



Revista Eugenio Espejo
ISSN: 1390-7581
ISSN: 2661-6742
revistaeugenioespejo@unach.edu.ec
Universidad Nacional de Chimborazo
Ecuador

Evaluación de la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 frente a medicamentos combinados con hidróxido de calcio

Rodríguez Robalino, Doménica Mishelly; Reinoso Ortiz, Silvia Alexandra; Vallejo Lara, Silvia Verónica; Paredes Chinizaca, Paola Natali

Evaluación de la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 frente a medicamentos combinados con hidróxido de calcio

Revista Eugenio Espejo, vol. 15, núm. 1, 2021

Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=572865113007>

DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.37135/ee.04.10.02>

Evaluación de la susceptibilidad de *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 frente a medicamentos combinados con hidróxido de calcio

Evaluation of the susceptibility of *Enterococcus faecalis* ATCC-29212 to drugs combined with calcium hydroxide

Doménica Mishelly Rodríguez Robalino
Centro de Salud Tipo B Guano, Ecuador

 <https://orcid.org/00000002-0261-4909>

DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.37135/ee.04.10.02>

Redalyc: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=572865113007>

Silvia Alexandra Reinoso Ortiz
Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador
sreinoso@unach.edu.ec

 <https://orcid.org/00000002-8895-8947>

Silvia Verónica Vallejo Lara
Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador

 <https://orcid.org/00000001-9857-4157>

Paola Natali Paredes Chinizaca
Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador

 <https://orcid.org/0000-0003-0453-7019>

Recepción: 02 Mayo 2020

Aprobación: 11 Noviembre 2020

RESUMEN:

La elevada incidencia del *Enterococcus faecalis* en procedimientos odontológicos es un tópico de interés para el área de la salud, esta bacteria resiste a varios antimicrobianos y su proliferación aumenta debido a su baja susceptibilidad a sustancias de uso convencional como el hidróxido de calcio, convirtiéndose en una de las principales causas del fracaso de los tratamientos de conducto. La presente investigación evaluó la susceptibilidad in vitro del *Enterococcus faecalis* cepa ATCC-29212 frente a la combinación de sustancias y antibióticos con el hidróxido de calcio. Se utilizó la técnica de difusión en agar, inoculando el microorganismo en cajas de Petri con agar Cerebro Corazón (BHI), tratado con discos de papel filtro impregnados con 1µl de cada tratamiento por triplicado; T1 (Hidróxido de Calcio + propilenglicol), T2 (Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol), T3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina gentamicina + propilenglicol), T4 (Hidróxido de Calcio + Solución Salina Fisiológica), Control positivo (medicamento comercial a base de Hidróxido de Calcio), se incubó a 35°C durante 24h, los halos formados alrededor de cada disco fueron medidos y comparados con la escala de Duraffourd y procesados mediante ANOVA de un factor. Se obtuvo una medida del halo de inhibición de $22,50 \pm 3,3$ mm, con el tratamiento T3, siendo sumamente sensible. Concluyendo que este resultó el más efectivo en comparación el resto de las pruebas in vitro en comparación con el resto de los fármacos investigados.

PALABRAS CLAVE: *Enterococcus faecalis*, hidróxido de calcio, ampicilina, gentamicina.

ABSTRACT:

The high incidence of *Enterococcus faecalis* in dental procedures is a topic of interest for the health area. This bacterium resists various antimicrobials, and its proliferation increases due to its low susceptibility to substances of conventional use such as calcium hydroxide, becoming one of the main causes of root canal failure. The present investigation evaluated the in vitro susceptibility of *Enterococcus faecalis* strain ATCC-29212 to the combination of substances and antibiotics with calcium hydroxide. The agar diffusion technique was used, inoculating the microorganism in Petri dishes with Brain Heart agar (BHI), treated with filter paper disks impregnated with 1µl of each treatment in triplicate; T1 (Calcium Hydroxide + propylene glycol), T2 (Calcium Hydroxide + paramonochlorophenol), T3 (Calcium Hydroxide + ampicillin gentamicin + propylene glycol), T4 (Calcium Hydroxide + Physiological Saline Solution), Positive control (Hydroxide-based commercial medicine Calcium), incubated at 35 °C for 24h, the halos formed around each disc were measured and compared with the Duraffourd scale and processed by one-factor ANOVA. A

measure of the inhibition halo of 22.50 ± 3.3 mm was obtained with the T3 treatment, being extremely sensitive. It was concluded that this was the most effective in comparison with the rest of the in vitro tests of the rest of the investigated drugs.

