








ARTÍCULO ORIGINAL

# Potencial patogénico y perfil de resistencia antibacteriana en aislamientos de microorganismos anaerobios facultativos en lesiones pulpares y periapicales

## *Pathogenic potential and antimicrobial resistance patterns detected in facultative anaerobic microorganism in pulp and periapical lesion*

A. Sánchez-Elvir <sup>1</sup>, G. Aguilera-Andino <sup>2</sup>, F. Mendoza-Osorto <sup>2</sup>, C. Paz-Gallardo <sup>2</sup>, J. Ortiz-Quintero <sup>3</sup>, L. Pineda-García <sup>4</sup>, y N. Alvarez-Corrales <sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Microbiología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de Honduras - Ciudad Universitaria. Tegucigalpa 11101, Honduras

Correo electrónico: [acsancheze@unah.hn](mailto:acsancheze@unah.hn) (A.S.E.)

<sup>2</sup>Facultad de Odontología. Universidad Nacional Autónoma de Honduras - Ciudad Universitaria. Tegucigalpa 11101, Honduras

Correo electrónico: [guillermo.aguilera@unah.hn](mailto:guillermo.aguilera@unah.hn) (G.A.A.); [famendoza@unah.hn](mailto:famendoza@unah.hn) (F.M.O.); [claudinne.paz@unah.edu.hn](mailto:claudinne.paz@unah.edu.hn) (C.P.G.)

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones en Microbiología (IIM). Grupo de Investigación en Bioanálisis e Inmunología (GIBI). Facultad de Ciencias, Escuela de Microbiología. Universidad Nacional Autónoma de Honduras - Ciudad Universitaria. Tegucigalpa 11101, Honduras

Correo electrónico: [jafet.ortiz@unah.edu.hn](mailto:jafet.ortiz@unah.edu.hn) (J.O.Q.)

<sup>4</sup>Grupo de Investigación en Microbiología, One Health, Escuela de Microbiología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de Honduras - Ciudad Universitaria. Tegucigalpa 11101, Honduras.

Correo electrónico: [lelany.pineda@unah.edu.hn](mailto:lelany.pineda@unah.edu.hn) (L.P.G.); [nancy.alvarez@unah.edu.hn](mailto:nancy.alvarez@unah.edu.hn) (N.A.C.)

\*Autor de correspondencia

Recibido: 18 de septiembre de 2025; Revisado: 21 de septiembre de 2025; Aceptado: 30 de octubre de 2025; Publicado: 20 de junio de 2026

### Resumen

La cavidad oral alberga una gran comunidad microbiana cuya interacción juega un papel crucial en el equilibrio ecológico; el establecimiento y persistencia de microorganismos puede causar diversas patologías y progresar a un fracaso de tratamiento odontológico. El aislamiento y documentación microbiológica mediante cultivo de muestras odontológicas no se realiza de forma rutinaria en nuestro país, sin embargo, la vigilancia de microorganismos relacionados en estos nichos ecológicos, patrones de resistencia y asociación como patógenos son clínicamente significativos. **Objetivos:** Caracterizar microbiota anaerobia facultativa en muestras biológicas

de afecciones pulpares y periapicales mediante técnicas convencionales y moleculares, así como su perfil de resistencia antibiótica relacionando su asociación con patologías orales inflamatorias e infecciosas. **Metodología:** Se analizaron muestras biológicas de afecciones pulpares y periapicales de pacientes atendidos en la sala de emergencia en una clínica odontológica universitaria del Distrito Central durante los meses de enero-marzo 2025. Se aisló e identificó microbiota anaerobia facultativa mediante métodos convencionales como microscopía de campo oscuro, identificación bacteriológica y bioquímica, resistencia antibiótica mediante disco difusión y concentración mínima inhibitoria (CMI), así como la determinación molecular del gen *mecA* implicado en resistencia antibiótica. **Resultados y discusión:** Se recolectó un total de 35 muestras biológicas de lesiones apicales y periapicales en pacientes con diagnóstico de pulpitis irreversible, necrosis pulpar, fracasos de tratamiento de conducto radicular previo y/o terapia previamente iniciada. La cavidad pulpar mostró una microbiota diversa y de importancia crítica como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, Bacilos Gram negativos, *Candida albicans* y Espiroquetas. Se destaca la presencia de cepas SARM portador del gen *mecA*, lo que le confiere resistencia a la mayoría de antibióticos betalactámicos. Este hallazgo evidencia que la pulpa dental puede actuar como reservorio y fuente de diseminación de resistencia antimicrobiana, con riesgo tanto local como sistémico, especialmente en pacientes vulnerables. La detección y manejo oportuno son esenciales para prevenir su propagación en la comunidad y el ámbito hospitalario.

**Palabras clave:** odontopatógenos, microbiología endodóntica, resistencia antimicrobiana

#### Abstract

The oral cavity hosts a large microbial community whose interaction plays a crucial role in ecological balance. The establishment and persistence of microorganisms can cause various pathologies and progress to treatment failure. Microbiological isolation and documentation through culture of dental samples is not routinely performed in our country; however, the surveillance of related microorganisms in these ecological niches, resistance patterns, and association as pathogens are clinically significant. **Objectives:** To characterize facultative anaerobic microbiota in biological samples of pulp and periapical conditions using conventional and molecular techniques, as well as their antibiotic resistance profile, relating their association with inflammatory and infectious oral pathologies. **Methodology:** Biological samples of pulp and periapical conditions were analyzed in patients treated in the emergency of an university dental clinic in the Central District during the months of January-March 2025. Facultative anaerobic microbiota was isolated and identified using conventional methods such as dark field microscopy, bacteriological and biochemical identification, antibiotic resistance through disk diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) as well as the molecular determination of the *mecA* gene involved in antibiotic resistance. **Results and discussion:** A total of 35 biological samples of apical and periapical lesions were collected in patients diagnosed with irreversible pulpitis, pulp necrosis, previous root canal treatment failures, and previously initiated therapy. The pulp cavity showed a diverse and critically important microbiota such as *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, Gram-negative bacillus, *Candida albicans* and Spirochetes. The presence of MRSA carrying the *mecA* gene, which confers resistance to most betalactam antibiotics, is notable. This finding demonstrates that the dental pulp can act as a reservoir and source of antimicrobial resistance, posing both local and systemic risk, especially in vulnerable patients. Early detection and management are essential to prevent its spread in the community and hospital settings.

