



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

COMPARACIÓN INVITRO DEL EFECTO ANTIBIÓTICO SOBRE
CEPAS DE ENTEROCOCCUS FEACALIS ENTRE LA PAPAÍNA
Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 2%

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

AGUILAR CASTELÁN IVÁN



DIRECTOR: Mtra. María Elena Tejeda Rosales

ASESOR: Mtro. Alfredo de León Valdez

CIUDAD DE MÉXICO, 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

“Si vas a intentarlo, ve hasta el final.
De otra forma ni siquiera comiences.

Si vas a intentarlo, ve hasta el final.
Esto puede significar perder novias,
 esposas,
 parientes,
 trabajos y,
 quizá tu cordura...”

Charles Bukoski

Primeramente, quiero agradecer a Dios, por haber derramado en mi la bendición del estudio, ya que sin él todos mis esfuerzos son en vano.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, ya que en esta gran institución pública encontré a excelentes profesores desde el Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Oriente hasta la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, comprometidos con mi formación académica, haciendo de mi un individuo crítico, analítico y comprometido con la sociedad mexicana para trabajar de manera que le pueda retribuir un poco de lo mucho que me ha dado.

A mis padres, por todo el amor que me han dado a lo largo de mi vida, siendo reflejado en la oportunidad que me brindaron de estudiar hasta concluir una licenciatura.

A mi directora de Tesis Mtra. María Elena Tejeda Rosales, que en todo momento tuvo la disposición de trabajar conmigo y llevar a cabo esta investigación, gracias por todo el apoyo, amabilidad y comprensión brindada.

A mi asesor de tesis Mtro. Alfredo de León Valdez, que a pesar de haberlo conocido hace poco tiempo, logro hacer que viera a la odontología de una forma diferente, sin él este proyecto jamás hubiera existido.

A la Mta. Patricia Vidal Millán Jefa del Laboratorio de Producción por brindarme el espacio para poder trabajar.

Al Dr. Juan Francisco Sánchez Ruiz, por destinar una parte de su tiempo en el apoyo a esta investigación.

DEDICATORIA

A mis padres, que son las personas por quienes tengo mi mayor admiración, respeto y gratitud pues a pesar de todas las circunstancias a las que nos hemos enfrentado como familia hemos logrado seguir adelante.

A mi padre, Francisco Aguilar Rojas, por haberme dado todo el apoyo a lo largo mi vida académica, teniendo que sacrificar tiempo en su trabajo para poder cubrir los gastos necesarios que implican el estudio de un hijo, que con sus regaños y consejos inició mi educación desde el hogar.

A mi madre, Josefina Castelán Calyecatl., pues con su tiempo destinado a la revisión de mis tareas, sus palabras de aliento en los momentos difíciles durante mis estudios, su preocupación porque siempre fuera una persona responsable, hicieron que mi aprovechamiento escolar se optimizara.

A mi hermana Karen Andrea Aguilar Castelán, pues siempre me ha apoyado hasta donde ha podido.

A mi mami Lupis y mami Juanis, que siempre me han llenado de amor y bendiciones, con palabras de aliento y brindándome algún consejo.

Donde quiera que te encuentres papi Toño, gracias por el ejemplo de rectitud y esfuerzo que dejaste en mí.

A una persona muy especial que en poco tiempo le ha dado un giro completo a mi vida, gracias por todo Samanta

A mis grandes amigos, Francisco, Margarita y Karina, gracias por las palabras de aliento que siempre han tenido para mí, pues han estado en momentos decisivos en mi vida, gracias por escucharme.

A mis tíos y primos, pues en todo momento me han brindado su apoyo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	2
PULPA Y COMPLEJO DENTINOPULPAR DEL DIENTE.....	2
PATOLOGÍA PULPAR y PERIAPICAL.....	5
PULPA NORMAL.....	6
PULPITIS REVERSIBLE.....	7
PULPITIS IRREVERSIBLE.....	7
PULPITIS IRREVERSIBLE ASINTOMÁTICA.....	8
PULPITIS HIPERPLASICA.....	8
REABSORCIÓN INTERNA.....	8
PULPITIS IRREVERSIBLE SINTOMÁTICA.....	9
NECROSIS PULPAR.....	9
PATOLOGÍA PERIODONTAL RELACIONADA CON EL TEJIDO PULPAR.....	10
PERIODONTITIS APICAL AGUDA.....	10
PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.....	11
ABSCESO FÉNIX.....	12
OSTEOSCLEROSIS PERIAPICAL.....	12
ETIOLOGÍA DE ORIGEN EN LA ENFERMEDAD PULPAR.....	12
VÍAS DE INVASIÓN MICROBIANA.....	13
TÚBULOS DENTINARIOS.....	13
COMUNICACIÓN DIRECTA DE LA PULPA CON EL AMBIENTE ORAL.....	15
VÍA PERIODONTAL.....	15
ANACORESIS.....	15
EXTENSIÓN O CONTIGUEDAD.....	16
BIOFILM EN LA INFECCIÓN PULPAR.....	16
MICROORGANISMOS EN LA INFECCIÓN PULPAR.....	17
INFECCIONES INTRARRADICULARES.....	18
<i>ENTEROCOCCOS</i>	21
<i>ENTEROCOCCOS FEACALIS</i>	23
ANTIBIOGRAMA, PRUEBA DE SENSIBILIDAD.....	25

MEDIO DE CULTIVO DEL GENERO <i>ENTEROCOCCOS</i>	27
MEDIO DE CULTIVO MUELLER HINTON.....	29
PAPAYA.....	30
PAPAÍNA.....	32
USOS INDUSTRIALES DE LA PAPAÍNA.....	34
PROPIEDADES MEDICINALES DE LA PAPAÍNA.....	35
EFFECTOS ADVERSOS DE LA PAPAÍNA.....	36
PAPAÍNA EN ODONTOLOGÍA.....	37
PAPACARIE®.....	37
IRRIGACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS.....	39
CLORHEXIDINA.....	41
CLORHEXIDINA EN ODONTOLOGÍA.....	42
CLORHEXIDINA COMO IRRIGANTE RADICULAR.....	43
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
HIPÓTESIS.....	47
OBJETIVO GENERAL.....	48
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
MATERIAL Y MÉTODOS.....	49
RESULTADOS.....	84
PROPUESTA.....	89
CONCLUSIONES.....	90
PERSPECTIVAS.....	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

INTRODUCCIÓN.

Se considera hablar del microorganismo *Enterococcus faecalis* como principal causante en el fracaso del tratamiento de conductos debido a su resistencia a los antimicrobianos¹⁰, por lo que se plantea analizar el efecto antimicrobiano de la papaína contra del *Enterococcus faecalis*, *in vitro*, comparando el resultado con la clorhexidina sobre dicho microorganismo.

Las infecciones endodónticas son polimicrobianas. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) suele oscilar entre 10^2 y 10^8 . Existe relación positiva entre el número de bacterias en un conducto radicular infectado y el tamaño de las radiotransparencias apicales⁷.

La papaína es una enzima tiolproteínasa, es decir, una enzima proteolítica cuyo centro activo posee un grupo -SH-. Se extrae del látex de la papaya³³.

Debido a sus características químicas esta enzima se ha empleado de manera exitosa en múltiples casos dentro de la medicina; por ejemplo, para agilizar las cicatrizaciones, también se ha demostrado que la *papaína* presenta acción antibacteriana pues inhibe el crecimiento de microorganismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y Gram negativos como *Escherichia coli*, *Porphyromona vulgaris*, *Salmonella* entre otros. De igual forma es efectiva inhibiendo hongos levaduriformes como *Cándida albicans*, entre otros.

Dadas las características descritas anteriormente de la papaína, se espera *in vitro* un efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*, lo cual impactaría sobremanera en la terapia de conductos, debido a que da pie a futuras investigaciones, con la finalidad de ampliar las alternativas de productos irrigantes para dichos tratamientos.

MARCO TEÓRICO.

Primeramente, se realizará una breve descripción del tejido pulpar de un órgano dentario, para comprender como es que se ve afectado durante las diversas patologías que lo pueden agredir.

PULPA Y COMPLEJO DENTINOPULPAR DEL DIENTE.

La pulpa dental es considerado un tejido conectivo laxo de baja distensibilidad, está constituido por diferentes tipos de células, ricamente vascularizado e innervado¹, se localiza en un ambiente único ya que se encuentra encerrada en una cámara rígida de dentina mineralizada² la cámara pulpar y los conductos radiculares cumpliendo múltiples funciones en beneficio de la pieza dentaria siendo la principal mantener la vitalidad de la misma¹.

En condiciones normales, el tejido pulpar está formada por tejido conectivo laxo, fibras colágenas, reticulares y elásticas, fibras nerviosas, abundantes vasos sanguíneos y sustancia intercelular ocupando la cavidad interior del diente de paredes rígidas e inextensibles. La distribución de las células y fibras varía con la edad, en los dientes más viejos la cámara pulpar está reducida³.

Éste tejido es abundantemente irrigado por un sistema circulatorio compuesto por arteriolas y venas. Como deben entrar necesariamente por el foramen apical o forámenes accesorios, cuyo diámetro disminuye con la edad del diente, están expuestos a ser estrangulados por congestión o estasis sanguíneo como consecuencia de los procesos inflamatorios³.

La innervación del tejido pulpar, está dada por dos tipos de fibras nerviosas, que están en íntima relación con la micro circulación pulpar, denominadas fibras A – D y fibras tipo C³.

Las células diferenciadas del tejido pulpar, son los odontoblastos y las células mesenquimatosas indiferenciadas. Las principales células del tejido conectivo pulpar son los fibroblastos, que dan origen a las fibras colágenas. Otras células

presentes son: células mesenquimatosas diferenciadas, histiocitos, macrófagos, linfocitos y eosinófilos³.

En el tejido pulpar se localizan las siguientes zonas histológicas partiendo desde la dentina: **1. Zona de odontoblastos:** que con las fibras de Van Korff constituyen la membrana *Eboris*. Formada principalmente por odontoblastos, algunos axones amielínicos terminales y capilares sanguíneos. **2. Zona basal de Weil:** área con pocos elementos celulares, aquí encontramos el plexo subodontoblástico de Raschkow, algunos fibroblastos y capilares sanguíneos. **3. Zona rica en células:** ubicada por debajo de la zona basal de Weil, rica en fibroblastos y células mesenquimáticas. Y por último, **4. Zona central:** tejido conectivo laxo, troncos nerviosos y vasculares³.

Anatómicamente está dividida en una pulpa coronaria y una radicular, se conecta con el tejido periapical a través de una amplia variedad de formas de agujeros periapicales en la raíz. El cemento no se mantiene equidistante del foramen en toda la circunferencia del conducto y el desarrollo radicular suele dar por resultado, un sistema de conductos el cual está formado por uno principal y conductos laterales, recurrentes y el delta apical. El foramen principal a menudo está a un lado de la raíz y no en el ápice, presentando un estrechamiento en esta zona, llamada constricción apical. El complejo biológico formado por cemento, periodonto y hueso alveolar conforman los elementos tisulares de la histofisiología apical y periapical. La necesidad de no dañar estas zonas durante las maniobras endodónticas es fundamental, dado que allí reside el potencial reparador anhelado. El cemento radicular y el hueso alveolar, producidos por el periodonto, desempeñan una función en la cicatrización y reparación, cuya importancia no podrá ser igualada por ningún otro material no biológico³.

Algunas de las funciones del tejido pulpar son que, tiene la capacidad de crear dentina fisiológicamente y en respuesta a un estímulo externo, contiene nervios que aportan la sensibilidad dentinaria. El tejido conectivo pulpar es capaz de responder a lesiones dentinarias, sin ser estimulado directamente³.

La pulpa dental, aunque posee muchas propiedades similares a las de otros tejidos conectivos del organismo, por su peculiar localización está dotada de importantes características especiales, a saber⁴:

- Una irrigación muy rica que, gracias al intercambio dinámico de líquidos entre los capilares y los tejidos, genera y mantiene una presión hidrostática extravascular en el interior de esta cámara rígida.
- La presión intrapulpar puede verse aumentada en una zona aislada y sobrepasar el umbral de las estructuras sensitivas periféricas de la zona; de esta manera se generaría el dolor.
- Su fuente principal de irrigación se encuentra a una distancia considerable de la masa principal de tejido coronario.
- La inexistencia de una circulación colateral eficaz que permita contrarrestar una irritación intensa, fenómeno fundamental para la supervivencia de cualquier órgano (no pueden proporcionar nutrición adicional ni defensa en la zona).

La composición y estructura de la pulpa es bastante diferente de las de la dentina, sin embargo, los dos tejidos están en relación íntima embriológica y funcionalmente; por ello son considerados como un complejo funcional indisociable, al que se le denomina complejo pulpo-dentinario².

El complejo pulpo-dentinario es un concepto importante para entender la patología tanto de la dentina y como en la pulpa. Durante el desarrollo, las células pulpares producen dentina, nervios, y vasos sanguíneos. Aunque la dentina y la pulpa tienen diferentes estructuras y composiciones, una vez formadas reaccionan frente al estímulo como una unidad funcional. La exposición de la dentina a través de la atrición, el trauma, o la caries produce reacciones pulpares profundas que tienden a reducir la permeabilidad dentinal y a estimular la formación de dentina adicional. Estas reacciones son llevadas a cabo con cambios en los fibroblastos, nervios, vasos sanguíneos, odontoblastos, leucocitos, y el sistema inmune².

PATOLOGÍA PULPAR y PERIAPICAL.

Como ya se ha descrito, el tejido pulpar es el encargado de las respuestas fisiológicas del diente ante algún estímulo del medio que lo rodea, ya sea físico químico o biológico. Precisamente a que la etiología de los estímulos que pueden desencadenar una respuesta en dicho tejido, su patología es amplia.

A continuación, se hará una descripción de las patologías pulpares que son de interés para esta investigación.

Como generalidad, podemos decir que la enfermedad pulpar es la respuesta de la pulpa ante un irritante, en la que inicialmente se adapta y en la medida de la necesidad se opone, organizándose para resolver favorablemente la leve lesión o disfunción ocurrida por la agresión, si ésta es grave (como herida pulpar o caries muy profunda) la reacción pulpar es más violenta al no poder adaptarse a la nueva situación, intenta al menos una resistencia larga y pasiva hacia la cronicidad; si no lo consigue, se produce una rápida necrosis y aunque logre el estado crónico parece totalmente al cabo de cierto tiempo⁵.

Cuando se lesiona la pulpa dental se produce una inflamación conocida como pulpitis parte de esta reacción es, un aumento de la permeabilidad vascular y una filtración de líquidos hacia los tejidos circundantes. A diferencia de la mayoría de los tejidos blandos, la pulpa carece de espacio para edematizarse. Debido a una serie de características y restricciones en su entorno, las lesiones pulpares son a menudo irreversibles y dolorosas⁴.

Actualmente existen diferentes clasificaciones de los estados pulpares las cuales se han realizado teniendo en cuenta los procesos inflamatorios, las manifestaciones anatomo-patológicas y las características clínicas y su diagnóstico se basa fundamentalmente en la sintomatología clínica y el examen radiográfico⁶.

La clasificación dada por Stephen Cohen en su libro "vías de la pulpa" propone un sistema de clasificación basado en la clínica, se fundamenta en los síntomas del paciente y los resultados de las pruebas clínicas. Se quiere ofrecer términos y frases básicos, que puedan utilizar los clínicos para describir la extensión de la enfermedad

de la pulpa y del tejido periapical, antes de seleccionar un método de tratamiento. No pretende enumerar todas las posibles combinaciones de inflamación, ulceración, proliferación, calcificación y degeneración de la pulpa o el periodonto. Su objetivo es sugerir, del modo más amplio posible, si la pulpa está sana o enferma, y ayudar a que el clínico decida si debe eliminarse, basándose en su experiencia clínica. Esta clasificación surge a partir de que es imposible determinar el diagnóstico histológico de la pulpa, sin extraerla y enviarla para su examinación⁷.