KEYWORDS: Enterococcus Faecalis, Calcium Hydroxide, Ampicillin, Gentamicin.

INTRODUCCIÓN

Enterococcus faecalis es un microorganismo anaerobio facultativo, Gram positivo, inmóvil, no esporulado que coloniza el tracto gastrointestinal y forma parte de la microbiota normal de la saliva.^(1,2) Sin embargo, con la aparición de la terapia antibiótica, se ha convertido en un patógeno oportunista resistente que puede permanecer dentro de los conductos radiculares incluso después de la instrumentación endodóntica,^(3,4) siendo una de las principales causas del fracaso en el tratamiento de conducto, debido a que componentes estructurales como el colágeno y la fibronectina ayudan a la adhesión de la bacteria en tejidos y dentina. También favorece la aparición de enfermedades periapicales por su capacidad de apoptosis y piroptosis a las células.^(3,5,6,7)

Partiendo de que, la eliminación de los microorganismos y la prevención de la reinfección dentro del conducto radicular es el principal objetivo del tratamiento endodóntico.^(8,9) En enfermedades pulpares severas, la razón primordial del fracaso de un tratamiento de conducto está dada por que los microorganismos no son erradicados totalmente; tal como ocurre en la necrosis pulpar debido a un estado de putrefacción del nervio por la presencia de gran cantidad de microorganismos, sin que exista antibacterianos de amplio potencial de eliminación o limpieza deficiente.^(10,11,12)

Los desechos producidos por *Enterococcus faecalis* constituyen un factor etiológico de las enfermedades pulpares, especialmente de la necrosis pulpar. La principal causa de retratamiento es la eliminación incompleta de ese tejido contenido en un complejo sistema de conductos, quedando presentes microorganismos en la porción apical de la raíz fundamentalmente.^(1,13,14) La obturación inadecuada da la oportunidad a estos microorganismos para que colonicen estas zonas y sobreviva a los materiales medicamentosos y obtenga alimento.^(9,13)

La presencia de este microorganismo no se manifiesta únicamente en los fallos de tratamientos endodónticos. En algunos estudios, se ha encontrado en raíces del 70% de los casos de obturación por periodontitis apical.⁽¹²⁾ *Enterococcus faecalis* estuvo presente en el 60% de tratamientos endodónticos fallidos y en un 25% de piezas dentales sometidas al tratamiento. Se ha observado que la bacteria tiene la capacidad degradativa similar a la esterasa, pudiendo afectar los componentes de la resina ocasionando la contaminación de la pieza dental.^(4,15,16)

El Hidróxido de Calcio constituye la sustancia antibacteriana más utilizada en el tratamiento endodóntico,^(4,7) debido a que su alto pH destruye la membrana celular bacteriana y las estructuras de proteínas;⁽¹⁷⁾ sin embargo, varios estudios demuestran que *Enterococcus faecalis* puede ser resistente a varios antibacterianos incluyendo ese medicamento.^(1,4,18) La eliminación de este microorganismo por medios convencionales puede llegar a ser poco eficaz, haciéndose necesaria la investigación de nuevos fármacos que potencien la acción de este o como alternativa terapéutica.

Así, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la susceptibilidad in vitro del *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 frente a la combinación de diferentes sustancias y medicamentos antimicrobianos (propilenglicol, paramonoclorofenol, ampicilina + gentamicina + propilenglicol) con Hidróxido de Calcio.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio corresponde a una investigación aplicada, descriptiva transversal y experimental que se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Chimborazo, durante los meses de junio y julio de 2019, cuyo procedimiento metodológico se describe a continuación.

La actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión en agar

Los estudios de la actividad antimicrobiana se llevaron a cabo utilizando la técnica de Kirby Bauer⁽¹⁹⁾ mediante el siguiente procedimiento:

1. Se preparó una combinación de diferentes sustancias y medicamentos antimicrobianos (propilenglicol, paramonoclorofenol, ampicilina + gentamicina + propilenglicol) con Hidróxido de Calcio a los que se les denominó Tratamientos (T) quedando conformados de la manera siguiente: T1: Hidróxido de Calcio + propilenglicol, T2: Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol, T3: Hidróxido de Calcio + ampicilina gentamicina + propilenglicol, T4: Hidróxido de Calcio + suero fisiológico, el Control positivo fue una pasta comercial a base de Hidróxido de Calcio.

2. Se utilizó una cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212 que provenía de un cultivo fresco y puro, obtenido en agar.

3. Del cultivo fresco se preparó un inóculo bacteriano de 1,5 x 10. UFC/mL a partir de la cepa bacteriana estudiada, el crecimiento bacteriano se ajustó a la turbidez del patrón 0.5 de McFarland.⁽²⁰⁾

4. La muestra bacteriana se obtuvo con un hisopo de algodón estéril introducido dentro del tubo que contenía el inóculo estandarizado en el paso anterior. El exceso de líquido se eliminó haciendo rotar suavemente el hisopo contra las paredes del tubo.

5. Con el hisopo debidamente humedecido, se inoculó en tres o cuatro direcciones toda la superficie de una placa con agar Cerebro Corazón (BHI) girando sucesivamente dicha placa en ángulos de 90°. Se dejó secar el inóculo a temperatura ambiente durante unos minutos.

6. La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó por triplicado, por lo tanto, en series de 3 cajas de Petri se colocó con una pinza estéril en forma equidistante sobre la superficie del agar en cada placa dos discos de papel filtro con 1µl de cada uno de los tratamientos: T1, T2, T3, T4 y control positivo.

7. Se incubaron las placas en una estufa de cultivo a una temperatura de 35 °C, en atmósfera aeróbica.

8. La lectura de las placas se realizó después de 24 horas de incubación, la aparición de halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos permitió determinar la actividad antimicrobiana, se midió el diámetro de los halos de inhibición y se realizó la comparación de los mismos con la escala de Duraffourd,⁽²¹⁾ siendo *nula* (menor o igual a 8 mm), *sensible* (de 9 a 14 mm), *muy sensible* (de 15 a 19 mm) y *sumamente sensible* (igual o superior a 20 mm).

Los datos obtenidos fueron procesados empleando el programa en SPSS Statistics 21.0, se realizó un análisis de varianza para comparar múltiples medias ANOVA y método de Tukey para crear intervalos de confianza en subconjuntos homogéneos, lo que permitió ejecutar comparaciones de medias entre los tratamientos (medicamentos combinados con Hidróxido de Calcio) y elegir al tratamiento con mayor susceptibilidad frente a *Enterococcus faecalis* cepa ATCC-29212.

Los investigadores utilizaron las instalaciones de laboratorio certificadas de la Universidad Nacional de Chimborazo, siguiendo el protocolo establecido de bioseguridad para este tipo de trabajo. El estudio contó con la aprobación de las comisiones a nivel de las respectivas carrera y facultad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del estudio in vitro de la actividad antibacteriana de los cuatro tratamientos propuestos (T1, T2, T3 y T4) y del control positivo (Hidróxido de Calcio pasta) sobre la especie bacteriana: *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212, permitió establecer la sensibilidad de esa bacteria ante estos.

Aunque se observó sensibilidad ante cada sustancia utilizada, el tratamiento 3 (T3), empleando Hidróxido de Calcio + ampicilina gentamicina + propilenglicol, arrojó los resultados más favorables en la terapéutica antibacteriana dirigida al *Enterococcus faecalis* ATCC- 29212, microorganismo que resultó sumamente sensible (

=22.5 mm) ante ese fármaco según la escala de Duraffourd⁽²¹⁾ (tabla 1).