**Keywords:** odontopathogens, dental microbiology, antimicrobial resistance

## 1. Introducción

La cavidad oral es un extenso y dinámico ecosistema donde coexisten de forma simbiótica diversos microorganismos. No obstante, procesos patológicos orales como caries, fracturas, periodontitis, conductos radiculares accesorios, restauraciones dentales mal adaptadas, mal ajuste marginal y anacoresis promueven vías de acceso a una serie de microorganismos alterando el equilibrio y convirtiendo microorganismos comensales en patógenos oportunistas [1]. Dicho establecimiento de patógenos afecta el complejo dentino-pulpar y genera enfermedad periradicular desarrollando en el huésped una respuesta inflamatoria y/o infecciosa, la cual se ve influenciada por la localización y profundidad de la lesión, así como condiciones locales y adyacentes que inciden en el crecimiento bacteriano tales como el pH, el potencial de óxido-reducción y la disponibilidad de nutrientes [2]. Dichas condiciones incurren en la severidad de la infección, complicaciones periapicales, abscesos y necrosis pulpar.

Particularmente la pulpa dental es un tejido conjuntivo blando ubicado en el interior del diente que cumple funciones sensitivas, formativas, nutritivas e inmunológicas. En el área de endodoncia, la pulpa en su estado vital o patológico es el objeto central de estudio, por lo tanto, comprender la biología y patología pulpar es necesario para la práctica endodóntica efectiva y basada en evidencia [3]. Las infecciones de origen endodóntico son polimicrobianas, involucrando una combinación de bacterias anaerobias facultativas Gram positivas, Gram negativas y anaerobias estrictas con diferentes factores de virulencia [4]. Las especies predominantes generalmente pertenecen al género *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Treponema*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* y *Campylobacter* [5]. Las bacterias más frecuentes encontradas en tratamientos de conductos realizados por primera vez y en aquellos con recidiva de infección, se limitan a un número muy reducido de microorganismos, en donde predominan las bacterias Gram positivas anaerobias facultativas, principalmente *Enterococcus faecalis*, el cual se observa con mayor frecuencia en dientes que han presentado fracaso del procedimiento endodóntico. Este microorganismo se organiza en biopelículas, con capacidad de penetrar a la estructura interna del diente y periodonto, provocando infecciones primarias, secundarias y persistentes [6]. Asimismo, algunos de estos patógenos pueden ser portadores de genes de resistencia como en el caso de *Enterococcus spp.* resistente a vancomicina o *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, clasificadas por la Organización Mundial de la Salud como bacterias de preocupación creciente porque limitan las opciones de tratamiento y conducen a infecciones más graves y prolongadas [7].

La microbiología endodóntica permite el estudio de microorganismos que colonizan la pulpa dental, los conductos radiculares y estructuras periapicales, así como su papel en los procesos infecciosos y en la respuesta del huésped; este conocimiento es fundamental en la práctica odontológica para establecer el diagnóstico etiológico preciso y así orientar el tratamiento más dirigido, conocer el patrón de sensibilidad y resistencia antibiótica de los microorganismos involucrados, establecer protocolos de desinfección intra conducto más eficaces y así prevenir complicaciones sistémicas.

Es notorio que los métodos para detectar microorganismos en los conductos radiculares han sido diversos y a la vez limitados; se han empleado estudios microscópicos mediante preparaciones directas observadas en campo oscuro con limitaciones importantes para su identificación, así también métodos bacteriológicos utilizando tinciones para la observación de morfotipos bacterianos, medios de cultivo enriquecidos y selectivos en agar, atmósferas

especiales de anaerobiosis, enzimoimmunoensayos y de forma más sensible se han utilizado métodos basados en ADN mediante biología molecular y secuenciación genómica [8]. Dichos métodos moleculares basados en la extracción de ácidos nucleicos de bacterias presentes en el conducto radicular, permite la amplificación de múltiples copias del fragmento de interés a través de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Esta estrategia ha posibilitado evaluar con mayor rigor la eficiencia antibacteriana de diversos protocolos de preparación biomecánica y medicación intraconducto, además de superar las limitaciones de los cultivos tradicionales al identificar patógenos no cultivables y caracterizar con mayor precisión la diversidad bacteriana asociada a las infecciones endodónticas con mayor precisión [9]. De este modo, el análisis de las comunidades microbianas se sustenta en el estudio del ADN bacteriano extraído tanto de muestras biológicas como de Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) aisladas seguido de la amplificación de genes de interés; a través de secuencias de nucleótidos específicos se generan marcadores moleculares que permiten identificar bacterias y caracterizar genes relacionados, resistencia antibacteriana, factores de virulencia y otros determinantes genómicos relevantes.

Por consiguiente, la integración de métodos diagnósticos convencionales y moleculares para caracterizar la composición microbiana en infecciones endodónticas proporciona resultados más confiables, prácticos y costo-efectivos. Esta aproximación, al complementarse con la evaluación clínica odontológica, fortalece el abordaje terapéutico del paciente y contribuye significativamente a la mejora y recuperación de su salud oral.

Este estudio destaca la relevancia de la microbiología endodóntica como herramienta para la toma de decisiones clínicas fundamentadas, fortaleciendo la calidad del control, monitoreo y tratamiento odontológico frente a la creciente amenaza de bacterias multirresistentes, mediante la integración de la ciencia básica con una atención centrada en el paciente.