La siguiente clasificación de la patología pulpar, describe los principales síntomas y signos clínicos de los grados de inflamación o degeneración de la pulpa y los tejidos periapicales. Los términos para la enfermedad periapical sugieren la naturaleza, la duración y el tipo de exudación hallada en los procesos patológicos⁷.

PULPA NORMAL.

Una pulpa normal es asintomática y produce una respuesta transitoria de débil a moderada a los estímulos térmicos y eléctricos, la respuesta cesa casi inmediatamente cuando el estímulo se retira del órgano dentario. El diente y ligamento periodontal no generan una respuesta dolorosa cuando son percutidos o palpados, radiográficamente se observa un canal claramente delineado, que se afila suavemente hacia el ápice, tampoco hay evidencia de calcificación o resorción de raíz y la lámina dura está intacta².

Cuando no hay signos y síntomas indicadores de enfermedad, los dientes con calcificaciones de conductos radiculares se consideran dentro de límites normales. Muchas veces se detectan calcificación del conducto radicular y reabsorción interna en el examen radiográfico habitual. A veces, un diente anterior evidenciara un cambio de coloración de la corona, indicativo de calcificación de la cámara. Sin embargo, puesto que el cambio cálcico rara vez conduce a necrosis, en general sólo es necesario vigilar esos dientes para detectar posibles cambios indicativos de enfermedad⁷.

PULPITIS REVERSIBLE.

En esta patología, la pulpa esta inflamada hasta el punto que el estímulo térmico (habitualmente el frio), causa una rápida y aguda respuesta hipersensible, que desaparece tan pronto el estímulo ha cesado. De otra manera, la pulpa permanece asintomática. La pulpitis reversible no es una enfermedad; es un síntoma. Si el irritante cesa y la inflamación pulpar es paliada, revertirá a un estado sin inflamación, que es asintomático. Contrario a esto, si el irritante continua, los síntomas se pueden prolongar por tiempo indefinido, o hacerse más extensos y conducir a una pulpitis irreversible^{2,7}.

La pulpitis reversible es reactiva; sólo se produce una respuesta, pudiendo ser exagerada cuando es generada por algún estímulo⁷.

Clínicamente la pulpitis reversible puede distinguirse de la pulpitis irreversible sintomática de dos formas:

En la primera formar la diferencia es que, la pulpitis reversible causa una respuesta dolorosa momentánea a los cambios térmicos, que termina tan pronto cuando el estímulo (generalmente el frio) se retira. Sin embargo, la pulpitis irreversible causa una respuesta dolorosa al cambio de temperatura que tarda en irse después que el estímulo (frio) haya cesado^{2,7}.

La segunda diferencia la encontramos en que la pulpitis reversible no genera dolor espontaneo (no provocado) la pulpitis irreversible comúnmente sí².

PULPITIS IRREVERSIBLE.

Esta enfermedad puede ser: aguda, subaguda o crónica; también puede a su vez ser parcial o total, infectada o estéril. Desde el punto de vista clínico, la inflamación aguda de la pulpa es sintomática. Si lo está de forma crónica, generalmente es asintomática. Clínicamente la extensión de una pulpitis irreversible no puede ser determinada hasta que el ligamento periodontal este afectado. Los cambios dinámicos de la pulpa inflamada de manera irreversible son continuos; de esta

forma, la pulpa puede pasar de un estado de reposo en su forma crónica a una agudización en cuestión de horas².

PULPITIS IRREVERSIBLE ASINTOMÁTICA.

Esta manifestación de enfermedad pulpar realmente no es frecuente, la pulpitis irreversible asintomática puede ser la conversión de una pulpitis irreversible sintomática por una en estado de reposo. La caries y traumatismos son las causas más comunes. Esta entidad patológica se identifica mediante una síntesis de la información completa proporcionada en la historia dental y una exposición radiográfica adecuada. El tejido pulpar hiperplásico y la reabsorción interna se consideran variantes de pulpitis irreversible asintomática².

PULPITIS HIPERPLASICA.

Esta patología se caracteriza por que el tejido pulpar presenta una coloración rojiza, crecimiento con forma de coliflor, a través y alrededor de una lesión cariosa. A esta respuesta proliferativa del tejido pulpar también se le denomina “pólipo pulpar”, es el resultado de la irritación crónica de grado bajo y a la abundante vascularización hallada en pacientes jóvenes. En ocasiones, puede causar dolor transitorio, leve, durante la masticación⁷.

REABSORCIÓN INTERNA.

Es un trastorno pulpar indoloro, ocasionada por la concentración de células osteoclásticas sanguíneas, que producen la destrucción de la dentina. Generalmente el proceso de destrucción inicia con un traumatismo. La reabsorción interna se suele diagnosticar durante un examen radiográfico indicado por algún otro motivo. De no ser hallada, la reabsorción interna acabará por perforar la raíz. Antes de perforar la corona, la reabsorción se puede detectar clínicamente como una mancha rosada en la zona. Únicamente el tratamiento de conductos precoz para eliminar las células osteoclásticas logrará prevenir la destrucción total del diente⁷.

PULPITIS IRREVERSIBLE SINTOMÁTICA.

Este tipo de patología pulpar se caracteriza por paroxismos de dolor espontáneo (no provocado), intermitentes o continuos, en los cambios repentinos de temperatura (regularmente con el frío) causan episodios prolongados de dolor (los cuales tardan en ceder después de haber eliminado el estímulo). La sensación dolorosa puede aliviarse en algunos pacientes mediante la aplicación de calor o frío. En ocasiones los pacientes comunican que un cambio postural (ya sea acostado o inclinarse) provoca dolor y alteraciones de sueño. El dolor de una pulpitis irreversible sintomática es generalmente de moderado a intenso, punzante o romo, localizado o referido. Las radiografías no son generalmente útiles para llegar al diagnóstico de esta afección, ya que la inflamación se encuentra solamente en el tejido pulpar, aunque puede ayudar a identificar el diente sospechoso (pudiendo encontrar caries profundas, restauraciones extensas, pins, evidencia de recubrimiento pulpar previa, metamorfosis cálcica), en una etapa avanzada puede resultar evidente en la radiografía el engrosamiento en la parte apical del ligamento periodontal. Se puede llegar a su diagnóstico mediante la información recabada en la historia clínica, examinación visual, radiografías bien tomadas y pruebas térmicas. Si existe dolor irradiado o referido, al aplicar 0.2 ml de anestésico de manera intraligamentosa en el surco distal del diente bien identificado calmara el dolor inmediatamente. El proceso inflamatorio de una pulpitis irreversible sintomática puede empeorar tanto que provoque una necrosis pulpar^{2,7}.

NECROSIS PULPAR

Esta condición pulpar es considerada como la muerte de la pulpa, se refiere a una condición histológica originada por una pulpitis irreversible no tratada, una lesión traumática o cualquier circunstancia que origine interrupción prolongada del suministro de sangre a la pulpa. Esta patología puede ser parcial o total, y los restos

del tejido pulpar se pueden licuar o coagular. La necrosis total es asintomática antes de afectar al ligamento periodontal, puesto que los nervios de la pulpa carecen de función. Es por ello que, no existe respuesta a la prueba térmica o eléctrica. Cierta cambio del color de la corona puede acompañar a la necrosis pulpar de los dientes anteriores, pero este signo diagnóstico no es confiable. Mientras que, la necrosis parcial es más difícil de diagnosticar, dado que puede provocar algunos de los síntomas asociados con la pulpitis irreversible. Ejemplo de esto, un diente con dos conductos radiculares, puede tener inflamación del tejido pulpar en un conducto, y una pulpa necrótica en otro⁷.

PATOLOGÍA PERIODONTAL RELACIONADA CON EL TEJIDO PULPAR.

Debido a la estrecha relación anatómica entre el tejido pulpar y el sistema periodontal, es necesario describir algunas patologías periodontales que son originadas desde el tejido periodontal. Esto sucede cuando, las toxinas bacterianas (y, a veces, las bacterias) que producen necrosis pulpar, siguen al tejido de la pulpa a través del agujero apical, hasta alcanzar el ligamento periodontal y provocan una reacción inflamatoria en el periodonto. Esta inflamación conducirá a engrosamiento del ligamento periodontal y se manifestará como hipersensibilidad a la percusión y la masticación. Cuando esta cascada de irritantes sale del conducto radicular, muchas veces se produce enfermedad periapical⁷

PERIODONTITIS APICAL AGUDA.

Es un proceso inflamatorio agudo localizado alrededor del ápice (periodontitis). Puede ser el resultado de la extensión de una inflamación de la pulpa en el tejido periapical, el traumatismo mecánico o químico causado por instrumentos o materiales endodónticos, o el traumatismo de las superficies oclusales provocado por hiperoclusión o bruxismo. Debido a que ésta patología puede desarrollarse alrededor de dientes con o sin vitalidad, las pruebas térmicas y eléctricas de la pulpa proporcionan el único medio para decidir la necesidad de tratamiento de conductos⁷.

En este caso las radiografías no aportan gran evidencia para el diagnóstico, puesto que el ligamento periodontal apical puede estar dentro de límites normales, o mostrar sólo un ensanchamiento ligero. Por lo contrario, las pruebas de percusión y masticación pueden provocar dolor entre ligero y extremo. Si la pulpa ha experimentado necrosis y no se trata la periodontitis apical aguda secundaria, pueden aparecer síntomas adicionales conforme la enfermedad avanza hacia la siguiente fase, el absceso periapical agudo⁷.

Hay un exudado purulento (absceso) causante de dolor, alrededor del ápice. Este absceso es el resultado de la exacerbación de la periodontitis apical aguda en una pulpa infectada necrótica. Radiográficamente se encuentra sólo una lámina dura relativamente normal o algo engrosada⁷.

Los síntomas y signos de esta patología incluyen comienzo rápido de tumefacción ligera o intensa, dolor moderado o fuerte, dolor a la percusión y la palpación y, quizá, un ligero grado de movilidad en el diente. En casos más avanzados, el paciente tiene fiebre. La extensión y la distribución de la tumefacción dependen de la localización del ápice y las inserciones musculares, y del grosor de la lámina cortical⁷.

PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA.

Es una lesión periapical asintomática que únicamente se puede observar de manera radiográfica. Las bacterias y sus endotoxinas que alcanzan la región periapical desde la pulpa necrótica, causa una reacción inflamatoria y producen desmineralización extensa del hueso trabecular y cortical. Ocasionalmente puede existir hipersensibilidad ligera a la percusión o a la palpación. Frecuentemente el paciente referirá que, aunque el diente no le duela, lo siente diferente o hueco a la percusión. Un trayecto fistuloso, indica la presencia de supuración. Cuando la presión del pus es aliviada por el drenaje a través de un trayecto fistuloso, es posible que el trayecto se cierre temporalmente. Cuando aumenta nuevamente la presión el trayecto fistuloso reaparece⁷.

Para establecer el diagnóstico de periodontitis apical crónica se toma como referencia, la presencia de una radio transparencia periapical y la necrosis de la pulpa. Sólo la limpieza completa, el remodelado y obturación del conducto radicular eliminarán la fuente de la enfermedad periapical, debido a que vuelve a haber remineralización de las lesiones periapicales⁷.

ABSCESO FÉNIX.

Esta patología siempre está precedida por una periodontitis apical crónica. Sus signos y síntomas son idénticos a los del absceso perirradicular agudo, pero la radiografía mostrará una radiopacidad periapical, que es indicativo de enfermedad crónica. Esta patología aparece es un empeoramiento de una periodontitis apical crónica, debido a que no hay un trayecto fistuloso para aliviar la presión⁷.

OSTEOSCLEROSIS PERIAPICAL.

La osteosclerosis periapical se caracteriza por mineralización ósea excesiva alrededor de un diente asintomático que conserva vitalidad. La radiolucencia puede ser generada por una irritación pulpar de bajo grado. Debido a que la condición es asintomática y benigna, no requiere tratamiento endodóntico⁷.

ETIOLOGÍA DE ORIGEN EN LA ENFERMEDAD PULPAR.

Los irritantes del complejo dentino-pulpar que pueden producir inflamación o muerte pulpar, son innumerables y variables, la invasión bacteriana ocasionada por una lesión cariosa es la causa más frecuente de inflamación pulpar. La preparación y restauración cavitaria inadecuada y el uso incorrecto de los materiales dentales durante la ejecución de los procedimientos restauradores son también, causas frecuentes de irritación del complejo dentina-pulpar⁸.

Debido al interés de la investigación de esta tesis, nos enfocaremos únicamente a los agentes bacterianos como etiología de las diversas formas de enfermedad del tejido pulpar.

VÍAS DE INVASIÓN MICROBIANA.

La pulpa y el periápice, en condiciones de salud, son tejidos estériles, por lo que la presencia de microorganismos determina la presencia de una enfermedad⁷. Existen distintas vías de invasión de los microorganismos para colonizar el sistema de conductos, a continuación, se mencionarán las vías de contaminación microbiana del tejido pulpar más comunes.

TÚBULOS DENTINARIOS.

La causa más prevalente de infección de la pulpa dental es la comunicación con la dentina cariada a través de los túbulos dentinarios⁹.

Los dientes son más bien singulares por el hecho de que las bacterias que han invadido al esmalte y la dentina pueden crecer y multiplicarse sin recibir el ataque de las defensas del huésped. No es sino hasta después de que las bacterias invaden la pulpa que se vuelven vulnerables a los mecanismos inflamatorios e inmunológicos⁸.

La caries dental es producto de una serie de cambios que ocurren por el desequilibrio iónico en el proceso de desmineralización y remineralización de los tejidos duros del diente, que resulta del metabolismo de los carbohidratos por parte de las bacterias de la placa y éste proceso, en consecuencia, con el tiempo puede provocar una pérdida de minerales que podría terminar en la formación de una cavidad si no se interfiere a tiempo⁸.

Durante el proceso cariogénico que siempre es prolongado, sucede que las lesiones se desarrollan lentamente a lo largo de un periodo que toma años. En consecuencia, la inflamación pulpar causada por las lesiones originadas por la caries inicialmente es una respuesta inmunológica de nivel bajo hacia los antígenos bacterianos más que una reacción inflamatoria aguda. El infiltrado inicial de células inflamatorias consta casi por completo de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Este infiltrado es típico de una reacción inflamatoria crónica. Además, hay la proliferación

de pequeños vasos sanguíneos y fibroblastos junto con la deposición de fibras de colágeno⁸.

La gravedad de la inflamación pulpar debajo de una lesión por caries depende en gran medida de la profundidad de la penetración bacteriana así como del grado hasta el cual la permeabilidad de la dentina se haya visto reducida por la esclerosis dentinaria y/o la formación de dentina reparativa⁸.

La exposición de la dentina a la caries a menudo resulta en inflamación supurativa, dependiendo de la naturaleza de las bacterias invasoras. La generación de quimiotoxinas por parte de las bacterias piogénicas (es decir, la producción de pus), origina una acumulación masiva de neutrófilos. Las bacterias piogénicas incluyen a una amplia variedad de organismos, tales como *Estreptococos*, *Estafilococos*, *Neumococos*, *Meningococos* y *Gonococos*⁸.