TABLA 1
Sensibilidad de las combinaciones de medicamentos

TRATAMIENTO/Nº	1	2	3	PROMEDIO	DES. ESTANDAR	RESULTADO
Control (+)	10.5	10.5	11	10.6667	0.2887	Sensible
T1 (mm)	12.5	13	13.5	13.0000	0.5000	Sensible
T2 (mm)	13.5	17.5	15	15.3333	2.0207	Sensible-muy sensible
T3 (mm)	23	20	24.5	22.5000	2.2913	Sumamente sensible
T4 (mm)	18	19.5	19.5	19.0000	0.8660	Muy sensible

T1 (Hidróxido de Calcio + propilenglicol), T2 (Hidróxido de Calcio + paramonoclorofenol), T3 (Hidróxido de Calcio + ampicilina gentamicina + propilenglicol), T4 (Hidróxido de Calcio + suero fisiológico). Escala de Duraffourd: Nula ≤ 8 mm; Sensible ≥ 9 a 14 mm; Muy sensible ≥ 15 a 19 mm; Sumamente sensible ≥ 20 mm.

El análisis de varianza de los valores medios de los halos de inhibición obtenidos al tratar in vitro a la bacteria estudiada mediante diferentes combinaciones de tratamientos, obteniéndose un valor de probabilidad significativo (0,002), lo que permite inferir que al menos uno de los tratamientos comparados fue diferente (tabla 2).

TABLA 2
Análisis de varianza de las medias de los tratamientos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	436,130	4	109,032	5,886	,002
Dentro de grupos	407,500	22	18,523		
Total	843,630	26			

La prueba de Tukey de igualdad de medias de los grupos en subgrupos homogéneos permitió identificar que el tratamiento 3 (T3) consigue que el diámetro medio de los halos de inhibición se maximice (tabla 3).

TABLA 3
Igualdad de medias de Tukey

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONTROL POSITIVO	3	10,67		
T2	3	13,00	13,00	
T1	3	15,33	15,33	15,33
T4	3		19,00	19,00
T3	3			22,50
Sig.		,446	,215	,098

Los resultados de esta investigación concuerdan con los obtenidos en otros estudios,^(22,23,24,25) en los que se refiere la existencia de variaciones relativas a la resistencias, intrínsecas o adquiridas por la bacteria *Enterococcus faecalis*. La terapia estándar está dada por el uso de ampicilina más un aminoglucósido, de conjunto esas sustancias permiten un efecto sinérgico que incrementa la actividad bactericida de los antibióticos.

Gavaldá et al.⁽²⁶⁾ reportan que el tratamiento experimental de la endocarditis resultó ser efectivo mediante la combinación de ampicilina y gentamicina, con el objetivo de reforzar la acción de la primera utilizándola de conjunto con otra que inhiba la síntesis de la pared celular del microorganismo patógeno. Al respecto, también se sugiere el uso de una cefalosporina como la ceftriaxona cuando existe resistencia adquirida de alto nivel a la gentamicina, anulando la sinergia de la unión antibiótica. Esos autores recomiendan la utilización de la combinación de ampicilina más ceftriaxona por ser esta menos nefrotóxica en pacientes con problemas renales.

De acuerdo con el estudio realizado por Causse et al.,⁽²⁷⁾ El *Enterococcus faecalis* resulta más sensible ante los betalactámicos como la ampicilina y la amoxicilina más ácido clavulánico, con un 98% y 99% respectivamente; seguido de los aminoglucósidos como la gentamicina (76%), la que causó mayor efecto en comparación con la estreptomycin (56%), lo que permite suponer la existencia de un efecto sinérgico realizar terapia combinada mediante ampicilina y gentamicina, coincidiendo con los resultados de la presente investigación. El tiempo estimado para que un medicamento intraconducto cumpla su función oscila entre el tercer día y el séptimo día en dependencia de la magnitud de la infección, la resistencia bacteriana y la respuesta del organismo del paciente.