## **2. Método**

### **2.1 *Diseño del estudio y recolección de muestras***

El presente estudio tuvo un diseño transversal con enfoque descriptivo. Se incluyeron pacientes mayores de 18 años de edad con afecciones del tejido radicular y/o periradicular, con alteraciones térmicas, y/o con presencia o ausencia de secreción supurativa, absceso o cualquier signo infeccioso. Dichos pacientes fueron atendidos en la Clínica de Emergencia de la Facultad de Odontología dependencia de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), durante los meses de enero-marzo del año 2025; se obtuvo consentimiento informado de todos los pacientes previo a la recolección de información y recolección de muestras odontológicas, este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación (CEI-MEIZ) de la Facultad de Ciencias de la UNAH (PI-14-2024). Se realizó una entrevista estructurada a los pacientes para obtener datos demográficos y clínicos relevantes, luego se procedió con la atención odontológica rutinaria y se obtuvieron muestras biológicas de la cámara pulpar y del conducto radicular de forma aséptica [10], con limas de endodoncia o curetas (puntas de papel) estériles e inoculadas en medio líquido enriquecido y de transporte de Tioglicolato.

## 2.2 Aislamiento, identificación bacteriana y análisis microbiológicos convencionales

Las muestras se transportaron hacia el Laboratorio de Investigación de Enfermedades Tropicales (LIET) de la Escuela de Microbiología de la UNAH para su posterior análisis. Inicialmente las muestras se cultivaron e incubaron por 48 horas a 37°C y ambiente de aerobiosis. Al cumplir ese tiempo, las muestras se subcultivaron en medios sólidos de Agar Sangre con Base de Cassman y Agar McConkey e incubadas por 24 horas a 37°C en aerobiosis. Simultáneamente, se utilizaron técnicas de diagnóstico microbiológico convencional y directo de la muestra como microscopía de campo oscuro y tinción de Gram para correlacionar los morfotipos obtenidos en los aislamientos. Asimismo, las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml) obtenidas del sistema dentino pulpar y/o intraconducto se procesaron bioquímicamente para la identificación de microorganismos como bacterias Gram positivas, Gram negativas, Levaduras y Espirilas. Además, a cada aislamiento bacteriano se le realizó Prueba de Sensibilidad Antibiótica (PSA) específica para cada microorganismo mediante el método de disco difusión utilizando medios Müller Hinton y técnica Kirby Bauer, basados en la normativa CLSI M100 en su edición 33 [11].

## 2.3 Análisis moleculares

Finalmente, se seleccionó el grupo bacteriano con mayor frecuencia de aislamientos para caracterizar molecularmente la portación del gen de resistencia *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) dado que este gen determina la resistencia a la gran mayoría de antibióticos betalactámicos, lo cual es relevante para la vigilancia epidemiológica de cepas SARM.

Para la extracción de ADN todos los aislados fueron cultivados en caldo Luria–Bertani durante 18–24 horas a 37°C. Posteriormente, el ADN se extrajo utilizando el kit de purificación de ADN genómico Wizard (Promega, Madison, WI, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, el ADN extraído se almacenó a -20°C hasta su utilización. La calidad del material genómico se evaluó determinando la concentración y pureza de las muestras de ADN mediante espectrofotometría UV midiendo las absorbancias A260/280 y A260/230 en equipo UV5 Nano (Mettler Toledo, Columbus, OH, USA).

La detección del gen de resistencia *mecA* se llevó a cabo mediante PCR de punto final utilizando los cebadores específicos *mecA*-F (5'-GCAATCGCTAAAGAACTAAG-3') y *mecA*-R (5'-GGGACCAACATAACCTAATA-3') generando un producto de 222 pb (Karahan, Murat et al 2007). Para la detección del gen control 16SrRNA se utilizaron los cebadores 16S-F (5'-AGGAGGTGATCCAACCGCA-3') y 16S-R (5'-AACTGGAAGAAGGTGAT-3') generando un producto de 370 pb (Sosa, Lilian, 2022) La reacción estaba compuesta por 12.5 µL de 2X PCR Master Mix (Promega, Madison, WI, USA), 8.5 µL de agua libre de nucleasas, 1 µL de cada uno de los cebadores y 2 µL de ADN de la muestra. El programa de amplificación para ambas PCR fue el siguiente: Una desnaturalización inicial de 94°C durante 5 min, seguida de 30 ciclos a 94°C durante 30 s, una temperatura de hibridación de 56°C durante 30 s y 72°C durante 30 s, finalmente, una extensión final de 72°C por 5 min. Los productos de amplificación se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% (p/v), teñidos de bromuro de etidio. Para determinar el tamaño de pares de base se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb. La corrida electroforética se realizó a 80

V durante 45–60 minutos y la visualización de las bandas en el gel se realizó mediante un transiluminador UV.

### 3. Resultados

#### 3.1 Hallazgos clínicos-endodónticos

Se recolectaron un total de 35 muestras clínicas de pacientes con infecciones endodónticas en este estudio. De los participantes, el 77 % (27/35) pertenecieron al género femenino y 23 % (8/35) al género masculino, y sus edades oscilaban entre los 18–53 años. De acuerdo con el diagnóstico clínico de los pacientes se clasificaron cuatro afecciones primarias: a) Pulpitis irreversible en 45 % (16/35), b) Necrosis pulpar en 37 % (13/35), c) Fracaso en el tratamiento de conducto radicular previo en 9 % (3/35) y d) Tratamiento de conducto previamente iniciada en 9 % (3/35). Los pacientes manifestaron en su totalidad antecedentes de caries dental (100 %), presencia de tracto fistuloso en 11 % (4/35) y un 3 % (1/35) admitió haber tomado tratamiento antibiótico previo a la consulta. Con respecto al tratamiento de los pacientes que presentaron pulpitis irreversible o necrosis pulpar (82 %), se realizó un tratamiento de conducto radicular junto con la restauración del diente. Asimismo, en los pacientes que presentaron fracaso en el tratamiento de conducto radicular previo (9 %), se realizó un retratamiento de conducto junto con la restauración del diente. Al transcurrir un mes de haber efectuado el tratamiento respectivo, los pacientes fueron citados o contactados telefónicamente para monitoreo y control de tratamiento en donde se constató que el 100 % de los pacientes no presentó ningún tipo de recidiva hasta ese momento.