A medida que se amplía la exposición a la caries y que va en aumento el número de bacterias que entran a la pulpa, las fuerzas de defensa terminan por ser derrotadas, debe tenerse en cuenta que la pulpa tiene un suministro de sangre relativamente limitado en relación con el volumen de tejido presente en la cámara pulpar y el espacio del conducto radicular. Por lo tanto, cuando el flujo sanguíneo ya no puede satisfacer la demanda de elementos inflamatorios, tampoco puede ya mantenerse la respuesta inflamatoria, con lo que las bacterias pueden desarrollarse sin encontrar oposición alguna dentro de la cámara pulpar. Al final, esto conlleva a que se dé una necrosis total de la pulpa⁸.

Los productos del metabolismo bacteriano, fundamentalmente, los ácidos orgánicos y las enzimas proteolíticas, destruyen el esmalte y la dentina, generando una reacción inflamatoria pulpar, a su vez la extensa invasión de la dentina se traduce, a veces, en una infección bacteriana de la pulpa. La difusión de estas sustancias tóxicas se produce a través de los túbulos dentinarios. Entre las reacciones básicas que tienden a proteger la pulpa frente a la caries se encuentran: la disminución de la permeabilidad de la dentina, la formación de una nueva dentina y las reacciones inflamatorias e inmunológicas⁸

Mientras que las bacterias convergen en la pulpa, se van manifestando los rasgos característicos de la inflamación aguda. Entre ellos se incluyen las respuestas vasculares y celulares en forma de vasodilatación, incremento de la permeabilidad vascular y acumulación de leucocitos⁸.

La dentina afectada y descalcificada por la caries podría ser la vía para la invasión y la penetración bacteriana de la pulpa, se podría desencadenar una pulpitis reversible, luego, una pulpitis irreversible y finalmente, una necrosis pulpar⁸.

Dentro de esta vía de invasión microbiana al tejido pulpar también encontramos los casos de, cuando falta cemento o se ha perdido por un traumatismo y la dentina queda expuesta ⁹.

COMUNICACIÓN DIRECTA DE LA PULPA CON EL AMBIENTE ORAL.

Puede ser causada por una lesión cariosa; fracturas dentarias producto de traumatismos dentoalveolares; grietas o fisuras de esmalte producto de traumatismos crónicos, atrición patológica por bruxismo, oclusión traumática, abrasión, reabsorción interna o externa; y maniobras operatorias que exponen accidentalmente el tejido pulpar⁹.

VÍA PERIODONTAL.

Los microorganismos y sus productos colaterales pueden ingresar al conducto a través del foramen apical y los conductos laterales y accesorios. Todavía se discute si la enfermedad periodontal es causa directa de la enfermedad pulpar. Se creó que, es más probable que se produzca una lesión pulpar si el conducto lateral se expone al medio bucal como consecuencia de la enfermedad periodontal⁹.

ANACORESIS.

Corresponde al transporte de microorganismos a nivel de la sangre o linfa hacia un tejido inflamado, como un diente con pulpitis. Podría ser la explicación para la necrosis en dientes traumatizados⁹.

EXTENSIÓN O CONTIGUEDAD.

La infección de la pulpa puede ocurrir como consecuencia de procesos infecciosos adyacentes, llegando a los conductos principal y/o lateral⁹

BIOFILM EN LA INFECCIÓN PULPAR.

Ahora es necesario indicar como se organizan las bacterias en el tejido pulpar durante una infección pulpar, para esta investigación es necesario describir el término de biofilm.

El biofilm o biopelícula se puede definir como una estructura asociativa de una o varias estirpes bacterianas, embebidas en una matriz extracelular de polisacáridos auto-producida y que se encuentra adherida a una superficie o sustrato. Los biofilms se unen a superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas. Dentro de las biológicas optan preferentemente por tejidos necróticos. La importancia para la Endodoncia de esta forma de vida bacteriana es que es más resistente a los distintos germicidas conocidos que las bacterias en suspensión y que se postula como la causa de fracaso de tratamientos de conductos aparentemente correctos¹⁰.

Algunos autores opinan que el biofilm no es raro ni infrecuente en el conducto necrótico sino que es la forma de vida bacteriana más habitual, y que es incorrecto pensar que son entidades excepcionales sólo porque sea reciente su conocimiento y estudio en Endodoncia¹⁰.

Los tipos de microorganismos observados en el biofilm de origen endodóntico son, fundamentalmente, cocos, bacilos y filamentos, aunque ocasionalmente se han detectado espiroquetas¹⁰.

Se han descrito formaciones de biofilm tanto en el interior del conducto radicular como en la superficie externa de la raíz. Dicha localización determinará el tipo de tratamiento, ya que no se enfocará de igual manera si se trata de biofilm intrarradicular o extrarradicular¹⁰.

El más frecuente es el biofilm intrarradicular, alojado en zonas de difícil acceso, mientras que las bacterias en suspensión se reparten por todo el sistema de conductos¹⁰.

MICROORGANISMOS EN LA INFECCIÓN PULPAR.

Ahora que se ha mencionado la importancia de tener en mente que los microorganismos se organizan en biofilm en el conducto radicular, pasaremos a indicar cuales son los microorganismos más comunes en la enfermedad pulpar.

Las infecciones endodónticas son polimicrobianas. El número de unidades formadoras de colonias (UFC) suele oscilar entre 10^2 y 10^8 . Existe relación positiva entre el número de bacterias en un conducto radicular infectado y el tamaño de las radiotransparencias apicales⁷.

Las especies del género *Prevotella* son muy frecuentes debido a su capacidad de auto-agregarse y coagregarse. Otros autores opinan que el *Fusobacterium nucleatum* es el componente central de muchos de los biofilms en infecciones odontogénicas, gracias a su enorme capacidad de coagregación y de resistencia a biocidas e incluso algunos consideran el *F. nucleatum* la bacteria clave o “puente” para el desarrollo del biofilm¹⁰.

Respecto al estudio del *Enterococcus faecalis* en relación al biofilm, se ha postulado que la resistencia de esta bacteria a ser eliminada del interior del conducto, ya sea con instrumentación, irrigación y/o con medicación intraconducto, se debe a que puede asociarse en forma de biofilm¹⁰.

Otra de las bacterias que se han descrito como formadoras de biofilm en Endodoncia es el *Streptococcus intermedius*. Se trata de una bacteria anaerobia facultativa Gram-positiva, como el *E. faecalis*. Se piensa que es una de las más importantes en la formación de biofilm, ya que descubrieron que tiene una gran capacidad adhesiva y que incluso puede ser una de las especies primarias, generadoras de biofilm. Además, se trata de una bacteria que se aísla comúnmente en infecciones endodónticas y presenta cierta resistencia a la remoción¹⁰.

INFECCIONES INTRARRADICULARES.

A través de las técnicas de cultivo y biología molecular se ha confirmado el carácter polimicrobiano de la infección endodóntica, con un predominio marcado de bacterias anaerobias estrictas en las infecciones primarias⁹.

La vía de acceso de la microbiota para infectar la pulpa en dientes vitales determinará la composición microbiana de la infección (Tabla 1) ⁹.

Vía de acceso	Microbiota más frecuente
Caries amplia o traumatismo	<ul style="list-style-type: none"> • Cualquier bacteria oral. • Predominio de <i>Streptococos</i> del grupo <i>viridans</i> y <i>Lactobacillus spp.</i>
Túbulos dentinarios	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias cariogénicas • Predominio de <i>Streptococos</i> del grupo <i>viridans</i>, <i>Lactobacillus spp.</i> y <i>Actinomyces naeslundii</i>
Vía periodontal	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias grampositivas • <i>Peptoestreptococcus spp.</i>, <i>Streptococcus spp.</i> y <i>Propionibacterium spp.</i>, <i>Rothia dentocariosa</i>
Contigüidad	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias causantes del proceso original
Anacoresis	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterias del proceso septicémico

Tabla 1: Principales bacterias relacionadas con infecciones de la pulpa vital.

Los microorganismos aislados más frecuentemente en infecciones de pulpa vital son⁹:

- *Staphylococcus aureus*
- Estreptococos orales
- *Peptostreptococcus spp.*
- *Actinomyces spp.*
- *Eubacterium spp.*
- *Capnocytophaga spp.*
- *Campylobacter spp.*
- *Eikenella spp.*
- *Porphyromonas spp.*
- *Prevotella spp.*
- *Mitsuokella spp.*
- *Selenomas spp.*
- *Lactobacillus spp.*
- *Enterococcus spp.*
- *Treponemas* orales

La probabilidad de que el paciente presente o no síntomas la diferencia de virulencia entre cepas de la misma especie, el número de especies presentes y las interacciones entre ellas, la carga bacteriana o número de células bacterianas y los factores ambientales⁹.

La infección de la pulpa necrótica se puede producir por las mismas vías que la pulpa vital, pero la extensión de la infección es incontrolable ya que los mecanismos de defensa del hospedero son incompetentes. Normalmente al inicio de la necrosis pulpar se aísla un promedio de seis especies bacterianas, mientras que en la infección exacerbada pueden aislarse entre 12 y 15, predominando especies de los géneros *Porphyromonas* y *Prevotella*. En la tabla 2 y 3 se muestran las bacterias aisladas más frecuentemente en pulpa necrótica⁹.

Las bacterias Gram-negativas son los microorganismos más frecuentes en la infección endodóntica primaria. Se encuentran en casi todas las infecciones primarias asociadas a periodontitis apical, incluso en abscesos. Entre estas se destacan *Dialister*, *Treponema*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella* y *Tanerella*⁹.

Las bacterias Gram-positivas pueden encontrarse en porcentajes tan elevados como las bacterias Gram-negativas. Entre las más encontradas están *Pseudoramibacter*, *Filifactor*, *Micromonas*, *Peptoestreptococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Olsenella* y *Propionibacterium*⁹.

Anaerobios estrictos	Género	Especies	
Bacilos gramnegativos	<i>Porphyromonas</i>	<i>P. gingivalis</i> <i>P. endodontalis</i>	
	<i>Prevotella</i>	<i>P. oris</i> <i>P. buccae</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. melaninogenica</i> <i>P. nigrescens</i>	
	<i>Mitsuokella</i>	<i>M. dentalis</i>	
	<i>Fusobacterium</i>	<i>F. nucleatum</i>	
	<i>Selenomonas</i>	<i>S. sputigena</i>	
	Bacilos gram-positivos	<i>Eubacterium</i>	<i>E. lentum</i>
	Cocos gramnegativos	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. micros</i> <i>P. anaerobius</i> <i>P. prevotelli</i> <i>P. asaccharolyticus</i> <i>P. magnus</i>
Cocos gram-positivos		<i>Veillonella</i>	<i>V. párvula</i>
Espiroquetas		<i>Treponema</i>	<i>T. denticola</i>

Tabla 2: Bacterias anaerobias estrictas aisladas frecuentemente en pulpa necrótica.

Anaerobios facultativos	Género	Especies
Cocos gram-positivos	<i>Streptococcus</i>	<i>S. mitis</i>
		<i>S. anginosus</i>
		<i>S. oralis</i>
		<i>S. intermedius</i>
	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i>
		<i>E. faecium</i>
	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i>
		<i>S. epidermidis</i>
Bacilos gramnegativos	<i>Campylobacter</i>	<i>C. rectus</i>
	<i>Eikenella</i>	<i>E. corrodens</i>
	<i>Capnocytophaga</i>	<i>C. ochracea</i>
Bacilos gram-positivos	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
		<i>L. casei</i>
		<i>L. fermentum</i>
		<i>A. Odontolyticus</i>
	<i>Actinomyces</i>	<i>A. naeslundii</i>
		<i>A. israelii</i>
		<i>A. meyeri</i>

Tabla 3: Bacterias anaerobias facultativas aisladas frecuentemente en pulpa necrótica.

ENTEROCOCCOS.

Debido a que de entre las principales bacterias que afectan el sistema de conductos radiculares, se encuentra el género *Enterococcus* y pertenece al objeto de estudio de nuestra investigación es preciso describirlo.

Este género forma parte de la flora bacteriana normal del tracto gastrointestinal, tracto genitourinario, vías respiratorias superiores, piel y cavidad oral del ser humano¹¹.

Antiguamente los *Enterococcus* pertenecían, clásicamente, a los *Streptococcus* grupo D de Lancefield. En el año 1970 fueron oficialmente clasificados por Kalina como un género independiente. A partir de esta fecha el género *Enterococcus* es considerado un género separado del género *Streptococcus*. La división de los géneros se basó en estudios taxonómicos y de ácidos nucleicos que demostraron su relación distante con *Streptococcus* y que permitieron considerarlos géneros diferentes¹².

Los *Enterococcus* se encuentran en una concentración de más de 10⁷ organismos por gramo de heces fecales, pero no representan peligro para el organismo en condiciones normales. Sin embargo, en ocasiones se comportan como patógenos oportunistas y pueden causar diferentes enfermedades, sobre todo en aquellos pacientes que han sido hospitalizados por períodos prolongados o sometidos a terapia antimicrobiana previa, que los convierte en un importante patógeno nosocomial¹³.

El género de *Enterococcus* puede diseminarse por transmisión fecal-oral, por contacto con fluidos de personas infectadas o por contacto con superficies contaminadas¹².

Actualmente se han descrito 33 especies pertenecientes al género *Enterococcus*., pero en los humanos, las especies más frecuentes son *E. faecalis* y *E. faecium* pues causan, entre ambos, aproximadamente el 90 % de los aislamientos clínicos. Otras especies como *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* y *E. avium* se aíslan en menor proporción¹².

Los *Enterococcus* son células de forma esférica u ovoide, que miden de 0.6µm a 2.0µm x 0.6µm a 2.5µm, son cocos Gram positivos que aparecen en par o cadenas cortas en medio líquido, no son encapsulados, no forman endosporas, son anaerobios facultativos, poseen requerimientos nutricionales complejos, son catalasa negativa, fermentan una amplia variedad de carbohidratos con elaboración de ácido láctico sin producción de gas, y su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. Sin embargo, pueden presentar un crecimiento inusual a temperaturas de 10 a 45°C, tolerando incluso valores superiores a 60°C. También presentan un

crecimiento en presencia de 6.5% de cloruro de sodio (NaCl), realizan hidrólisis de la bilis – esculina y reducción de la leche con azul de metileno¹¹.

Como se mencionó anteriormente estas bacterias tienen poco potencial patogénico en el huésped normal; sin embargo, en el anciano y en el paciente inmunocomprometido, estos microorganismos constituyen patógenos oportunistas. Las infecciones ocurren cuando las defensas del huésped descienden por una enfermedad y por el uso de dispositivos invasivos. Dentro de los factores de virulencia encontrados en este género se encuentran la presencia de hemolisinas, las sustancias de agregación, bacteriocinas, proteasas y aglutininas. Además, los carbohidratos de la pared celular o los sitios de unión de la fibronectina, que favorecen la adherencia a los tejidos del huésped, pueden incrementar la patogenicidad¹².

ENTEROCOCCOS FAECALIS.

Enterococcus faecalis, coco entérico Gram-positivos, anaerobio facultativo, es altamente relacionado a casos de fracaso endodóntico. *E. faecalis* puede sobrevivir a la instrumentación, irrigación y medicación intraconducto (MIC), sobreviviendo en túbulos dentinarios, consiguiendo reinfectar el canal obturado¹⁴, por lo que es preciso describirlo más a fondo.

E. faecalis forma parte normal de la flora microbiana humana y es predominante entre los microorganismos en dientes que presentan tratamiento endodóntico con periodontitis apical persistente. También pueden ser detectados, en las infecciones endodónticas primarias, especialmente utilizando pruebas de hibridación DNA–DNA¹⁵.

