este contexto, la pasta triantibiótica modificada demostró ser estadísticamente más eficaz frente a *Enterococcus faecalis* en condiciones experimentales.

Por tanto, se recomienda considerar esta formulación en futuras investigaciones, especialmente en estudios clínicos aleatorizados o en evaluaciones clínicas a largo plazo relacionados a la evaluación de infecciones persistentes que requieren una respuesta sostenida

y potente frente a microorganismos resistentes. Estos resultados aportan al desarrollo de técnicas más eficientes para el manejo farmacológico, reforzando las opciones terapéuticas basadas en evidencia para el manejo de infecciones persistentes.

Referencias

- Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The influence of enterococcus faecalis as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. *Careus*. 12(3), e7257. (doi: 10.7759/cureus.7257).
- Ali, I., A. A., Cheung, B. P. K., Matinlinna, J., Levesque, C. M., & Neelakantan, P. (2020a). Trans-cinnamaldehyde potently kills enterococcus faecalis biofilm cells and prevents biofilm recovery. *Microbial Pathogenesis*. 149(1), e104482. (doi: 10.1016/j.micpath.2020.104482.)
- Ali, I. A. A., Cheung, B. P. K., Yau, J. Y. Y., Matinlinna, J. P., Levesque, C. M., Belibasakis, G. N., et al. (2020b). The influence of substrate surface conditioning and biofilm age on the composition of enterococcus faecalis biofilms. *International Endodontic Journal*. 53(11) 1516-1526. (doi: 10.1111/iej.13202).
- Bouillaguet, S., Manoil, D., Girard, M., Louis, J., Gaïa, N., Leo, S., et al. (2018). Root microbiota in primary and secondary apical periodontitis. *Frontiers in Microbiology*. 9(1), e2374. (doi: 10.3389/fmicb.2018.02374).
- Checalla, J., & Sánchez, M. (2021). Chemical characterization and in vitro antibacterial activity of a peruvian propolis ethanolic extract against Streptococcus mutans. *International journal of odontostomatology*. 15(1), 145-151. (doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100145>).
- Francisco, P., Da Graça, P., Lemes-Junior, J., Rodrigues Lima, A., Zieberg Passini, M., & Gomes, B. (2021). Pathogenic potential of Enterococcus faecalis strains isolated from root canals after unsuccessful endodontic treatment. *Clinical Oral Investigations*. 25(1), 5171-5179. (doi: 10.1007/s00784-021-03823-w).

- Kansal, K., Singh, J., Singla, G., Sharma, S., Gupta, N., & Saggar, V. (2023). Comparative evaluation of antimicrobial effects of triple antibiotic paste and calcium hydroxide using different vehicles against *Enterococcus faecalis*. *Global Journal of Medical Research*. 23(2), 27-34. (doi: 10.7759/cureus.43541).
- Leiva, D., Gómez, M., Aguilera, F., & Echeverri, D. (2022). Influence of the operator's experience in shaping simulated root canals using the waveone gold file system. *International journal of Odontostomatology*. 16 (4), 546-551. (doi: <http://dx.doi.org/10.4067-381X2022000400546>).
- Li B., & Gong Q. (2021). Research progress in clinical prognosis of apical overfilling of root canal obturation. *Chinese Journal of Stomatology*. 56(2), 210-215. (doi: <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112144-20200226-00088>).
- Mohammadi, Z., Jafarzadeh, H., Shalavi, S., Yaripour, S., Sharifi, F., & Kinoshita, J. (2018). A review on triple antibiotic paste as a suitable material used in regenerative endodontics. *Iran Endodontic Journal*. 13(1), 1-6. (doi: 10.22037/iej.v13i1.17941).
- Momenjavid, M., Salimizand, H., Korani, A., Dianat, O., Nouri, B., Ramazanzadeh, R., Amjad A., Rostampour, j., & Rastegar Khosravi, M. (2022). Effect of calcium hydroxide on morphology and physicochemical properties of enterococcus faecalis biofilm. *Scientific Reports*. 12(1), e7752. (doi:10.1038/s41598-022-11780-x).
- Montero, P., Martín J. A., Jiménez, O., Velasco, M., & E. Segura, J. (2018). Effectiveness and clinical implications of the use of topical antibiotics in regenerative endodontic procedures: a review. *International Endodontic Journal*. 51(9), 981-988. (doi: <https://doi.org/10.1111/iej.12913>).