#### 3.2 Examen directo de la muestra

Al realizar los análisis microbiológicos, documentamos la observación directa de las muestras a través de microscopía en campo oscuro, la cual demostró la presencia de estructuras bacterianas en forma de espiroquetas en el 20 % (7/35) de los pacientes. Las características no uniformes de estas estructuras bacterianas dispersaron la luz que interactuó con ellas luciendo más brillantes, mostrando su morfología, viabilidad y motilidad de microorganismos con diámetros superior a 0.2  $\mu\text{m}$  [12]. Esto indirectamente indica la presencia de géneros bacterianos como *Treponemas* y *Fusobacterias*, los cuales no son cultivables por métodos convencionales, pero ambos son importantes en procesos odontológicos, pues en algunas ocasiones actúan como parte de la microbiota oral, colonizadores o patógenos oportunistas.

#### 3.3 Aislamientos microbianos en las muestras

Los microorganismos estudiados se limitan a bacterias anaerobias facultativas las cuales tienen la capacidad de desarrollarse ante la presencia o ausencia de oxígeno, es así que se obtuvo aislamientos diversos distribuidos de la siguiente manera 12/35 (34.3 %) *Staphylococcus aureus*; 8/35 (22.9 %) *Enterococcus spp.*; 2/35 (5.7 %) Enterobacterales *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*; y Bacilos Gram Negativos No Fermentadores de Glucosa (BGNNFG): *Stenotrophomonas maltophilia* y *Pseudomonas aeruginosa*; 2/35 (5.7 %) un aislamiento levaduriforme de *Candida albicans* respectivamente 1/35 (2.8 %). Además, no hubo crecimiento bacteriano en el 27.7 % (10/35) de las muestras. En el total de muestras se identificaron bioquímicamente 25 microorganismos, de los cuales es notable la pureza del crecimiento en la mayoría de

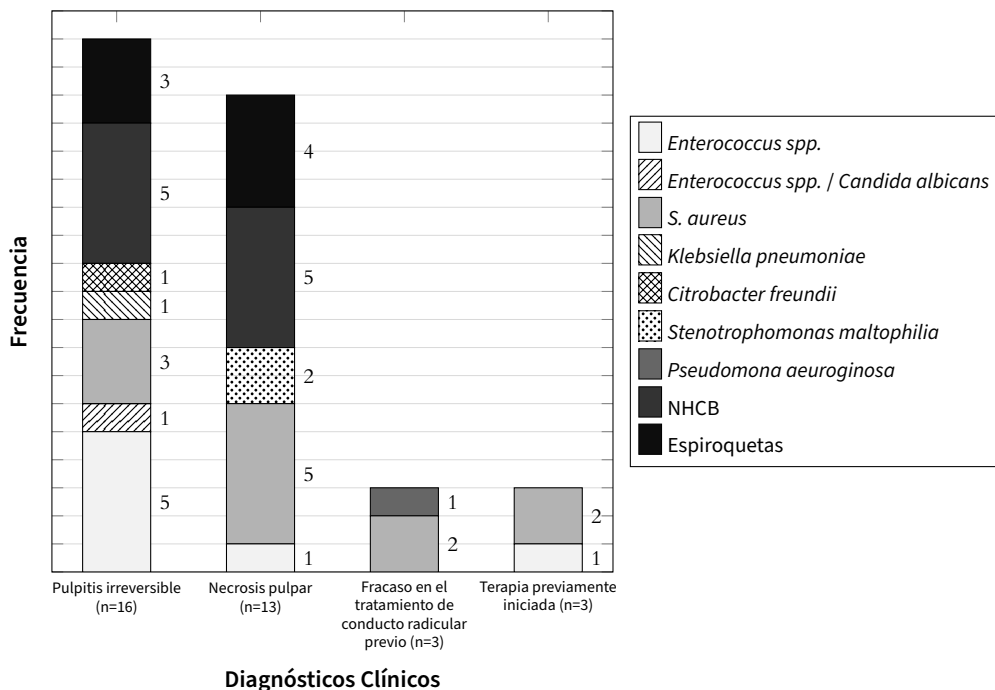


Figura 1. Distribución de microorganismos según diagnóstico clínico.

los aislamientos bacterianos (24/25) y solamente una muestra obtuvo crecimiento mixto o polimicrobiano (1/25).

### 3.4 Distribución de microorganismos de acuerdo con el diagnóstico clínico

La Figura 1 muestra la gran variabilidad de bacterias involucradas en relación con la patología establecida en el huésped, se destaca la persistencia de *Staphylococcus aureus* en cada grupo.

El grupo de pacientes que presentaban *Pulpitis* irreversible (n=16) es el grupo que muestra mayor frecuencia y diversidad de microorganismos, liderado por la presencia de *Enterococcus* spp (n=6), seguidamente de *Staphylococcus aureus* (n=3), dos miembros de la familia de *Enterobacteriaceae* (n=2), 3 observaciones de Espiroquetas (n=3) y un crecimiento levaduriforme (n=1). Un 37 % de los pacientes fueron diagnosticados con Necrosis pulpar (n=13) y mostraron aislamientos de *Staphylococcus aureus* (n=5), observación de Espiroquetas (n=4) *Stenotrophomonas maltophilia* (n=2) y *Enterococcus* spp (n=1). Asimismo, se identificó una menor frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus* (n=2) y Bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa (BGNNFG) (n=1) en pacientes con fracaso en el tratamiento de conducto radicular previo, sin embargo, son muy significativas por su alta virulencia. Los pacientes que ya tenían tratamiento de conducto radicular previamente iniciado mostraron un patrón similar con aislamientos de *Staphylococcus aureus* (n=2) y *Enterococcus* spp (n=1).