Esta es una bacteria resistente a los efectos antibacterianos del hidróxido de calcio (CaOH₂). El gluconato de clorhexidina ha mostrado una mayor eficacia que el CaOH₂ en la eliminación del *E. faecalis*, sin embargo, dicho compuesto no logra potenciar las propiedades del CaOH₂ al asociársele a éste. El yodoformo ha demostrado eficacia superior al CaOH₂ frente a *E. faecalis*, cuando es utilizado como irrigante, por 15 minutos después de la preparación biomecánica¹⁶.

Este microorganismo sintetiza un heterogéneo grupo de péptidos antibacterianos o bacteriocinas también denominados *enterocinas*, que presentan un singular interés como agentes bio-preservantes de alimentos. Por otra parte, la presencia de enterocinas podría otorgar a estas bacterias una herramienta ecológica adicional para persistir en ambientes colonizados por microorganismos competidores por nutrientes, con el propósito de eliminarlos, tal como potencialmente podría ocurrir en un ambiente hospitalario. También se piensa que estos productos antibacterianos podrían constituirse en el elemento inicial de virulencia en el organismo humano al ejercer una acción letal sobre microorganismos que compiten por receptores similares a los que requiere *E. faecalis*¹⁷.

Dentro de sus características de virulencia, el *E. faecalis* presenta lo siguiente. La proteína de superficie extracelular (Esp), la cual promueve la adhesión, colonización y evasión del sistema inmune, también participa en la generación de biopelícula y aparentemente cumple un rol en la resistencia antimicrobiana; citolisina (Cyl), también denominada hemolisina, que posee propiedades β -hemolíticas en humanos y es bactericida contra bacterias gram-positivas; gelatinasa (Gel) que provee de nutrientes a la bacteria degradando el tejido del hospedero y además presenta algún tipo de función en la formación de biopelícula; hialuronidasa que actúa despolimerizando la molécula de mucopolisacárido del tejido conectivo lo que facilita la diseminación de la bacteria; determinantes de feromonas (Eep) son capaces de modular de modo importante la respuesta inflamatoria *in vivo*; antígeno A (EfaA) que se asocia a la adherencia de la bacteria tanto a células bióticas y superficies abióticas, además de participar en ciertas etapas de la formación de biopelícula; proteína de superficie celular (Ace) que exhibe una fuerte similitud con la proteína del mismo nombre producida por *Staphylococcus aureus*, la cual posee la capacidad de unirse al colágeno y presentaría un rol en la patogénesis de la endocarditis; sustancia de agregación (Agg) que actúa mediando la unión específica de la bacteria al epitelio intestinal, células del epitelio renal, neutrófilos humanos y macrófagos además de aumentar la internalización y vida intracelular del microorganismo. La presencia de un pilus de *E. faecalis* es importante en la producción de la biopelícula, la cual se sustenta en la proteína Bps. La aparición de

la biopelícula genera una fuerte relación entre endocarditis y producción de infección del tracto urinario (ITU).¹⁷.

ANTIBIOGRAMA, PRUEBA DE SENSIBILIDAD.

La creciente resistencia de los microorganismos respecto a los antibióticos como la ya descrita anteriormente en el género *Enterococcus faecalis*, es un tema de suma importancia para el sector salud, ya que esta situación implica el cambio en la farmacoterapia de los pacientes.

Precisamente para poder conocer la resistencia que tienen los distintos microorganismos a cierto fármaco, los laboratorios de microbiología han desarrollado pruebas de sensibilidad bacteriana.

A partir del descubrimiento de los antibióticos en 1920 y su posterior introducción en la terapéutica de las enfermedades infecciosas, en la década del 30 del pasado siglo, el devenir histórico del proceso de estudio de la sensibilidad de los microorganismos a estos agentes puede ser enmarcado en diferentes etapas. En 1940 se comienzan a describir los primeros mecanismos de resistencia y en 1950 se establece la relación entre resistencia y fracaso terapéutico. A partir de 1960 se inicia la normalización de las pruebas de susceptibilidad, en las que se destaca el método estandarizado de difusión con discos, propuesto por Bauer y Kirby, en 1966. La década de los 70 trae consigo la aparición de los criterios de interpretación de los resultados de las pruebas de sensibilidad y en 1980 se introduce el concepto de lectura interpretada de estos resultados. Al final del siglo XX se inicia la automatización de este proceso. En el actual siglo XXI, aparejado con los descubrimientos en el campo de la genómica y la biología molecular, comienzan los estudios de la llamada epidemiología de la resistencia¹⁸.

Existe gran variedad de técnicas de laboratorio que permiten evaluar la sensibilidad de bacterias in vitro; dentro de éstas se encuentran las pruebas de difusión por discos y las pruebas de dilución en caldo y en agar, esta última es la más utilizada debido a que se encuentra normalizada y está recomendada por el Comité Nacional para la Normalización de Laboratorios Clínicos (NCCLS, por su sigla en inglés).

Dentro de estas pruebas se encuentra el método de Kirby-Bauer, el cual ha sido descrito de manera más completa, y se han desarrollado tablas de interpretación respaldadas por datos clínicos y de laboratorio; este método consiste en el uso de una cantidad determinada del antimicrobiano en un disco de papel (sensidisco) aplicado sobre la superficie del agar en el que se ha sembrado el microorganismo, de esta forma se genera un gradiente de concentración del antimicrobiano. La sensibilidad del microorganismo está indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del sensidisco¹⁹.

El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorios (en inglés *Clinical and Laboratories Standards Institute*, o CLSI, radicado en Pennsylvania, EUA), define el antibiograma como: un perfil general de los resultados de la susceptibilidad antimicrobiana de una especie microbiana frente a una batería de agentes antimicrobianos¹⁸.

Los resultados obtenidos pueden variar de manera considerable, según las condiciones experimentales, y cualesquiera que estas sean siempre estarán muy alejadas de las existentes in vivo, en el propio foco infeccioso. No obstante, el antibiograma ofrece, por lo general, una información útil, acumulable y fácilmente comparable²⁰.

La información que proporciona el antibiograma tiene una gran repercusión clínica y epidemiológica ya que, por una parte, condiciona y guía la elección del tratamiento antimicrobiano ante un proceso de naturaleza infecciosa, y por otra puede utilizarse como estrategia para evitar el uso de determinados antimicrobianos de espectro excesivamente amplio en determinados casos o favorecer el uso de otros con un adecuado perfil de actividad e impacto ecológico. Por tanto, es una herramienta de gran importancia en las estrategias organizativas de apoyo a la mejor utilización de antibióticos²¹.

En el antibiograma se puede decidir qué antibióticos se informan y qué información se proporciona de cada antimicrobiano estudiado. La información se traduce en categorías clínicas (sensible, resistente u otras), cuyo objetivo ideal es predecir la eficacia clínica. Sin embargo, es necesario recordar que la eficacia clínica relacionada con el antimicrobiano utilizado dependerá además de otras variables,

como la utilización de una dosificación adecuada que permita alcanzar el parámetro farmacocinético - farmacodinámico (FC/FD) predictor de eficacia y, en cualquier caso, de la concentración que es capaz de alcanzar en el lugar de la infección, de la presencia de biopelícula, etc.²¹.

La interpretación del antibiograma presenta las características siguientes:

- Establecer la probabilidad de éxito o de fracaso terapéutico que se deriva de la utilización de los antimicrobianos frente a los microorganismos causantes de infección y estudiados en el antibiograma¹⁸.
- Utilizar los criterios se establecen por comités de expertos y generar en función del conocimiento microbiológico, los datos farmacológicos y la respuesta terapéutica, o sea, la correlación entre el antibiograma y el éxito terapéutico¹⁸.
- Realizar un análisis fenotípico de los resultados de las pruebas de sensibilidad fundamentada en el conocimiento de los mecanismos de resistencia y en su expresión¹⁸.
- Tiene como principal objetivo la detección de la resistencia y la predicción del fracaso terapéutico¹⁸.

La técnica se basa en lo descrito por Kirby-Bauer (Bauer et al., 1960). Según estos autores, el microorganismo deberá inocularse en la superficie de una placa de agar, sobre la cual se colocarán discos impregnados con una concentración conocida de antibiótico. Las placas se incubarán durante 15 horas a 35°C. Durante la incubación, el antibiótico difundirá radialmente desde el disco a través del agar de cultivo, por lo que su concentración irá disminuyendo a medida que se aleja del disco²².

MEDIO DE CULTIVO DEL GENERO *ENTEROCOCCOS*.

Estos microorganismos son considerados indicadores de la calidad sanitaria de las aguas y de algunos alimentos, por lo que su presencia en el ambiente indica contaminación de origen fecal. Por su elevada incidencia en las infecciones nosocomiales, su resistencia antimicrobiana, y por ser considerados indicadores de contaminación fecal, estos microorganismos han adquirido una importancia notable en la actualidad y se ha desarrollado una gran cantidad de medios de cultivo de

diferentes propósitos, tanto convencionales como cromogénicos y/o fluorogénicos, específicos para este género, que son empleados en los laboratorios de Microbiología de todo el mundo para lograr su aislamiento e identificación de muestras clínicas, aguas y algunos alimentos. La selección del tipo de medio a utilizar depende de la experiencia, así como también del tipo de muestra, el método de cultivo y del grado de contaminación de la muestra con otros organismos¹³.

Se ha desarrollado una amplia variedad de medios de cultivo para el aislamiento de *Enterococcus* de aguas, alimentos, orina, heces u otros tipos de muestras. En estos medios se emplean varios agentes selectivos dentro de los que se encuentran la azida de sodio, el cloruro de sodio, el acetato de talio, el telurito de potasio, el tiocianato de potasio, el etil violeta, el cristal violeta, el cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) y algunos antibióticos como, por ejemplo, kanamicina, gentamicina, ácido nalidíxico, ácido oxolínico, polimixina o colistina. Estos agentes inhiben el crecimiento de hongos y bacterias Gram-negativas y, a su vez, *Enterococcus* pueden metabolizarlos¹³.

Todas las especies de *Enterococcus* son capaces de crecer en presencia de 40 % de bilis y de hidrolizar la esculina, al igual que *Streptococcus* del grupo D, pero se diferencian de estos últimos porque muestran una respuesta positiva a la prueba de PYR (L-pirrolindonil β -naltil-amida). Todas las cepas producen leucinoaminopeptidasa (LAP), por lo que son positivas a esta prueba¹².

Las colonias en los medios agarizados, generalmente, se presentan incoloras a grises, que tienen de 2-3 mm de diámetro a los 2 días de incubación. *Enterococcus* pueden presentar hemólisis de tipo α , β o pueden ser no hemolíticos¹².

La azida de sodio es el inhibidor activo contenido en la mayoría de estos medios. Muchas bacterias aerobias y anaerobias facultativas obtienen energía mediante el metabolismo respiratorio característico de las enzimas llamadas citocromos. La azida sódica actúa inhibiendo la transferencia de hidrógeno a través del sistema citocromo, bloquea el hierro de la molécula de citocromo en el estado férrico, e impide así la transferencia final del electrón al oxígeno molecular¹³.

Existen otros factores que contribuyen a la selectividad de los métodos de cultivo, como son las condiciones de crecimiento, en especial, el pH del medio, la temperatura de incubación, así como la concentración de cada uno de los inhibidores. Los relativamente bajos valores de pH (6,0 o 6,2), así como una temperatura de incubación elevada (42°C o 45°C) son condiciones especiales de crecimiento para estos microorganismos. El uso correcto de los inhibidores, así como el incremento o disminución de las concentraciones de estos, también ofrece diferentes grados de selectividad al medio¹³.

En un medio a pH 7,0 la mayoría de *Enterococcus* reduce el tetrazolio a fomazán, y provoca la aparición de colonias rojas brillosas que pueden ser fácilmente identificadas; sin embargo, a pH 6,2 o cercano a 6,0 esa reacción es evidente solo para la especie *E. faecalis*, mientras que *E. faecium* y otros *Enterococcus* muestran solo una reacción débil, con colonias claras con un centro rojo o colonias ligeramente rosadas¹³.

MEDIO DE CULTIVO MUELLER HINTON.

El agar Mueller Hinton es un medio para realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco^{23,24}.

La composición del medio de cultivo Mueller Hinton permite el crecimiento de las bacterias no exigentes (enterobacterias, bacilos Gram-negativos no fermentadores, *Estafilococcus* y *Enterococcus*) encontrados en patología humana, mientras que garantiza mínimas interferencias entre los componentes del medio y el resultado de la prueba de susceptibilidad antimicrobiana. La concentración de iones divalentes en el medio está ajustada para asegurar una determinación más exacta de la sensibilidad de *Pseudomonas* frente a los aminoglicósidos y a las tetracilinas. La baja concentración de timina - timidina (inhibidores de sulfonamidas) restringe el crecimiento alrededor de los discos, permitiendo una medida más exacta de las zonas de inhibición. El uso del medio Mueller Hinton 2 está conforme con estándares NCCLS y CA-SFM²⁴.

Presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo. Cuando se suplementa con sangre de carnero al 5%, es útil para realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos²³.

Su composición de gramos por litro es: infusión de carne 300.0, peptona ácida de caseína 17.5, almidón 1.5 y agar 15.0 con un pH final: 7.3 ± 0.1 ²³.

PAPAYA.

Para empezar a hablar de la papaína, primeramente, debemos iniciar por su origen, el cual se encuentra en el fruto de la papaya, por lo que será descrito a fondo en los siguientes párrafos.

El árbol de papaya, tiene hojas grandes, de crecimiento rápido y perenne, puede alcanzar una altura de entre 10 metros y hasta 30 metros a la edad de 15 años, el peso de la fruta varía, entre 100g y 10kg. Su forma es oblonga, ovalada o redonda, el color de su pulpa es amarillo pálido o intenso, anaranjado o rojizo²⁵.

Presenta tres formas sexuales: femeninos, masculino y hermafrodita, la importancia del sexo radica en que los machos son improductivos, mientras que los femeninos son productores continuos y los hermafroditas pueden ser productores continuos y temporales²⁶.

El cultivo del papayo está limitado a regiones con clima tropical o sub tropical, se ha considera originario de la región que comprende desde el sur de México hasta Nicaragua²⁷.

El fruto de la papaya, también conocido como, fruta bomba, melón, palo papayo, papaya casera, papaya de castilla, papaya de pájaro, papaya real, papayo, papayito cimarron, zapote²⁸.

El árbol de papayo pertenece a la familia caricácea, del orden: parietales y especie: carica papaya²⁹ y es cultivado en terrenos de muy distinta naturaleza, pero es

fundamental que éstos sean ricos en materia orgánica y que contengan una humedad abundante³⁰.

El fruto contiene un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos linaloe, 6-7 epoxi-linalol, óxidos de cis y trans-linalol, beta-cis-ocimeno, 2-6-dimetil-octene-triol, y cuatro isómeros del 2-6-dimetil-octadienediol. Se han detectado los alcaloides campaina y piridina, y el beta-caroteno; este último componente también está presente en la cáscara de la fruta, así como epsilon-caroteno, criptoxantina, su derivado monoepoxi y licopeno. Del látex del fruto se han aislado las enzimas proteolíticas papaína, quimopapaína, quimopapaína A, y un compuesto azufrado, el benzil- glucosinolato. En las semillas se han identificado los alcaloides carpaína, carpasamina, los componentes azufrados carpasemina y benzil-tiocinato, además, un aceite fijo que contiene los esteroides dehidro-avenasterol, campesterol, colesterol, estigmasterol y delta-5-estigmasterol y el beta caroteno. En las hojas, además de ácido cafeico y beta-sitosterol, se han detectado un grupo de alcaloides que incluyen carpaína, dehidrocarpaína I y II, pseudo-carpaína, cotinina, miosmina, nicotina y colina²⁸.