CONCLUSIONES

La evaluación in vitro permitió establecer que el tratamiento T3(Hidróxido de calcio + ampicilina, gentamicina y propilenglicol) resultó el más efectivo para inhibir al *Enterococcus faecalis* cepa ATCC-29212, pudiendo potenciarse su acción a mayor tiempo de exposición. Lo que indica que constituye una excelente alternativa farmacológica viable en intervenciones intraconducto, ante una posible resistencia microbiana para evitar fracasos terapéuticos endodónticos.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener

Declaración de contribuciones:

Doménica Mishelly Rodríguez Robalino, Silvia Alexandra Reinoso Ortiz, Silvia Verónica Vallejo Lara, Paola Natalí Paredes Chinizaca, trabajaron en el desarrollo del proyecto, análisis microbiológico, recogida e interpretación de datos y la elaboración del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez C, Oporto G. Implicancias clínicas de la contaminación microbiana por *Enterococcus faecalis* en canales radiculares de dientes desvitalizados: Revisión de la literatura. Rev. Odont. Mex. [Internet]. 2015 [citado 2019 Nov 05]; 19(3): 181–186. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1870199X15000233>.
2. Rahul K, Jayashree A, Vasundhara S, Vandana R, Rahul H. Eficacia antibacteriana de las nanopartículas de plata biosintetizadas contra la biopelícula de *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. Contemp Clin Dent. [Internet]. 2018 [citado 2019 Nov 05]; 9(2): 374–424. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5968689/>.
3. Van Tyne D, Martin M, Gilmore M. Estructura, función y biología de la citolisina *Enterococcus faecalis*. Toxins [Internet]. 2013 [citado 2019 Nov 05]; 5(5): 895–911. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3709268/>.
4. Sena I, Araújo I, Dos Santos M, Lima I. Antibacterial effectiveness in vitro of different formulations of calcium hydroxide paste. RGO, Rev. Gaúch. Odontol. [Internet]. 2017 [citado 2019 Dic 05]; 65(4): 293–298. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198186372017000400293.
5. Ran S, Chu M, Gu S, Wang J, Liang J. *Enterococcus faecalis* induce apoptosis y piroptosis de células MG63 osteoblásticas humanas a través del inflammasoma NLRP3. Int Endod J. [Internet]. 2019 [citado 2019 Dic 05]; 52(1): 44–53; Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29904931>.
6. Marashdeh M, Gitalis R, Levesque C, Finer Y. *Enterococcus faecalis* Hydrolyzes Dental Resin Composites and Adhesives. J Endod [Internet]. 2018 [citado 2019 Dic 05]; 44(4): 609–613. Disponible en: [https://www.jendodon.com/article/S0099-2399\(17\)31305-5/fulltext](https://www.jendodon.com/article/S0099-2399(17)31305-5/fulltext).
7. Ganesh MR, Chaurasia VR, Masamatti VKS, Mujeeb A, Jhamb A, Agarwal JH. In vitro evaluation of antibacterial efficacy of calcium hydroxide in different vehicles. J Int Soc Prev Community Dent [Internet]. 2014 [citado 2019 Nov 05]; 4(1): 56–60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015164/>.
8. Cancio V, Carvalho Ferreira D, Cavalcante FS, Rosado AS, Teixeira LM, Braga Oliveira Q, Barcelos R, Gleiser R, Santos HF, Dos Santos KRN, Primo LG. Can the *Enterococcus faecalis* identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment? Acta Odontol Scand [Internet]. 2017 [citado 2019 Nov 05]; 75(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28580816/>.
9. Fernandes R, Furquim L, Tartari T, Bombarda F, Ricci R, Hungaro M. Do different strains of *E. faecalis* have the same behavior towards intracanal medications in vitro research? Braz. oral res. [Internet]. 2018 [citado 2019 Nov 25]; 32(46). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-8324201800100238.
10. Chandwani M, Chandak S. Evaluación de anaerobios facultativos de los conductos radiculares de molares deciduos: un estudio in vivo. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects [Internet]. 2017 [citado 2019 Nov 05]; 11(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5520000/>.
11. Stenhouse M, Zilm P, Ratnayake J, Cathro P. Investigation of the effect of rapid and slow external pH increases on *Enterococcus faecalis* biofilm grown on dentine. Aust Dent J [Internet]. 2018 [citado 2019 Nov 05]; 63(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29327470>.
12. Alvear P, Marruego P, Romero A. Evaluación de la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio combinado con diferentes concentraciones de omeprazol frente a *Enterococcus faecalis*. Salud, Barranquilla [Internet]. 2018