### 3.5 Resistencia Antimicrobiana de los aislamientos bacterianos

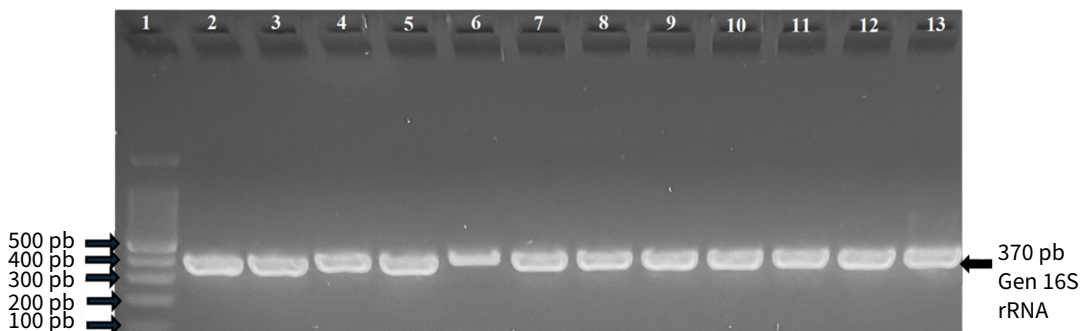
La multidrogoresistencia mostrada por los aislamientos bacterianos fue ampliada y los resultados pueden apreciarse en la Tabla 1.

En cuanto a *Staphylococcus aureus* (n=12), es notable la resistencia a meticilina y su significancia en el fracaso terapéutico de todos los antibióticos betalactámicos (23 %). Asimismo se demostró la resistencia a eritromicina (67 %), trimetoprim/sulfa (42 %), tetraciclina (33 %), clindamicina (25 %). Por otra parte, el grupo antibiótico de fluoroquinolonas mostró la mayor sensibilidad dentro del panel. La interpretación de patrones fenotípicos en el antibiograma demostró la resistencia hacia la familia MLSB (macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B) manifiestas específicamente por bombas e-flujo en las bacterias aisladas. En el grupo bacteriano de *Enterococcus spp.* (n=8) se observó un alto porcentaje de resistencia entre los aislamientos, mostrando resistencia en un 100 % ante la tetraciclina, 74 % de resistencia a eritromicina y 63 % hacia ciprofloxacina, penicilina, vancomicina y teicoplanina, antibióticos específicos para esta bacteria. En el grupo de Enterobacterias se probaron discos propios para bacterias Gram negativas y posiciones estratégicas entre los discos para la lectura interpretada de patrones de resistencia. Aunque se encontró un bajo número de aislamientos (n=2), es significativa la presencia de enzimas betalactamasas de tipo AmpC inducible en *Klebsiella pneumoniae* y una posible carbapenemasa que requiere confirmación por métodos más específicos en *Citrobacter freundii*. Lo anterior refleja la resistencia a los antibióticos representantes de la familia de betalactámicos usados tales como ceftazidima, cefotaxima, ceftioxitin, Amoxicilina más ácido clavulánico e imipenem. Sin embargo, las bacterias fueron sensibles a otras familias de aminoglucósidos como la gentamicina y quinolonas como la norfloxacina. Finalmente, el patrón de susceptibilidad de los Bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa aislados (n=2) fue determinada por Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por un sistema automatizado, resultando para *Stenotrophomonas maltophilia* sensible a Trimetoprim/sulfametoxazol y minociclina. Así también *Pseudomonas aeruginosa* mostró completa sensibilidad para cefepima, ceftazidima, imipenem, meropenem, piperacilina-tazobactam y ciprofloxacina.

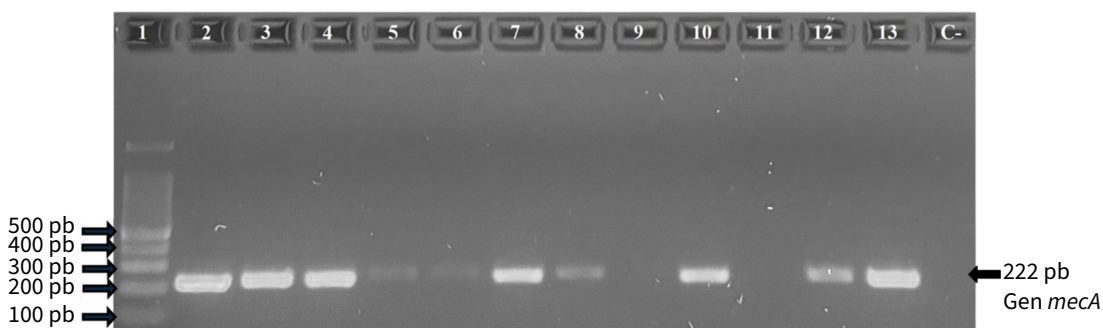
### 3.6 Caracterización molecular del gen mecA

La alta frecuencia de *Staphylococcus aureus* aunado a la determinación fenotípica de resistencia a meticilina dirigió la búsqueda del cassette cromosómico estafilocócico mec (SCCMec) entre los aislamientos. Este cassette es un elemento genético móvil que contiene el gen mecA, el cual confiere resistencia a la meticilina y codifica la proteína PBP2a que tiene baja afinidad por los antibióticos betalactámicos, haciendo que la bacteria sea resistente a estos fármacos. En el presente estudio, la identificación del gen mecA es el marcador que nos permitió el diagnóstico de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) a nivel molecular. La Figura 2 muestra la identificación y amplificación del gen 16S rRNA de los 12 aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de las muestras de la cavidad pulpar e intraconducto de los pacientes. Todos los aislamientos confirmaron la presencia del gen 16S rRNA mostrando una banda de 370 pb lo que sugiere la presencia de ADN bacteriano de *Staphylococcus aureus*.