Por su buen sabor y textura, la papaya se consume principalmente como fruta fresca; también en bebidas, mermeladas, dulces, frutas secas y cristalizadas. La fruta verde, hojas y flores, se usan como verdura cocida. Nutricionalmente, la papaya es una buena fuente de calcio y una excelente fuente de vitaminas; por ejemplo el aporte de vitamina A y C de una papaya mediana, supera el porcentaje mínimo del requerimiento mínimo de vitaminas al día en adultos²⁷.

Esta fruta se emplea de varias formas, ya que en las hojas y en el fruto hay proteínas y alcaloides con aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica como medicamento vegetal alternativo y el extracto seco de su látex (papaína) es considerado un digestivo poderoso y específico de las materias albuminoides, que se emplean diariamente en todas las farmacias fito terapéuticas o dispensariales^{25,31}.

Dentro de los diversos usos que se le ha dado a *Carica papaya L*, además del consumo de la pulpa del fruto, destacan el uso de las semillas en India como

desparasitante y antipirético, además las infusiones de flores frescas para combatir la tos y contra el impétigo³¹.

En México, la *Carica papaya* tiene gran importancia económicamente hablando, lo que lo hace atractivo para el agricultor, es el corto periodo de tiempo entre cultivo y cosecha, tiene un alto rendimiento, el corto desarrollo de la planta, haciendo que se intercalada con otros árboles frutales²⁷.

En su composición, se encuentra la papaína, que es una enzima proteolítica utilizada en la industria cervecera y en la industria cárnica³⁰.

PAPAÍNA.

Para poder conceptualizar a la papaína, tenemos que aclarar los siguientes términos.

Las enzimas son catalizadores muy potentes y eficaces, químicamente son proteínas²⁹. las proteínas son sustancias orgánicas nitrogenadas complejas. Son polímeros lineales en las que las unidades monoméricas son aminoácidos, que se pliegan de forma tridimensional, proporcionándoles varias funciones. Tienen una alta eficiencia y no se consumen en las reacciones, por tales razones, con poca cantidad de ellas se pueden transformar en producto grandes cantidades de sustrato³².

Cada enzima es específica, en el sentido de que puede actuar solamente sobre cierto sustrato; esto no quiere decir que haya una enzima para cada sustrato, sino que cada enzima actúa sobre sustancias que tienen en común una cierta identidad molecular. La actividad enzimática de algunas enzimas depende solamente de su estructura como proteína, mientras que otras necesitan uno o más componentes no proteicos llamados cofactores³².

Las enzimas proteolíticas (llamadas proteasas) pertenecen al grupo de las hidrolasas, ya que catalizan la degradación de otras proteínas hidrolizando los enlaces péptidos con diferentes grados de intensidad y de selectividad³².

El término papaína se aplica tanto a las preparaciones enzimáticas crudas obtenidas del látex, así como a las distintas fracciones proteicas que lo constituyen²⁵.

La papaína es una enzima tiolproteínasa, es decir, una enzima proteolítica cuyo centro activo posee un grupo -SH-. Se extrae del látex de la papaya³³.

La primera ocasión en la historia que se menciona el fruto de la papaya fue por Francisco Hernández, en el siglo XVI relata: "mana este antes de madurar, una leche buena contra el salpullido y los empeines, y ya maduro, un jugo que calma el dolor del vientre"²⁸.

El látex se encuentra bajo la cáscara de la papaya verde y plenamente desarrollada. Está contenido en unos pequeños vasos largos que se encuentran justamente debajo de la piel. Cuando estos vasitos son cortados, exudan un líquido claro como el agua, el cual se vuelve opaco por su exposición al aire, siendo este líquido la fuente más importante de papaína³⁰.

Para obtener la papaína bruta, el látex se obtiene por goteo haciendo incisiones longitudinales sobre la cascara de la fruta inmadura y siendo sometida a evaporación hasta la obtención de un sedimento granular. Posteriormente, el sedimento es disuelto en agua, precipitado en alcohol y por último, sometido a bajas temperaturas hasta la obtención de un polvo que es la papaína pura²⁵.

El rendimiento del látex es óptimo durante los dos primeros años de producción, se recomienda rayar frutos cuya edad este comprendida entre 2,5 – 3 meses de edad²⁶.

La papaína es una tiol proteasa cuyo centro activo es Cis 25, His 159, y Asp 15816. Presenta una amplia actividad proteolítica ante las proteínas, péptidos de cadena corta, enlaces amida y ésteres de aminoácidos Su peso molecular es de 23,000 Dalton y su pH óptimo es entre 3 y 7 el cual varía según el sustrato. Su número de clasificación es 3.4.22.2. Pertenece a la clase de las hidrolasas, tiene una amplia especificidad sobre las uniones peptídicas siendo una endopeptidasa (rompe enlaces peptídicos de sus sustratos que no están cerca de los extremos terminales de la proteína a romper)³³. Su punto isoeléctrico es de pH 8.75, tiene una constante

de sedimentación de 2.42 ± 0.04 seg, la constante de difusión de la papaína es de $10.27 \pm 0.13 \times 10^7 \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ y su rotación óptica (pH 5.7, 25°C) es de -66.7^{34} .

Aunque las soluciones de papaína tienen buena estabilidad a la temperatura, esta depende del pH. En condiciones ácidas son inestables, es decir, a valores de pH por debajo de 2.8 hay una pérdida significativa en la actividad. Para la enzima activa en solución, la pérdida de la actividad es de aproximadamente 1-2 % por día, probablemente como resultado de la autólisis o la oxidación. Una forma inactiva común de la papaína obtenida durante el aislamiento es una mezcla de disulfuro formado entre el grupo sulfhidrilo, sitio activo de la proteína y la cisteína libre³⁴.

Esta enzima es de baja especificidad que hidroliza tanto las proteínas como los péptidos de pequeño tamaño, amidas y ésteres. Preferentemente actúa sobre los aminoácidos básicos, leucina, glicina, así como sobre arginina, lisina y fenilalanina. Es activada por la cisteína (aminoácido), el tiosulfato (compuesto de azufre) y el glutatión. Es inhibida o inactivada por iones metálicos (zinc, cadmio, hierro, plomo), oxidantes (H_2O_2 , radicales libres, entre otros) y por agentes que reaccionan a los tioles (ácido ascórbico). La papaína no se absorbe, por lo que únicamente actúa a nivel de tubo digestivo en el humano³⁵.

La enzima se usa en estado líquido y tiene una duración mínima de seis meses estando refrigerada. La papaína posee ventajas frente a otras enzimas naturales en los siguientes aspectos: calidad y actividad enzimática, estabilidad en condiciones desfavorables de temperatura humedad y presión atmosférica, se encuentra en alta concentración en el látex que se extrae de la papaya y posee un alto valor comercial por la diversidad de usos que presenta³⁶.

USOS INDUSTRIALES DE LA PAPAÍNA.

Esta enzima se ha aplicado ampliamente en la industria, por ejemplo en la elaboración de bebidas, en la fabricación de gomas de mascar, en la industria cervecera, en ablandadores de carne, productos farmacéuticos digestivos, también se utiliza para aliviar heridas gangrenosas; en la industria textil se usa para suavizar

la lana y la seda, en la industria cosmética, para la fabricación de jabones y shampoo²⁷.

PROPIEDADES MEDICINALES DE LA PAPAÍNA.

Debido a sus características químicas esta enzima se ha empleado de manera exitosa en múltiples casos dentro de la medicina; por ejemplo, para agilizar las cicatrizaciones tanto en heridas internas como en externas de manera eficaz, contribuye en la cicatrización de úlceras plantares en pacientes con lepra y úlceras varicosas. Además, mejora el ritmo cardiaco, digiere proteínas muertas de modo que no influyan en el funcionamiento de las demás, disminuye inflamaciones intestinales y de las vías respiratorias permitiendo el tratamiento de edemas localizados como amigdalitis y faringitis, ayuda a conservar la piel sana, defiende al organismo de infecciones y alergias. También se ha demostrado que la *papaína* presenta acción antibacteriana pues inhibe el crecimiento de microorganismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* y Gram negativos como *Escherichia coli*, *Porphyromona vulgaris*, *Salmonella* entre otros. De igual forma es efectiva inhibiendo hongos levaduriformes como *Cándida albicans*. Actúa como laxante suave y combate el estreñimiento, facilita la digestión y es resistente al pH gástrico. Presenta acción antihelmíntica, en ratones infectados con larvas de *Heligmosomoides polygyrus* y en perros con *Ascaris lumbricoides*. Se ha descrito que la *papaína* es una de las plantas medicinales más usadas en la prevención de las complicaciones de la Diabetes mellitus como son las complicaciones vasculares, metabólicas, retinopatías, desórdenes digestivos, entre otros. La *papaína* se indica básicamente en la profilaxis y durante el tratamiento del daño causado por toxinas metabólicas en condiciones de degeneración crónica. Además, se ha observado que favorece el buen funcionamiento del hígado y páncreas, aunque su mecanismo de acción aún no se ha determinado, se cree que actúa inhibiendo la acción hepatotóxica del tetracloruro de carbono (CCl₄). Ayuda a disolver tumores cancerosos y linfáticos, hernias discales y formaciones anormales que se producen en las arterias en ciertas formas de arterioesclerosis³⁷.

Se le han descubierto propiedades en el tratamiento de alteraciones hepáticas y dolores lumbares; su uso médico ha sido aprobado para el tratamiento de estos últimos, mediante la inyección de la enzima al líquido céfalo raquídeo de la espina dorsal con el fin de disipar los dolores del disco intervertebral³⁸.

Forma parte de suplementos dietéticos, debido a su capacidad de favorecer el proceso digestivo³⁸.

En el municipio de Taxco Guerrero México, es utilizada para el estreñimiento, como antidispéptico y para disolver coágulos post-operatorios, para esto se licua el fruto con agua, tomando un vaso grande o mediano³⁹.

EFFECTOS ADVERSOS DE LA PAPAÍNA.

Pero como todo agente ajeno al organismo, la papaína también puede ocasionar algunos efectos adversos a este, los cuales son.

El peso molecular de la enzima es de 23.000 Da lo que le da capacidad de comportarse como alérgeno completo, también se ha demostrado reactividad cruzada con otras frutas (plátano, aguacate, kiwi, albaricoque, castaña, uva, fruta de la pasión y piña) y látex. Por otra parte, puede producir reacciones por contacto, inhalación o ingestión, siendo la vía inhalada la más importante, ya que puede causar asma e incluso anafilaxia. Parece ser que, en el desarrollo de síntomas, la concentración de papaína es un factor más importante que un prolongado tiempo de exposición⁴⁰.

Hay reportes en los que el látex de plantas como la *carica papaya*, induce contracciones espasmódicas del músculo uterino, similar a la oxitocina⁴¹.

Se han descrito propiedades abortivas en ratas hembras. Mientras que, en ratas y conejos machos, se encontró una disminución en el recuento y movilidad de los espermatozoides. El tratamiento de ratas con extracto de papaya en una dosis de 200 mg / kg / día durante periodos de 1 y 8 semanas reveló hipertrofia pronunciada en las características del semen y su ultra estructura. Las ratas tratadas con una dosis menor de 50 mg / kg mostraron leve hipertrofia. Estos resultados sugieren que

las funciones reproductivas de las ratas macho fueron influenciadas por el efecto y la interacción del extracto de *Carica papaya*. Los investigadores se dieron cuenta de que la normalidad completa en los ratones fue restaurada en un período de 45 días⁴².

También, se ha señalado que al administrar dosis de 800 mg/kg peso a ratas hembras a partir del día uno hasta el día diez post-coito se produjeron malformaciones en el feto³⁷.

Por lo que podemos concluir que la papaína puede tener los efectos embriotóxico, teratógeno y abortivo a altas dosis.

PAPAÍNA EN ODONTOLOGÍA.

Mientras que, en la odontología también ha sido empleada esta enzima, se tiene el registro de que en los años de 1930 a 1940 se emplearon enzimas proteolíticas dentro del tratamiento de conductos como soluciones irrigantes, pues se creía que tenían la capacidad de disolver los tejidos. Lo anterior se debe a que estos compuestos, tienen la acción farmacológica común de favorecer la eliminación de los exudados purulentos, disminuir la viscosidad de los edemas, facilitar la llegada de los antibióticos y mejorar la evolución del trastorno inflamatorio⁴³. Fue así como la papaína ezymol fue empleada en los tratamientos endodónticos^{43,-45}.

La papaína es utilizada en la elaboración de la pasta dental en estudio debido a que actúa directamente sobre los cúmulos de la placa proteica y bacteriana y sobre el cálculo dental, sin alterar el esmalte dental, garantizando un pH neutro, que no solo permite la acción de los componentes, sino que además protege la hidroxiapatita del esmalte de una desmineralización provocada por ambientes ácidos³⁴.

PAPACARIE®

La papaína en odontología ha sido ampliamente aplicada para la remoción de caries de manera atraumática con muy buenos resultados en pacientes pediátricos,

mediante un producto en gel llamado Papacarie®, siendo la papaína el componente principal del producto^{46, 47, 38}.

En Brasil en el 2003, es lanzado al mercado un producto en forma de gel³⁸, el gel Papacarie®, es utilizado como agente químico en las técnicas de eliminación de caries de los ART (Tratamiento Restaurador A traumático) consiste en la mínima intervención, por medio de la remoción de la dentina infectada de las cavidades cariosas, con instrumentos manuales y con aislamiento relativo⁴⁸.

Fue desarrollado por la Dra. Sandra Kalil Bussadori, odontopediatra y profesora de las Universidades de Sao Paulo y Metropolitana de Santos y por la Dra. Marcia Maziara, de la casa farmacéutica Fórmula y Acción, junto con el registro de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (Anvisa)⁴⁶.

Sus componentes son: Papaína, su acción es facilitada por medio de una incisión o perforación en el tejido cariado, proporciona alineamiento de las fibras de colágeno, promoviendo el crecimiento tisular uniforme. Cloramida, compuesto formado por la combinación del hipoclorito de sodio y del nitrógeno amino, ablandar químicamente la dentina cariada, mediante la cloración de la porción degradada del colágeno. Azul de toluidina, este es un colorante que potencializa la acción antimicrobiana del gel⁴⁹.

Cada componente del Papacarie® tiene una acción sinérgica que facilita la remoción del tejido cariado³⁸.

Su mecanismo de acción es: la papaína actúa apenas en el tejido lesionado debido a la ausencia de una antiproteasa plasmática, la α_1 -anti-tripsina, que impide su acción proteolítica en tejidos considerados normales. La α_1 -anti-tripsina inhibe la digestión de proteínas. Una vez presente, la papaína contribuirá para la degradación y eliminación de la "capa" de fibrina formada por el proceso de caries⁵⁰.

Sus indicaciones son, para cualquier tipo de lesión de caries, en pacientes con necesidades especiales, odontopediatría, adultos fóbicos y también en salud pública. Tiene como principales ventajas el hecho de ser una técnica a traumática, efectiva, de bajo costo, fácil aplicabilidad y que no necesita de aparatos tecnológicos para ser realizada⁴⁸.

En varios estudios se ha demostrado que Papacarie® es un gel biocompatible. En uno de ellos el gel fue evaluado in-vitro para ver la citotoxicidad en cultivo fibroblastos a diferentes concentraciones de papaína (2, 4, 6, 8 y 10 %). Y se llegó a la conclusión que, cualquiera de los concentraciones de papaína era factible y haciendo a Papacarie® una alternativa segura, no citotóxica en el cultivo in-vitro de fibroblastos y también es biocompatible a los tejidos orales⁵¹.

IRRIGACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE CONDUCTOS.

La importancia de mencionar en esta investigación a la irrigación de los conductos radiculares durante el tratamiento endodóntico radica en lo siguiente.

La eliminación de restos vitales y necróticos remanentes del tejido pulpar, microorganismos y toxinas microbianas del sistema de conductos radiculares son esenciales para conseguir éxito en el tratamiento de conductos radiculares. Es muy complicado dar forma y limpiar el conducto completamente, debido a la gran complejidad del sistema de conductos radiculares. Incluso con el empleo de la instrumentación rotatoria, los instrumentos de níquel-titanio disponibles sólo actúan sobre el cuerpo central del conducto, abandonando istmos, deltas, conductos laterales, etc. Estas áreas podrían albergar restos de tejido, microorganismos y sus bioproductos, que podrían impedir la correcta adaptación del material de obturación y causar posteriormente una inflamación perirradicular. De esta forma, la irrigación es una parte esencial y fundamental en la preparación del conducto radicular, ya que permite llegar a donde la instrumentación no lo consigue⁵².

Una generosa irrigación es esencial para que la función de las limas resulte eficaz. Sin irrigación, los instrumentos pierden rápidamente su eficacia debido a la acumulación de los detritos. Cuando se dispone de un entorno húmedo durante la preparación de un conducto, las limaduras de dentina rebotan hacia la cámara, de donde pueden ser extraídas mediante aspiración o con la ayuda de puntas de papel⁵³.

Sus objetivos dentro del tratamiento son; retirar los restos presentes de dentina para evitar el taponamiento del conducto radicular con una correcta disolución de los

agentes orgánicos e inorgánicos que se produce en la superficie de la dentina por la acción de la instrumentación y se compacta en el interior de los túbulos dentinarios. Deberá tener una acción antiséptica o desinfectante, debe ser lubricante, sirviendo de medio de lubricación para la instrumentación del conducto radicular su acción blanqueadora, debido a la presencia de oxígeno en el medio⁴⁵.

El agente irrigante debe cumplir con las siguientes características; Ser bactericida o bacteriostático, debe actuar contra hongos y esporas. Baja toxicidad, no debe ser agresivo para los tejidos periradiculares. Solvente de tejidos o residuos orgánicos e inorgánicos. Baja tensión superficial. Eliminar la capa de desecho dentinario. Lubricante. Otros factores: aplicación simple, tiempo de vida adecuado, fácil almacenaje, costo moderado, acción rápida y sostenida⁴⁴.

Se han utilizado diversas sustancias para la irrigación del sistema de conducto radicular, como son:⁵⁴.

- Soluciones químicamente inactivas: Solución salina, agua, soluciones anestésicas.
- Soluciones químicamente activas:
 - Enzimas: estreptoquinasa, estreptodornasa, papaína enzymol y tripsina.
 - Ácidos: a. fosfórico al 50%, a. sulfúrico al 40%, a. cítrico de 6 a 50%, a. láctico al 50%, a. clorhídrico al 30%.
 - Álcalis: Hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio en agua (agua de cal), urea, hipoclorito de sodio de 0,5% a 5,25%.
 - Agentes quelantes: sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético del 10 al 15% (EDTA), sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con peróxido de urea (RC-Prep), sal disódica del ácido etilendiaminotetraacético con Cetavlon o bromuro de cetil-trimetilamonio (EDTAC), acetato de bisdequalinium (Salvizol), largal ultra.
 - Agentes oxidantes: peróxido de hidrógeno al 3% y peróxido de urea (Gly-Oxide)

- Agentes antimicrobianos: clorhexidina del 0,2 al 2% Detergentes: lauril sulfato sódico (tergentol).

En los dientes con vitalidad pulpar la ausencia de contaminación bacteriana incipiente excluye el uso de productos antisépticos y en su lugar se recomienda la aplicación de sustancias biocompatibles, que respeten el remanente pulpar y los tejidos periapicales, para favorecer la reparación. En los dientes sin vitalidad, la irrigación ayuda a la desinfección del conducto radicular y a la neutralización de las toxinas presentes en el contenido necrótico. La preferencia es, entonces, por productos con acción antiséptica, poder de disolución de material orgánico y capacidad de neutralizar las toxinas sin agredir los tejidos periapicales⁵⁵.

CLORHEXIDINA.

La clorhexidina se desarrolló en la década de los años cuarenta en los laboratorios de investigación de Imperial Chemical Industries Ltd. (Macclesfield, Inglaterra). Inicialmente, una serie de polibisguanidas fueron sintetizadas para obtener sustancias antivirales. Sin embargo, estas tenían poca eficacia antiviral y fueron dejadas de lado hasta que fueron re-descubiertas unos años más tarde como agentes antibacterianos⁵².

La clorhexidina es un antiséptico catiónico bacteriostático y bactericida, con acción prolongada dependiente de su capacidad de absorción a las superficies, desde donde se libera con lentitud⁵⁶. Es derivado del clorofenilbiguanido (bisbiguanida), de carga positiva catiónica, que posee un amplio espectro de acción sobre varios microorganismos⁵⁷.

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua. La clorhexidina absorbida se libera gradualmente en 8-12

horas en su forma activa, Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. El desarrollo de resistencias es muy escaso. También disminuye los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54-97% en un periodo de seis meses. En un periodo de 2 años no se desarrollan resistencias ni presencia de oportunistas o efectos adversos en la cavidad oral⁵⁷.

Dependiendo de su concentración, la clorhexidina CHX puede tener efecto bacteriostático y/o bactericida. En altas concentraciones actúa como un detergente, y al dañar la membrana celular causa precipitación del citoplasma y por tanto ejerce un efecto bactericida. En concentraciones bajas, la CHX es bacteriostática, produciendo la pérdida de sustancias de bajo peso molecular, como por ejemplo potasio y fósforo, lo que daña en forma reversible a la célula. También puede afectar el metabolismo celular de varias otras formas tal como el transporte de azúcar e inhibiendo la producción de ácidos en algunas bacterias⁵⁸.

CLORHEXIDINA EN ODONTOLOGÍA.

El digluconato de Clorhexidina es reconocida como un efectivo agente antimicrobiano oral y, rutinariamente, es usado en la prevención de la caries y en la terapia periodontal. Desde los años cincuenta, se ha usado en la forma de la sal, como antiséptico bucal en enjuagues, como dentífrico y en forma de chicle. Puede ser usada en endodoncia como irrigante y como medicamento intraconducto⁵⁹.

Barnices (Acetato de Clorhexidina): para la prevención de caries y sellado de los túbulos dentinarios. Colutorio: se lo emplea en concentraciones del 0.12 al 0.2%, enjuagando la boca durante medio minuto, 2 veces al día con 10-15 ml de solución. Para el tratamiento de infecciones causadas por la dentadura postiza se recomienda lavar la dentadura y sumergirla en la solución de Clorhexidina durante 15 minutos, dos veces al día. No se recomienda el uso de la solución de Clorhexidina en niños.

Solución Irrigadora: se lo emplea al 2% para lavar conductos radiculares en casos de tratamientos y retratamientos, ápices abiertos, alergia al hipoclorito de sodio o como vehículo acuoso con hidróxido de calcio (en estudio). Dentífricos: se la utiliza en concentraciones del 0.12 al 0.2%; debido a su carga positiva, no debería incorporarse a los dentífricos tradicionales, debido a que interfiere con el Lauril Sulfato de Sodio, que es el detergente tradicional de los dentífricos, y con el Mono Fluor Fosato de Sodio, ambos con cargas eléctricas aniónicas (negativas); idealmente, un dentífrico a base de Clorhexidina debe ser exclusivamente de Clorhexidina. En aplicaciones tópicas como antiséptico de la cavidad bucal en concentraciones del 2%. Gel: en concentraciones de 2%. Chip: para liberación controlada del fármaco, colocado subgingivalmente en la bolsa periodontal recién raspada y alisada; no tuvo el éxito esperado⁵⁷.

Se debe tener en cuenta que la Clorhexidina se activa en presencia de materia orgánica. No debe mezclarse con otros antisépticos, ya que puede precipitarse; además, es incompatible con jabones, yodo y fenoles. La solución de Clorhexidina es exclusivamente para uso local y no debe tragarse. La preparación contiene alcohol al 12%, lo que preocupa a los profesionales y pacientes que saben que el uso regular de alcohol incrementa el riesgo de cáncer bucofaríngeo⁵⁷.

CLORHEXIDINA COMO IRRIGANTE RADICULAR.

El uso de la clorhexidina fue a probado en septiembre de 1986 en la Food Drug Administration (FDA) y el Council on Dental Therapeutics of American Dental Association como irrigante radicular⁵⁶.

La clorhexidina (solución o gel) está siendo utilizada en endodoncia como irrigante y medicación intraconducto debido a su alto poder antimicrobiano, baja citotoxicidad y porque su efecto se mantiene por varias horas después de su aplicación⁵⁸.

Por su baja toxicidad se la recomienda como irrigante en pacientes alérgicos al hipoclorito, e igualmente puede ser utilizada en piezas dentarias con ápices abiertos o inmaduros y en dientes con perforaciones radiculares. Para obtener sus óptimas propiedades, se evaluó su uso combinado en los conductos radiculares, y se llegó

a la conclusión de que su asociación produjo el más alto porcentaje de reducción de cultivos positivos post irrigación⁵⁷.

Presenta las siguientes propiedades ideales para la terapia endodóntica⁵⁶:

- Baja tensión superficial; para poder penetrar en conductos accesorios y túbulos dentinales.
- Lubricante; ayuda a que los instrumentos se deslicen dentro del conducto.
- Acción Bactericida; efectos antimicrobianos como el hipoclorito de sodio, sustancia antibacteriana activa contra un amplio rango de microorganismos
- Gram-positivos y Gram-negativos, levaduras, hongos, anaerobios facultativos y aeróbicos.
- Relativamente inocua.
- No tiene olor desagradable.
- No es caustica como el hipoclorito de sodio (NaOCl).
- Actividad residual de varias horas después de la instrumentación.
- Fácil almacenamiento y manipulación.
- Baja toxicidad; bajo potencial de irradiación a los tejidos. La naturaleza catiónica de la clorhexidina minimiza su absorción a través de la piel y de la mucosa, incluida las vías gastrointestinales. Por lo tanto, no se ha descrito toxicidad sistémica por aplicación tópica o ingestión ni tampoco hay evidencias teratógenos en modelo animal.

Las desventajas de la clorhexidina son que: presenta un alto costo, no disuelve tejido, mancha o pigmenta la estructura dentaria, sabor amargo y menos común, causa erosión de la mucosa por alteraciones en las células epiteliales superficiales en algunas personas; este efecto colateral depende de la concentración y habitualmente puede ser controlado con enjuagues de doble dilución⁵⁶.

La concentración más recomendada para la desinfección de conductos es del 2%, y al ser comparada con otras sustancias irrigantes generalmente con el hipoclorito de sodio, muestra un efecto antimicrobiano similar sin embargo la clorhexidina tiene la característica de continuar su liberación durante las 48 a 72 horas posteriores a

la instrumentación por lo que además está siendo utilizada como medicamento intraconducto. El gluconato de clorhexidina al 2% ha demostrado un buen efecto sobre especies bacterianas anaerobias en el interior de los conductos radiculares. Comprobaron que frente a *Enterococcus faecalis* el hipoclorito sódico al 5,25% era tan eficaz como el gluconato de clorhexidina al 2%. Hallaron mayor eficacia antibacteriana con la solución de clorhexidina que con la de hipoclorito sódico a las concentraciones mencionadas, con una acción más rápida de la primera⁵⁸.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La cavidad oral alberga microorganismos que son parte importante para la salud, cuando se encuentran en un estado de equilibrio, sin embargo, cuando se rompe dicho equilibrio surge la enfermedad, y si no se trata adecuadamente los microorganismos se vuelven resistentes a los antimicrobianos, por lo tanto, hemos llegado a la búsqueda de alternativas de origen natural para la terapéutica de ciertas patologías pulpares.

Por ello diversos autores se han enfocado a estudiar el método alternativo de la papaína.

¿Cuál es la eficacia de la papaína in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* comparado con la clorhexidina?

HIPÓTESIS.

La enzima papaína posee propiedades bactericidas y bacteriostáticas semejantes a la clorhexidina en pruebas in vitro ante el *Enterococcus faecalis*.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar la eficacia bactericida y/o bacteriostática de la papaína in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* comparado con la clorhexidina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Analizar la actividad antimicrobiana de la papaína y sus diluciones acuosas en cepas del *Enterococcus faecalis*.
- Determinar la sensibilidad de la cepa *Enterococcus faecalis* experimenta ante la papaína.
- Determinar la diferencia de actividad antimicrobiana de la papaína y clorhexidina.

MATERIAL Y MÉTODOS.

FÍSICOS:

- ✓ Laboratorio de fes- Zaragoza de campus I
- ✓ Laboratorio de Producción de campus 1
- ✓ Programa spss
- ✓ Bancas
- ✓ Mesas
- ✓ Papelería
- ✓ Computadora
- ✓ Cámara fotográfica

MATERIALES:

- ✓ Bata blanca
- ✓ Cajas de Petri con Medio de cultivo Agar de Mueller Hinton
- ✓ Cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC (American Type Collection Culture)
- ✓ Hisopos estériles
- ✓ Discos de papel filtro estériles
- ✓ Polvo de papaína y extracto de papaína y sus diluciones
- ✓ Mechero
- ✓ Clorhexidina
- ✓ Asas
- ✓ Agujas de 3ml estériles
- ✓ Cinta maskin tape
- ✓ Pipeta de 5ml y 10ml
- ✓ Gradilla
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Agua destilada
- ✓ Pinzas
- ✓ Regla vernier
- ✓ Solución salina estéril
- ✓ Incubadora
- ✓ Soluciones buffer

DISEÑO METODOLÓGICO.

- Tipo de estudio: estudio cuantitativo, experimental con enfoque comparativo, longitudinal y prolectivo.

UNIVERSO.

- Universo. Medios de cultivo.
- Muestra. Cepas de *Enterococcus faecalis*
- Criterios de inclusión: cepas de *Enterococcus faecalis*, papaína y clorhexidina.
- Criterios de exclusión: cepas de otros microorganismos y medios de cultivos no selectivos para *Enterococcus faecalis*.

VARIABLES.

- Dependiente.

Variable	Definición	Clasificación	Nivel de medición
<i>Enterococcus faecalis</i>	coco entérico Gram-positivo, anaerobio facultativo	Cuantitativa Discontinua	Bacteria.

- Independiente

Variable	Definición	Clasificación	Nivel de medición.
Papaína	enzima tiolproteínasa, es decir, una enzima proteolítica cuyo centro activo posee un grupo -SH-. Se extrae del látex de la papaya	Cualitativa Nominal Discontinua.	Bacteriostático.
Clorhexidina	antiséptico catiónico bacteriostático y bactericida, con acción prolongada dependiente de su capacidad de absorción a las superficies, desde donde se libera con lentitud	Cualitativa Nominal Discontinua.	Bactericida.

TÉCNICA.

Se realizaron diferentes tipos diluciones de la enzima papaína debido a que la enzima que se ocupó no funciono a causa de que no estaba totalmente estéril y no fue grado reactivo, por lo que se creyó que utilizando el pH optimo se podría activar la enzima.