[citado 2019 Dic 03]; 34(3): 551-557. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522018000300551

13. Srinivas S, Jibhkate NG, Barnwal R, Avinash A, Tandil Y, Rath S. Propylene Glycol: A New Alternative for an Intracanal Medicament. J Internat Oral Health [Internet]. 2016 [citado 2019 Dic 05]; 8(5): 611-614. Disponible en: <http://www.ispcd.org/userfiles/rishabh/V8I5/V8I5A15.pdf>.
14. Tabrizzadeh M, Rasti M, Ayatollahi F, Mossadegh MH, Zandi H, Dehghan F, et al. Antimicrobial activity of calcium hydroxide and Betamethasone on *Enterococcus faecalis*: An in vitro Assessment. Iran Endod J [Internet]. 2015 [citado 2019 Nov 05]; 10(3): 184-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4509127/>.
15. Dianat O, Saedi S, Kazem M, Alam M. Actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio de nanopartículas contra *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. Iran Endod J [Internet]. 2015 [citado 2019 Nov 05]; 10(1): 39-43. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25598808>.
16. Peñaloza de la Torre U, Condori Condori G. Efecto antibacteriano del paramonoclorofenol alcanforado vs la asociación de hidróxido de calcioparamonoclorofenol alcanforado, sobre el cultivo in vitro de *Enterococcus faecalis*. Rev Méd Basadrina [Internet]. 2016 [citado 2019 Nov 07]; 10(1): 16-19. Disponible en: <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rmb/article/view/590>.
17. Mozayeni MA, Haeri A, Dianat O, Jafari AR. Efectos antimicrobianos de cuatro medicamentos intracanales en *Enterococcus faecalis*: un estudio in vitro. Irán Endod J. [Internet]. 2014 [citado 2019 Nov 05]; 9(3): 195-198. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4099951/>.
18. Muñoz Cruzatty J, Arteaga Espinoza S, Alvarado Solórzano A. Observaciones acerca del uso del Hidróxido de Calcio en la endodoncia. Rev Cient Dominio de la Ciencias [Internet]. 2017 [citado 2019 Nov 13]; 4(1): 352-361 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6313250>.
19. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American J of clinic pathol. 1966; 45(4): 493-496.
20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests (Approved Standard, M2-A5); 2003. Pittsburgh: NCCLS.
21. Terán Velástegui GE. Comparación de la efectividad antimicrobiana entre aceite esencial de canela y clorhexidina frente a *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro [Tesis de pregrado]. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2016.
22. Ortega Lilia M. Enterococos: actualización. Rev haban cienc méd [Internet]. 2010 [citado 2019 Nov 05]; 9(4): 507-515. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000400010.
23. Sander H. Enterococos resistentes a vancomicina: ¿Infección emergente inminente? Rev chil infectol [Internet]. 2002 [citado 2019 Nov 06]; 19(Suppl 1): 50-55. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002019100010&lng=es.
24. Palomino J, Pachón J. Aminoglucósidos [Aminoglycosides]. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]. 2003 [citado 2019 Nov 06]; 21(2): 105-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12586036/>.
25. Fiore E, Van Tyne D, Gilmore MS. Pathogenicity of Enterococci. Microbiol Spectr. [Internet]. 2019 [citado 2020 Sep 07]; 7(4): 10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31298205/>.
26. Gavalda J, Onrubia PL, Gómez MT, Gomis X, Ramírez JL, Len O, Rodríguez D, Crespo M, Ruíz I, Pahissa A. Efficacy of ampicillin combined with ceftriaxone and gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* with no high-level resistance to aminoglycosides. J Antimicrob Chemother. [Internet]. 2003 [citado 2020 Sep 07]; 52(3): 514-517. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12917251/>.
27. Causse M, De Luna F, García-Mayorgas A, Rodríguez F, Casal M. Sensibilidad a los antimicrobianos de *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes en la provincia de Córdoba (España). Rev Esp Quimioterap. 2006; 19(2): 140-143.