La Figura 3 confirma la amplificación del gen mecA entre los aislamientos de Staphylo-



**Figura 2.** Caracterización molecular del gen 16S rRNA en aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de las muestras de la cavidad pulpar e intraconducto. **1** Marcador de peso molecular; **2-13** muestras de *S. aureus* positivas para el gen 16S rRNA.



**Figura 3.** Caracterización molecular del gen *mecA* en aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de las muestras de la cavidad pulpar y radicular. **1** Marcador de peso molecular; **2-13** muestras de *S. aureus* positivas para el gen *mecA*; **C**-Control negativo.

*Staphylococcus aureus*, evidenciando la presencia de una banda con peso molecular de 222 pb en el 83 % (10/12) de los aislamientos, se puede apreciar que tres de los aislamientos (5,6,8) presentan una baja expresión molecular, lo que podría diferir en la expresión *in vivo* e *in vitro* de la resistencia antibiótica.

#### 4. Discusión

La comprensión del papel de la cavidad oral como reservorio de colonización bacteriana y resistencia a los antibióticos se ha convertido en una prioridad de salud pública [13]. Este entorno alberga un ecosistema microbiano altamente complejo y dinámico, compuesto por cientos de especies que interactúan entre sí y con el hospedero. En particular, las estructuras anatómicas como la cavidad pulpar y los conductos radiculares ofrecen condiciones propicias para el establecimiento de comunidades microbianas resistentes, donde la baja accesibilidad, el microambiente anaerobio y la presencia de nutrientes provenientes de tejidos necróticos favorecen su persistencia [10]. Estas estructuras anatómicas pueden actuar como reservorios

ocultos de patógenos oportunistas, capaces de diseminarse local o sistémicamente, así como transferir genes de resistencia a otras bacterias de la microbiota oral [3, 14]. Por tal motivo, reconocer la magnitud de este fenómeno y su implicación en la terapéutica antimicrobiana es fundamental para diseñar estrategias más eficaces de prevención, diagnóstico y tratamiento del paciente, con el objetivo de mitigar su impacto en la salud individual y colectiva.

En este estudio, la caracterización microbiológica de la cavidad pulpar reveló la presencia de un espectro microbiano diverso que incluye *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa, *Candida albicans* y, de forma indirecta algunas espiroquetas que podrían referir a fusobacterias o treponemas. La detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en la cavidad pulpar constituye un hallazgo de alta relevancia clínica y epidemiológica. Este fenotipo de resistencia está mediado principalmente por la presencia del gen *mecA*, el cual codifica una proteína de unión a penicilinas alteradas (PBP2a) con baja afinidad por antibióticos betalactámicos, confiriendo resistencia a la mayoría de estos compuestos. La cavidad oral, al albergar SARM en un nicho cerrado como la pulpa dental, representa un riesgo latente de diseminación de este determinante genético hacia otras bacterias comensales o patógenas mediante transferencia horizontal. Por consiguiente, este fenómeno no solo dificulta el manejo local de las infecciones endodónticas, sino que también implica un potencial peligro de diseminación sistémica, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con lesiones periodontales que faciliten la bacteriemia. La evidencia sugiere que los focos orales crónicos pueden actuar como reservorios silenciosos de resistencia [15] subrayando la importancia de su detección temprana y tratamiento oportuno para prevenir la expansión de MRSA y del gen *mecA* en la comunidad y el entorno hospitalario.

La presencia de Enterobacterias, incluyendo *Klebsiella pneumoniae* y *Citrobacter freundii* en un nicho anatómico como la cavidad pulpar sugiere una posible contaminación cruzada o una colonización secundaria desde otros reservorios orales o sistémicos. Estas especies bacterianas, en especial aquellas productoras de betalactamasas representan un desafío terapéutico y un riesgo de transmisión horizontal de genes de resistencia. Los bacilos Gram negativos no fermentadores de glucosa, como *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia.*, si bien menos frecuentes, poseen un alto potencial de multiresistencia debido a mecanismos combinados de impermeabilidad de membrana, bombas de e-flujo y enzimas inactivantes. Además, el hallazgo de *Candida albicans* añade una dimensión adicional, ya que su coexistencia con bacterias en biofilms mixtos incrementa la tolerancia a antimicrobianos y antifúngicos, y puede favorecer la persistencia de la infección. De forma indirecta, la detección de posibles fusobacterias o treponemas, asociadas a infecciones endodónticas polimicrobianas, subraya la relevancia de microorganismos anaerobios estrictos en el proceso patogénico y en la formación de biopelículas resistentes.

En conjunto, los hallazgos en el presente estudio confirman que la cavidad pulpar puede actuar como un reservorio clínicamente relevante de microorganismos con multidrogoresistencia y portadores de genes de resistencia de alto interés epidemiológico. Este perfil no solo complica el manejo odontológico, sino que también representa un potencial riesgo de diseminación hacia otros nichos anatómicos y hacia la comunidad. Por lo tanto es necesario reforzar la vigilancia microbiológica y establecer un enfoque integrado entre odontología y medicina para la contención de la resistencia antimicrobiana.