Las sustancias con las que se diluyo la enzima papaína fueron:

- Agua destilada.
- Alcohol etílico al 70%°
- Solución buffer p.H. 3
- Solución buffer p.H.5
- Solución buffer p.H 5.4
- Solución buffer p.H. 5.5

Para la obtención de todas las distintas diluciones de la papaína se empleó el siguiente procedimiento (de manera didáctica únicamente se mencionará lo realizado con el agua destilada, pero este procedimiento fue empleado de igual forma con el alcohol al 70%°, soluciones buffer pH. 3, pH 5 y pH. 5.5).

- a) Fueron necesarios 11 frascos de color ámbar de 5ml.
- b) Todos los frascos se rotularon del #1 al #11, asignándole un número a cada frasco.
- c) Con ayuda de una báscula analítica se pesó un gramo de extracto de papaína puro.
- d) Al frasco con el rotulo número 1 se le agregaron 2 ml de agua destilada.
- e) A los frascos rotulados del 2 al 11 se agregó 1 ml de agua destilada.
- f) Al frasco #1 se le añadió el gramo del extracto de papaína puro que previamente se pesó.
- g) Con una pipeta de 5ml se tomó 1ml del frasco #1 y se adicionó al frasco rotulado con el número #2, se agitó hasta homologar el contenido.
- h) Con la misma pipeta se tomó 1ml del frasco #2 y agregó al frasco #3, agitó hasta homogenizar el contenido
- i) Posteriormente, con la pipeta se tomó 1ml del frasco #3 y se adicionó al frasco #4, se agitó hasta homogenizar el contenido.

- j) Para los frascos #5, #6, #7, #8, #9, #10 y #11 se repitió la operación descrita en el paso anterior.

De igual forma se realizaron diluciones entre extracto de papaya, debido a que el extracto de enzima papaína no tuvo efecto antibiótico.

El extracto de papaya se mezcló con:

- Agua destilada.
- Alcohol etílico al 70%
- Solución buffer p.H. 3
- Solución buffer p.H.5
- Solución buffer p.H 5.4
- Solución buffer p.H. 5.5

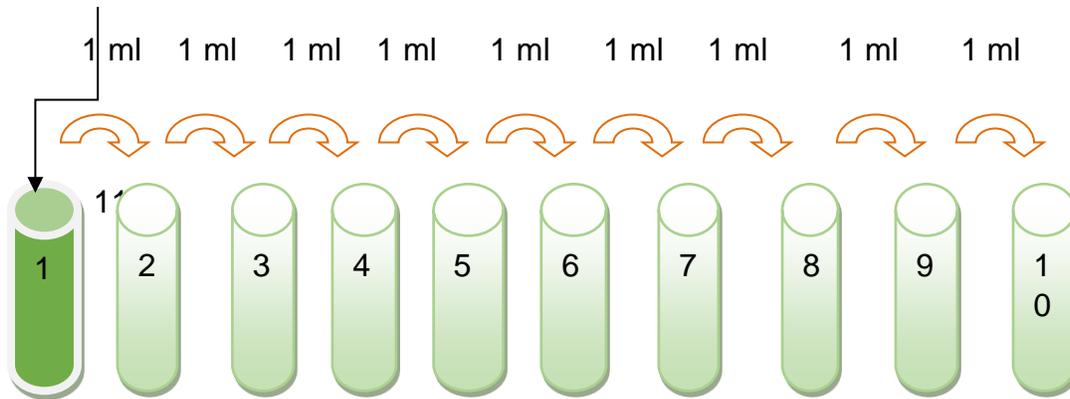
Para la obtención de todas las distintas diluciones del extracto de papaya se empleó el siguiente procedimiento (de manera didáctica únicamente se mencionará lo realizado con alcohol al 70%, pero este procedimiento fue empleado de igual forma con, soluciones buffer p.H. 3, y pH. 5.5).

- a) Fueron necesarios 11 frascos de color ámbar de 5ml.
- b) Todos los frascos se rotularon del #1 al #11, asignándole un número a cada frasco.
- c) Para la obtención del extracto de papaya se eligió una papaya mediana y tierna.
- d) La papaya se lavó con agua y se le quitó la cascara.
- e) Se molieron en la licuadora 10gr del fruto ya sin cascara ni semillas.
- f) Al frasco con el rotulo número 1 se le agregan 2 ml de alcohol etílico 96°.
- g) A los frascos rotulados del #2 al #11 se agregó 1ml de alcohol etílico 96°.
- h) Al frasco #1 se le añadió un gramo del extracto de papaya obtenido previamente.
- i) Con una pipeta de 5ml se tomó 1ml del frasco #1 y se adicionó al frasco rotulado con el número #2, se agitó hasta homogenizar el contenido.
- j) Con la misma pipeta se tomó 1ml del frasco #2 y adicionó al frasco #3, agitándolo hasta homogenizar el contenido.

- k) Posteriormente, con la pipeta se tomó 1ml del frasco #3 y se adicionó al frasco #4, se agitó hasta homogenizar el contenido,
- l) Para los frascos #5, #6, #7, #8, #9, #10 y #11 se repitió la operación descrita en el paso anterior.



Ejemplo de lo realizado para la obtención de las diluciones



Para la realizar la prueba de susceptibilidad entre la papaína con la clorhexidina y el extracto de papaya y la clorhexidina se compraron agar Mueller Hinton en placa.

El agar Mueller Hinton es un medio para realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en disco.

Su composición de gramos por litro es:

- infusión de carne 300.0
- peptona ácida de caseína 17.5
- almidón 1.5
- agar 15.0
- con un pH final: 7.3 ± 0.1

Para las pruebas de susceptibilidad con diluciones de papaína se realizó lo siguiente:

- a) El *Enterococcus faecalis* se inoculo de manera masiva en la superficie de una placa de agar con ayuda de una aza bacteriológica
- b) Sobre la placa, ya con el *Enterococcus faecalis*, se colocaron 11 discos de papel filtro impregnados con alguna de las diferentes diluciones de la papaína (con agua destilada, solución buffer p.H 3, p.H 5, p.H 5.4 o p.H 5.5 y alcohol etílico al 70%) cada disco corresponde a un grado de una sola dilución que se preparó al inicio.
- c) Estos discos se colocaron en el contorno de la placa.
- d) Mientras que en el centro de la placa se colocó un disco impregnado con clorhexidina al 2%.
- e) Las placas se incubaron durante 15 horas a 35°C. Durante la incubación, el antibiótico difundirá radialmente desde el disco a través del agar de cultivo, por lo que su concentración irá disminuyendo a medida que se aleja del disco
- f) Se tomaron fotografías de las pruebas después de ser incubadas.
- g) Se midieron los halos de inhibición con un vernier.

Para las pruebas de susceptibilidad con diluciones de extracto de papaya se realizó lo siguiente:

- a) El *Enterococcus faecalis* se inoculo de manera masiva en la superficie de una placa de agar con ayuda de una aza bacteriológica
- b) Sobre la placa, ya con el *Enterococcus faecalis*, se colocaron 11 discos de papel filtro impregnados con alguna de las diferentes diluciones del extracto de papaya (con agua destilada, solución buffer p.H 3, p.H 5, p.H 5.4 o p.H 5.5 y alcohol etílico al 70%) cada disco corresponde a un grado de una sola dilución que se preparó al inicio.
- c) Estos discos se colocaron en el contorno de la placa.
- d) Mientras que en el centro de la placa se colocó un disco impregnado con clorhexidina al 2%.

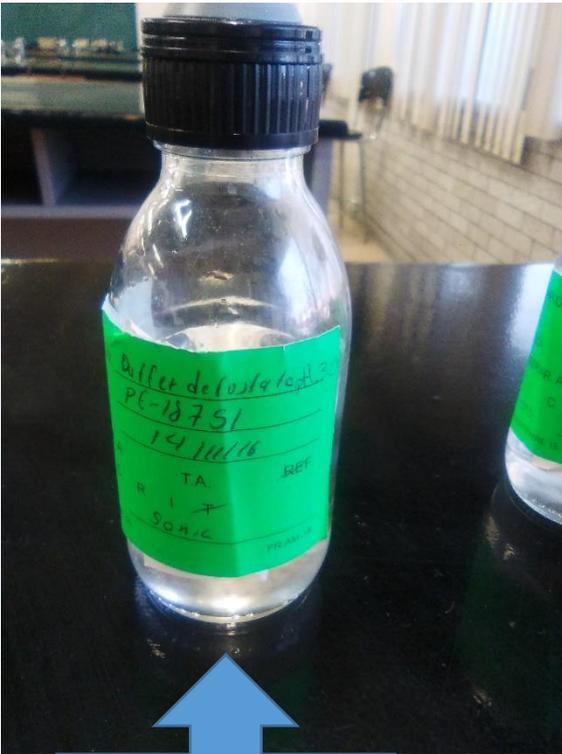
- e) Las placas se incubaron durante 15 horas a 35°C. Durante la incubación, el antibiótico difundirá radialmente desde el disco a través del agar de cultivo, por lo que su concentración irá disminuyendo a medida que se aleja del disco
- f) Se tomaron fotografías de las pruebas después de ser incubadas.
- g) Los halos de inhibición se midieron con un vernier.



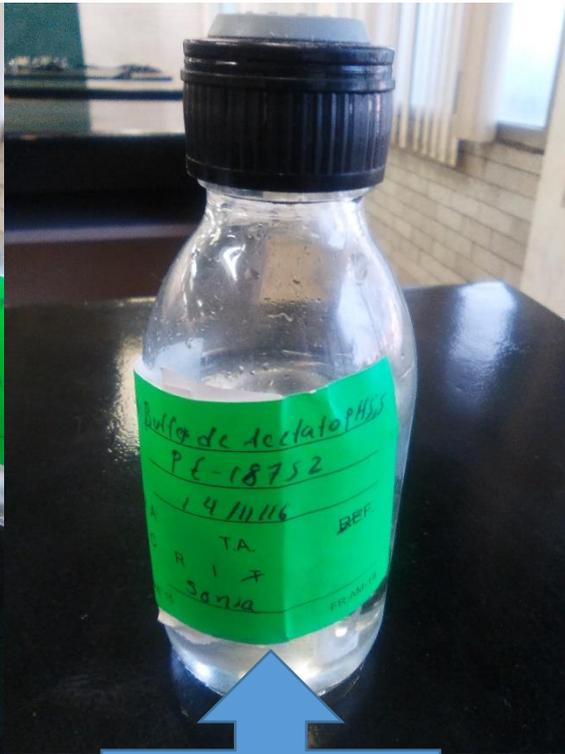
Papaína en polvo marca Bekare, jeringa estéril, frascos de 5ml, medios de cultivo agar Muller Hinton.



Pesando la papaína en
bascula analítica, para
preparar las disoluciones



Solución buffer pH 3



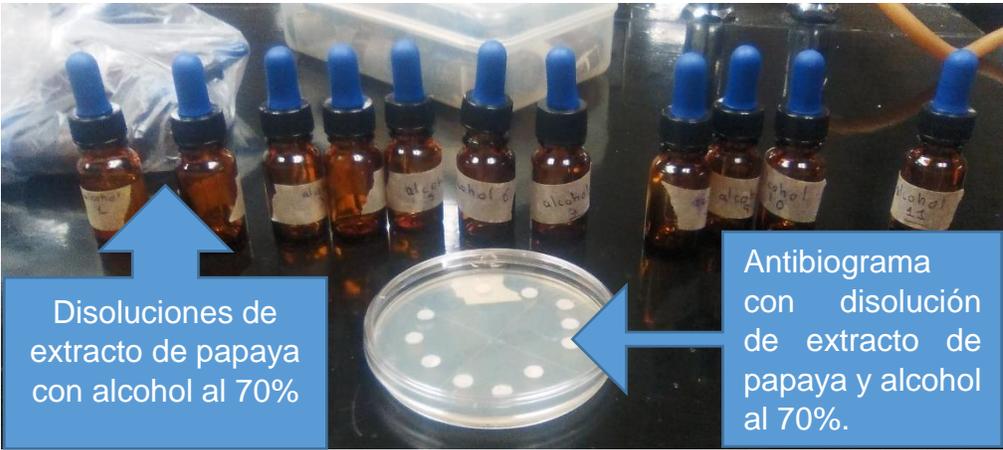
Solución buffer pH
5.5



Diluciones de pH 3



Realizando pruebas de susceptibilidad.



Disoluciones de extracto de papaya con alcohol al 70%

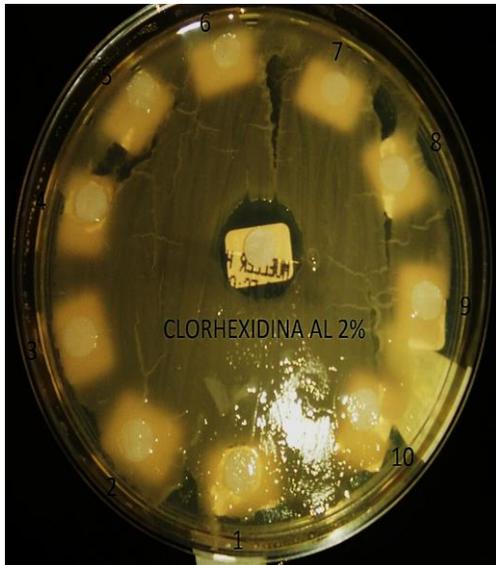
Antibiograma con disolución de extracto de papaya y alcohol al 70%.



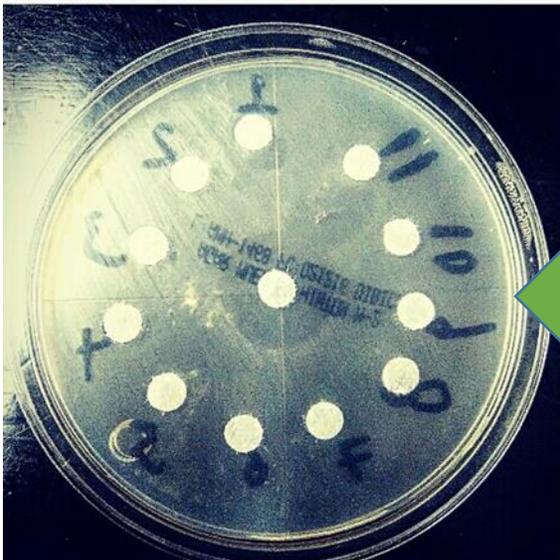
Extracto de papaya

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD DESPUÉS DE SER INCUBADAS.

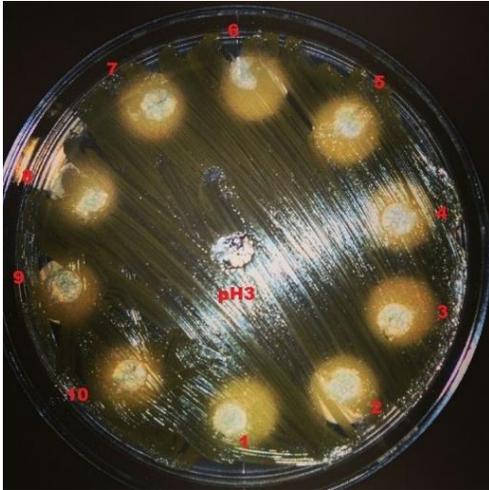
Prueba de susceptibilidad a diluciones de papaína con alcohol al 70%, agua destilada, soluciones buffer ph 3, 5, 5.4 y 5.5 sobre *Enterococcus faecalis*



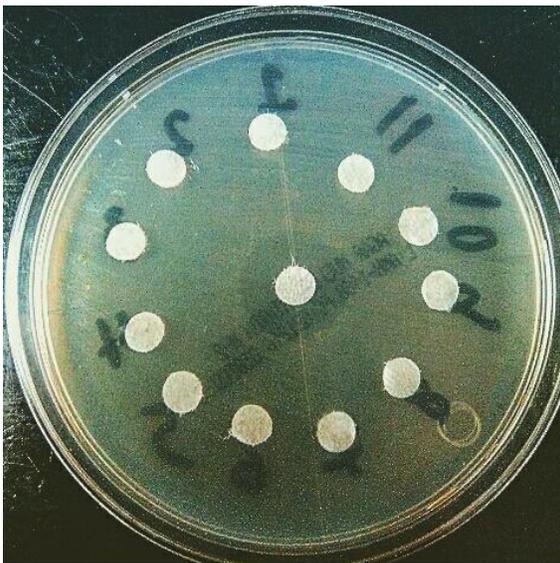
Lectura donde se empleó una dilución de papaína con agua destilada sobre *Enterococcus faecalis* donde únicamente se observa un halo de inhibición (al centro) correspondiente al papel filtro que contiene clorhexidina al 2%.