- Parashar, V., Khan, SA., Singh, P., Sharma, S., Kumar, A., & Kumar, A. (2020). Effect of intracanal medicaments (modified triple antibiotic paste, calcium hydroxide, and aloe vera) on microhardness of root dentine: An *in vitro* study. *Journal Contemp Dental Practice*. 21(6), 632-635. (pmid: 33025931).
- Prada I, Micó, P., Giner, T., Micó, P., Collado, N., & Manzano-Saiz, A. (2019). Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 24(3), e364-e372. (doi: 10.4317/medoral.22907).
- Román, C., Chumpitaz, V., Chávez, L., & Erazo, C. (2023). In vitro antimicrobial activity of the triantibiotic paste, according to the time of application and storage. *Cuban journal of Stomatology*. 60(2), 634-641. <https://revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/4235>.
- Ribeiro, J., Munchow, E., Ferreira E., De Oliveira, W., & Bottino, M. (2020) Antimicrobial therapeutics in regenerative endodontics: A scoping review. *Journal of Endodontics*. 46(9S), S115-S127. (doi: 10.1016/j.joen.2020.06.032)
- Siqueira JF., & Rôças IN, (2022). Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *International Endodontic Journal*. 55(3), 512-530. (doi: 10.1111/iej.13677).
- Ulloa, A., Álvarez, Á., Moscoso, AME., & Bastidas C. (2024). Antimicrobial effect as intraconduit mediation of tri-antibiotic paste. *Journal of the Mexican Dental Association*. 81(4), 211-215. (doi: 10.35366/117351).
- Valan, A., Kolli, S., Eswaramoorthy, R., Krithikadatta, J., & Malli, N. (2024). Comparison of antibacterial efficacy of triple antibiotic-loaded hydrogel versus modified triple

antibiotic-loaded hydrogel as intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *European Endodontic Journal*. 9(2), 154-160. (doi: 10.14744/eej.2023.06977).

Versiani M., Martins J., & Ordinola-Zapata, R. (2023). Anatomical complexities affecting root canal preparation: a narrative review. *Australian Dental Journal*. 68(1), S5-S23. (doi: 10.1111/adj.12992).

Vo, K., Daniel, J., Ahn, C., Primus, C., & Komabayashi, T. (2022). Coronal and apical leakage among five endodontic sealers. *Journal of Oral Science*. 64 (1), 2022, Pages 95-98. (doi: 10.2334/josnusd.21-0433).

Wassel, M., Radwan, M. & Elghazawy, R. (2023). Direct and residual antimicrobial effect of 2% chlorhexidine gel, double antibiotic paste and chitosan- chlorhexidine nanoparticles as intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in primary molars: an in-vitro study. *BMC Oral Health*. 23(1), 1-10. (doi: <https://doi.org/10.1186/s12903-023-02862-x>).

Anexos

Anexo 1. Certificado Cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

UHE | UNIVERSIDAD
HEMISFERIOS

uhemisferios.edu.ec

Quito, 05 de septiembre de 2025

CERTIFICADO

A quien corresponda

Por medio de la presente se certifica que la bacteria *Enterococcus faecalis* corresponde a la siguiente cepa:

- **Identificador de la cepa:** ATCC® 29212™
- **Nombre y Especie:** *Enterococcus faecalis*
- **Origen:** SAFEMLAB
- **Número de lote:** Ref 0366P
- **Fecha de caducidad:** 12-2015

Se extiende la presente constancia para los fines que al interesado convenga.

Atentamente,

Laboratorio de Microbiología
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Hemisferios
Quito - Ecuador

Paseo de La Universidad Nro. 300
& Juan Díaz (Iñaquito Alto)

f X @uhemisferios
@ @uhe.official
in Universidad Hemisferios