En el contexto regional, observamos estudios similares en países como Brasil [16] y Colombia [17] donde grupos de investigadores han analizado diversos aislamientos de infecciones endodónticas primarias con una variedad de microorganismos cultivables que incluyen entre otros *Enterococcus spp.*, especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus epidermidis* y algunas Enterobacterias; así también *Fusobacterium spp.*, *Porphyromonas gingivalis* y levaduras. Asimismo, México [18] muestra un estudio donde el predominio de aislamientos bacterianos en todos los conductos radiculares fueron microorganismos anaerobios estrictos y facultativos con un alto porcentaje de naturaleza polimicrobiana. Chile muestra un estudio [19] sobre la recurrencia de pacientes y persistencia de infecciones en pulpas dentales sin embargo no pudo establecerse una fuerte asociación entre los aislamientos y fracasos endodónticos. También se aprecia como en España [20] un grupo de investigadores implementan técnicas génicas lo cual les permitió identificar una gama más amplia de microorganismos y mayor asociación estadística con respecto a los signos y síntomas de la periodontitis apical.

En el ámbito nacional, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, este constituye el primer reporte de país en donde se articula el análisis microbiológico con la detección de genes de resistencia antimicrobiana de relevancia crítica en la microbiota bucal, por tanto los resultados de este estudio resaltan la urgencia de implementar medidas preventivas y terapéuticas integrales que aborden la cavidad pulpar como un potencial reservorio de microorganismos multirresistentes. La optimización de los protocolos de asepsia en procedimientos endodónticos, junto con la selección racional de antibióticos guiada por pruebas de sensibilidad, resulta esencial para reducir la presión selectiva y la propagación de cepas resistentes. Asimismo, la integración de la odontología en los programas de vigilancia epidemiológica de resistencia antimicrobiana permitiría una detección temprana de patógenos de alto riesgo y sus determinantes genéticos. Finalmente, estos hallazgos subrayan la necesidad de fortalecer la investigación interdisciplinaria entre Odontólogos, Microbiólogos y Especialistas en Enfermedades infecciosas, a fin de desarrollar estrategias diagnósticas y terapéuticas más eficaces que mitiguen el impacto de la resistencia en la salud pública y mejoren el pronóstico de los pacientes.

## Agradecimientos

Agradecemos a cada paciente que participó voluntariamente en este estudio, representan un valioso aporte en el área de conocimiento de la microbiología endodóntica y mejora en la atención en salud bucal. Asimismo, nuestro reconocimiento para la Dra. Evelyn Castellanos y su apoyo en los ensayos de CMI fundamental para completar el presente análisis.

**Contribución de autoría:** *Conceptualización:* N.A.C., G.A.A. *Recolección de muestras y Curación de datos:* G.A.A., F.M.O., A.S.E. *Investigación, Análisis formal, Metodología, Ensayos de laboratorio:* A.S.E., J.O.Q., N.A.C. *Administración del proyecto:* N.A.C., L.P.G. *Supervisión:* N.A.C., L.P.G., J.O.Q., C.P.G. *Redacción – borrador original:* N.A.C., A.S.E. *Redacción – revisión y edición, Validación:* A.S.E., G.A.A., F.M.O., C.P.G., J.O.Q., L.P.G., N.A.C.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran que no hay interés financiero, personal o creencia que pueda afectar su objetividad.

**Disponibilidad de datos y materiales:** Todos los datos relevantes se encuentran incluidos en el artículo y sus archivos suplementarios.

**Declaración del Comité de Ética Institucional:** Constancia de Resolución. Protocolo de Investigación No PI 04–2026. Comité de Ética de Investigación. Maestría en Enfermedades Infecciosas y Zoonóticas.

**Declaración de consentimiento informado:** Se obtuvo consentimiento informado de los participantes.

**Financiamiento:** Este estudio no recibió financiamiento externo, becas o subvenciones. Su ejecución fue posible mediante fondos propios de los investigadores y donaciones de insumos de laboratorio proporcionados por recursos institucionales disponibles en el Laboratorio de Investigación de Enfermedades Tropicales (LIET) y el Departamento de Microbiología de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

## Referencias

- [1] Dudeja P, Dudeja K, Srivastava D y Grover S. Microorganisms in periradicular tissues: Do they exist? A perennial controversy. En: *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* **19**(3) (2015), 356. doi: 10.4103/0973-029X.174612.
- [2] Vázquez de León AG, Mora Pérez CD, Palenque Guillemí AI, Sexto Delgado N y Cueto Hernández M. Actualización sobre afecciones pulpares. En: *MediSur* **6**(3) (2008), 112-137. <https://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/viewArticle/549>.
- [3] Pérez Alfayate R, Díaz Flores García V, Valencia de Pablo O, Estévez Luaña R, Cisneros Cabello R y Algar Pinilla J. Actualización en microbiología endodóntica. En: *Científica Dental: Revista Científica de Formación Continuada* **10**(1) (2013), 27-39. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4242586>.
- [4] González MJ. Prescripción de antibióticos en endodoncia por odontólogos generales. 2020. <https://idus.us.es/server/api/core/bitstreams/fc659211-1993-4313-abb3-023ec339df7/content>.
- [5] Uchuari MET. Terapia endodóntica no instrumentada en dentición primaria. 2024. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/14014/1/Maza%20Uchuari%2c%20T.%20%282024%29%20Terapia%20endod%2c%20%20no%20instrumentada%20en%20dentici%2c%20%20primaria.pdf>.
- [6] Ortiz S e Yáñez A. Enterococcus faecalis asociado a patologías endodónticas primarias, secundarias y persistentes: una revisión de literatura. 2021. <https://repositorio.unphu.edu.do/handle/123456789/3874>.
- [7] Guillén PLV. *Bacterias de interés odontológico*. Murcia: Ediciones de la Universidad de Murcia (Editum), 2015.
- [8] Perea EJ. Oral flora in the age of molecular biology. En: *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal* **9**(Suppl) (2004), 6-10. <https://europepmc.org/article/MED/15580127>.
- [9] Medina MS, Bravo PO, León KC y Tacuri CA. Molecular diagnostic methods in dental practice. En: *Revista ADM* **79**(5) (2022), 276-283. doi: 10.35366/107964.
- [10] Muñoz Rivas R. Notas para el estudio de endodoncia. Microbiología en Endodoncia. Técnica de cultivo en endodoncia. 2022. <https://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas13Microbiologia/anacultecnica.html>.
- [11] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd Edition, M100. 2024. <https://iaclid.com/UpFiles/Documents/672a1c7c-d4ad-404e-b10e-97c19e21cdce.pdf>.
- [12] Gardiner RA, Barrio Md, Azzarri MJ, Durso GS, Ciccone F, Toloy HL y Iasi RR. Campo oscuro como herramienta de diagnóstico en enfermedad periodontal. En: *Memorias científicas de la FOLP* **2**(N/A) (2009), 1-2. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/88791>.
- [13] Campos J, Pires MF, Sousa M, Campos C, Costa CFFA da y Sampaio-Maia B. Unveiling the Relevance of the Oral Cavity as a Staphylococcus aureus Colonization Site and Potential Source of Antimicrobial Resistance. En: *Pathogens* **12**(6) (2023), 765. doi: 10.3390/PATHOGENS12060765.
- [14] Rodríguez MJ. Resistencia antibiótica y cavidad oral. En: *Odontología Vital* (37) (2022), 3-7. [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1659-07752022000200003](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-07752022000200003).
- [15] Santaella Palma LE, Bazurto Quinteros MJ y Ramírez Sánchez KM. Impacto de la resistencia bacteriana en la elección de antibióticos en odontología: una revisión de las tendencias actuales. En: *Más Vida. Revista de Ciencias de la Salud* **6**(1) (2024), 55-72. doi: 10.47606/acven/mv0227.
- [16] Mariano LS, Nakamura-Silva R, Macedo LMD de, Oliveira-Silva M de, Silva Goulart R da, Pelisson M, Vespero EC, Silva-Sousa YTC y Pittondo-Silva A. Identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated from primary endodontic infections. En: *Brazilian Oral Research* **38** (2024), 1-10. doi: 10.1590/1807-3107bor-2024.vol38.0024.

- [17] Rodríguez P y Calero JA. Microbiología pulpar de dientes íntegros con lesiones apicales de origen idiopático. En: *Colombia Médica* 39.(1) (2008), 5-10. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95342008000500002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342008000500002).
- [18] Ledezma Rasillo G, Flores Reyes H, Gonzalez Amaro AM, Garrocho Rangel A, Ruiz Rodríguez MdS y Pozos Guillen AJ. Identification of Cultivable Microorganisms from Primary Teeth with Necrotic Pulp. En: *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 34.(4) (2010), 329-334. doi: 10.17796/jcpd.34.4.20124lu111544377.
- [19] Gutiérrez Cortés P. Estudio de la presencia de enterobacterias y enterococos en pulpas dentales infectadas extraídas previo al procedimiento endodóntico y evaluación de su relación con el fracaso del tratamiento. 2014. <https://repositorio.unab.cl/server/api/core/bitstreams/a19dae1b-081f-4fe4-a97c-cd6c6a579ed7/content>.
- [20] López Arias LF, Varela Patiño P, Seoane Prado R, Martín Biedma B, González Bahillo JD y Rodríguez Peña K. Identificación de microorganismos por reacción en cadena de la polimerasa en necrosis pulpar y periodontitis apical. En: *Revista Cubana de Estomatología* 54.(3) (2017), 1-12.

**Tabla 1.** Resistencia Antimicrobiana de los aislamientos bacterianos

Grupo bacteriano		Susceptibilidad ante agentes quimioterapéuticos					
<b><i>Staphylococcus aureus</i> n=12</b>	Oxacilina	Eritromicina	Clindamicina	Ciprofloxacina	Trimetro/sulfa	Tetraciclina	
	R=3 (25 %)	R=8 (67 %)	R=3 (25 %)	R=0	R=5 (42 %)	R=4 (33 %)	
	S=9 (75 %)	S=4 (33 %)	S=8 (67 %)	S=11 (92 %)	S=6 (50 %)	S=6 (50 %)	
	I=0	I=0	I=1 (8 %)	I=1 (8 %)	I=1 (8 %)	I=2 (17 %)	
	Ciprofloxacín	Penicilina	Tetraciclina	Vancomicina	Teicoplanina	Eritromicina	
<b><i>Enterococcus spp</i> n=8</b>	Oxacilina	Eritromicina	Clindamicina	Ciprofloxacina	Trimetro/sulfa	Tetraciclina	
	R=5 (63 %)	R=5 (63 %)	R=8 (100 %)	R=5 (63 %)	R=5 (63 %)	R=6 (74 %)	
	S=3 (37 %)	S=3 (37 %)	S=3 (37 %)	S=3 (37 %)	S=3 (37 %)	S=1 (13 %)	
	I=0	I=0	I=0	I=0	I=0	I=1 (13 %)	
<b><i>Enterobacterias</i> n=2</b> <i>K. pneumoniae</i> <i>C. freundii</i>	Imipenem	Gentamicina	Cefotaxime	Amoxi/ clavulan	Ceftazidime	Cefoxitin	Norfloxacina
	R=1 (50 %)	R=0	R=2 (100 %)	R=1 (50 %)	R=1 (50 %)	R=1 (50 %)	R=0
	S=1 (50 %)	S=2 (100 %)	S=1 (50 %)	S=1 (50 %)	S=1 (50 %)	S=1 (50 %)	S=2 (100 %)
	I=0	I=0	I=0	I=0	I=0	I=0	I=0
<b>BGNNFG n=2</b> <i>P. aeruginosa</i>	Imipenem	Meropenem	Cefepima	Ceftazidima	Piper/ttazob	Ciprofloxacino	
	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)	
<i>S. maltophilia</i>	Trimet/sulfa	Minociclina					
	S=1 (100 %)	S=1 (100 %)					