Se emplearon diluciones de papaína con solución buffer p.H 5.4 y alcohol al 70% por separado sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. No se obtuvo inhibición del microorganismo en los discos impregnados con esas diluciones. En el centro de cada prueba se colocó clorhexidina al 2% presentando inhibición de crecimiento para dicha bacteria.



Lectura, en la que se empleó papaína con pH. 3, no se observan halos de inhibición sobre cepas de *Enterococcus faecalis* a excepción del halo central correspondiente a clorhexidina



Lectura en la que se utilizó una disolución de papaína con pH. 5.5, donde únicamente se observa un halo de inhibición central contra cepas de *Enterococcus faecalis* que corresponde a la clorhexidina.

Prueba de susceptibilidad a clorhexidina al 2% y diluciones de extracto de papaya con alcohol al 70%, agua destilada, soluciones buffer ph 3, 5, 5.4 y 5.5 sobre *Enterococcus feacalis*.



Lectura, donde se empleó una disolución de extracto de papaya con pH. 5, donde se aprecia inhibición contra cepas de *Enterococcus feacalis* en el disco central que contenía clorhexidina



Lectura, donde se empleó una disolución de extracto de papaya y pH. 3. Se observa inhibición contra cepas de *Enterococcus feacalis* en el disco central correspondiente a la clorhexidina



Se empleó una disolución de extracto de papaya con pH. 5.4 donde se aprecia halos de inhibición contra cepas de *Enterococcus feacalis* muy tenues, esto es debido a que la papaína disuelta se encuentra diluida en todo el macerado. Lo mismo ocurrió con el ph 5.5



Lectura en la que se empleó una disolución de extracto de papaya con alcohol al 70%, se observa halo de inhibición contra cepas de *Enterococcus faecalis* en el disco central donde fue empleada clorhexidina



donde se empleó una disolución de extracto de papaya con agua destilada donde se aprecia inhibición contra cepas de *Enterococcus faecalis* en el disco central que contenía clorhexidina

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Las siguientes tablas muestran los milímetros de inhibición obtenidos por la clorhexidina al 2% y las distintas diluciones de papaína sobre *Enterococcus faecali*.

Papaína/agua destilada

Papaína/agua destilada	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
7		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
9		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Papaína/pH 3

Papaína/pH 3	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Papaína/pH 5

Papaína/pH 5 cajas	Dilución discos Halos de inhibición [mm]										solución madre	Clorhexidina	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Papaína/pH 5.4

Papaína/pH 5.4 Cajas	Dilución discos Halos de inhibición [mm]										solución madre	clorhexidina	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Papaína/pH 5.5

Papaína/pH 5.5	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Papaína/alcohol al 70%

Papaína/alcohol al 70%.	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1	10	7	3	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
2	11	6	3	2	0	0	0	0	0	0	0	11	14
3	10	6	3	2	0	0	0	0	0	0	0	12	13
4	11	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	13	13
5	11	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	11	13
6	11	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
7	10	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	11	14
8	10	6	3	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
9	10	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0	13	13
10	10	6	3	1	0	0	0	0	0	0	0	13	13

Las siguientes tablas muestran los milímetros de inhibición obtenidos por la clorhexidina al 2% y las distintas diluciones de extracto de papaya sobre *Enterococcus faecalis*.

Extracto de papaya/agua destilada

Extracto de papaya/agua destilada	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
2		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
4		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
6		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
7		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
8		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
9		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
10		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13

Extracto de papaya/pH 3

Extracto de papaya/pH 3	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
2		3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
3		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
4		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
5		3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
6		3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
7		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
8		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
9		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0
10		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0

Extracto de papaya/pH 5

Extracto de papaya/pH 5	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
2	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
3	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
4	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
5	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
6	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
7	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
8	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
9	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
10	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13

Extracto de papaya/pH 5.4

Extracto de papaya/pH 5.4	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
3	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
4	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
6	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
7	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
8	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
9	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
10	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13

Extracto de papaya/pH 5.5

Extracto de papaya/pH 5.5	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	clorhexidina
1	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
3	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
4	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
5	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13
6	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	14
7	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
8	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	14
9	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	13
10	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	13

Extracto de papaya/alcohol al 70%

Extracto de papaya/alcohol al 70%	Dilución discos Halos de inhibición [mm]												
	Cajas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	solución madre	Clorhexidina
1	10	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
2	10	7	3	2	0	0	0	0	0	0	0	11	14
3	11	7	2	1	0	0	0	0	0	0	0	12	13
4	12	6	3	1	0	0	0	0	0	0	0	13	13
5	11	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0	11	13
6	11	6	3	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
7	10	7	3	1	0	0	0	0	0	0	0	11	14
8	10	6	2	1	0	0	0	0	0	0	0	12	14
9	10	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13
10	10	7	3	1	0	0	0	0	0	0	0	13	13

Los datos fueron analizados en una computadora PC de 64 bits con sistema operativo Windows 10, procesador Intel Core i7-5500 a 2.40 GHz de 4 núcleos y con 12 Gb de memoria RAM.

Las bases de datos, se realizaron mediante el programa SPSS PC versión 21. Las operaciones algebraicas se efectuaron en la hoja de cálculo EXCEL 2013 de OFFICE Microsoft.

Interpretación:

- ✓ Si la significancia Sig. < 0.05, se concluye con un 95 % de confianza que existe diferencia entre el grupo de estudio con la Clorhexidina
- ✓ Si la significancia Sig. > 0.05, se concluye con un 95 % de confianza que NO existe diferencia entre el grupo de estudio con la Clorhexidina

Papaína en polvo

Agua destilada

Descriptivos

PAPAINA EN POLVO AGUA DESTILADA

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO DE PRUEBA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
CLORHEXIDINA	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Total	20	6.7500	6.93485	1.55068	3.5044	9.9956	.00	14.00

ANOVA de un factor

PAPAINA EN POLVO AGUA DESTILADA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	911.250	1	911.250	6561.000	.000
Intra-grupos	2.500	18	.139		
Total	913.750	19			

Papaína en polvo

pH 3

Descriptivos

PAPAINA EN POLVO pH 3

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO DE PRUEBA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
CLORHEXIDINA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	20	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00

ANOVA de un factor

PAPAINA EN POLVO pH 3

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	.000	1	.000	.	.
Intra-grupos	.000	18	.000		
Total	.000	19			

Papaína en polvo

pH 5

Descriptivos

PAPAINA EN POLVO pH 5

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO DE PRUEBA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
CLORHEXIDINA	10	13.5000	5.2705	1.6667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Total							.00	14.00

ANOVA de un factor

PAPAINA EN POLVO pH 5

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	911.250	1	911.250	6561.000	.000
Intra-grupos	2.500	18	.139		
Total	913.750	19			

Papaína en polvo

pH 5.4

Descriptivos

PAPAINA EN POLVO pH 5.4

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO DE PRUEBA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
CLORHEXIDINA	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Total	20	6.7500	6.93485	1.55068	3.5044	9.9956	.00	14.00

ANOVA de un factor

PAPAINA EN POLVO pH 5.4

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	911.250	1	911.250	6561.000	.000
Intra-grupos	2.500	18	.139		
Total	913.750	19			

Papaína en polvo

pH 5.5

Descriptivos

PAPAINA EN POLVO pH 5.5

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
GRUPO DE PRUEBA	10	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
CLORHEXIDINA	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Total	20	6.7500	6.93485	1.55068	3.5044	9.9956	.00	14.00

ANOVA de un factor

PAPAINA EN POLVO pH 5.5

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	911.250	1	911.250	6561.000	.000
Intra-grupos	2.500	18	.139		
Total	913.750	19			

Papaína en polvo

Alcohol al 70%

Descriptivos

PAPAÍNA EN POLVO ALCOHOL AL 70%

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
CLORHEXIDINA SOLUCIÓN MADRE	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
DILUCIÓN 1:2 DE SOLUCIÓN MADRE	10	12.0000	.81650	.25820	11.4159	12.5841	11.00	13.00
DILUCIÓN 1:4 DE SOLUCIÓN MADRE	10	10.4000	.51640	.16330	10.0306	10.7694	10.00	11.00
DILUCIÓN 1:8 DE SOLUCIÓN MADRE	10	6.4000	.51640	.16330	6.0306	6.7694	6.00	7.00
DILUCIÓN 1:16 DE SOLUCIÓN MADRE	10	2.5000	.52705	.16667	2.1230	2.8770	2.00	3.00
DILUCIÓN 1:32 DE SOLUCIÓN MADRE	10	1.2000	.42164	.13333	.8984	1.5016	1.00	2.00
Total	70	6.5714	5.14309	.61472	5.3451	7.7978	.00	14.00

ANOVA de un factor

PAPAÍNA EN POLVO ALCOHOL AL 70%

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1807.743	6	301.290	1090.879	.000
Intra-grupos	17.400	63	.276		
Total	1825.143	69			

PAPAÑA EN POLVO ALCOHOL AL 70%

Duncan^a

GRUPOS DE ESTUDIO	N	Subconjunto para alfa = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
DILUCIÓN 1:32 DE SOLUCIÓN MADRE	10	.0000						
DILUCIÓN 1:16 DE SOLUCIÓN MADRE	10		1.2000					
DILUCIÓN 1:8 DE SOLUCIÓN MADRE	10			2.5000				
DILUCIÓN 1:4 DE SOLUCIÓN MADRE	10				6.4000			
DILUCIÓN 1:2 DE SOLUCIÓN MADRE	10					10.4000		
SOLUCIÓN MADRE	10						12.0000	
CLORHEXIDINA	10							13.5000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.000.

Extracto de papaya

Agua destilada

Descriptivos

Extracto de papaya/agua destilada.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Grupo de prueba	10	0.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Clorhexidina	10	13.2000	.63246	.20000	12.7476	13.6524	12.00	14.00
Total	20	6.6000	6.78543	1.511727	3.4213	9.7757	.00	14.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/agua destilada

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	871.200	1	871.200	4356.00	.000
Intra-grupos	3.600	18	.200		
Total	874.800	19			

Extracto de papaya

pH 3

Descriptivos

Extracto de papaya/ pH 3.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina	10	0.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Solución madre	10	2.5000	.52705	.16667	2.1230	2.8770	2.00	3.00
Dilución 1:2 de solución madre	10	2.3000	.48305	.15275	1.9544	2.6456	2.00	3.00
Dilución 1:4 de dilución madre	10	2.0000	.0000	.0000	2.0000	2.0000	2.00	2.00
Dilución 1:8 de solución madre	10	1.0000	.0000	.0000	1.0000	1.0000	1.00	1.00
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.00	.00
Total	60	1.3000	1.3000	1.07829	1.0214	1.5786	.00	3.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/pH 3.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	64.000	5	12.900	150.261	.000
Intra-grupos	4.600	54	.085		
Total	68.600	59			

EXTRACTO DE PAPAYA pH 3

Duncan^a

Grupos de estudio	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	2	3	4
Clorhexidina	10	.0000			
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000			

Dilución 1:8 de solución madre	10		1.0000		
Dilución 1:4 de solución madre	10			2.0000	
Dilución 1:2 de solución madre	10				2.3000
Solución madre	10				2.5000
Sig		1.0000	1.0000	1.0000	.131

Se muestran las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.0000

Extracto de papaya

pH 5

Descriptivos

Extracto de papaya/a pH 5.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13 .00	14.00
Solución madre	10	2.7000	.48305	.15275	2.3544	3.0456	2.00	3.00
Dilución 1:2 de solución madre	10	2.3000	.48305	.15275	1.9544	2.6456	2.00	3.00
Dilución 1:4 de dilución madre	10	2.0000	.0000	.0000	2.0000	2.0000	2.00	2.00
Dilución 1:8 de solución madre	10	1.0000	.0000	.0000	1.0000	1.0000	1.00	1.00
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.00	.00
Total	60	3.5833	4.57440	.59055	2.4016	4.7650	.00	14.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/pH 5.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1227.883	5	245.577	1979.261	.000
Intra-grupos	6.700	54	.124		
Total	1234.583	59			

EXTRACTO DE PAPAYA pH 5

Duncan^a

Grupos de estudio	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000				
Dilución 1:8 de solución madre	10		1.0000			
Dilución 1:4 de solución madre	10			2.0000		
Dilución 1:2 de solución madre	10			2.3000		
Solución madre	10				2.7000	
Clorhexidina	10					13.5000
Sig		1.0000	1.0000	.062	.131	1.0000

Se muestran las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.0000

Extracto de semillas de papaya

pH 5.4

Descriptivos

Extracto de papaya/ pH 5.4.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina	10	13.2000	.42164	.13333	12.8984	13.5016	13.00	14.00
Solución madre	10	2.4000	.51640	.16330	2.0306	2.7694	2.00	3.00
Dilución 1:2 de solución madre	10	2.4000	.51640	.16330	2.0306	2.7694	2.00	3.00
Dilución 1:4 de dilución madre	10	1.6000	.51640	.16330	1.2306	1.9694	1.00	2.00
Dilución 1:8 de solución madre	10	.8000	.42164	.13333	.4984	1.1016	.00	1.00
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.00	.00
Total	60	3.4000	4.52189	.58377	2.2319	4.5681	.00	14.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/pH 5.4

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1196.000	5	239.200	1242.000	.000
Intra-grupos	10.400	54	.193		
Total	1206.400	59			

EXTRACTO DE PAPAYA pH 5.4

Duncan^a

Grupos de estudio	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000				
Dilución 1:8 de solución madre	10		.8000			
Dilución 1:4 de solución madre	10			1.6000		
Dilución 1:2 de solución madre	10				2.4000	
Solución madre	10				2.4000	
Clorhexidina	10					13.2000
Sig		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

Se muestran las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.0000

Extracto de papaya

pH 5.5

Descriptivos

Extracto de papaya/ pH 5.5.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Solución madre	10	2.4000	.51640	.16330	2.0306	2.7694	2.00	3.00
Dilución 1:2 de solución madre	10	2.5000	.52705	.16667	2.1230	2.8770	2.00	3.00
Dilución 1:4 de dilución madre	10	1.8000	.42164	.13333	1.4984	2.1016	1.00	2.00
Dilución 1:8 de solución madre	10	.8000	.42164	.13333	.4984	1.1016	.00	1.00
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.00	.00
Total	60	3.5000	4.61574	.59589	2.3076	4.6924	.00	14.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/pH 5.5

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1246.400	5	249.280	1269.917	.000
Intra-grupos	10.600	54	.196		
Total	1257.000	59			

EXTRACTO DE PAPAYA pH 5.5

Duncan^a

Grupos de estudio	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
Dilución 1:16 de solución madre	10	.0000				
Dilución 1:8 de solución madre	10		.8000			
Dilución 1:4 de solución madre	10			1.8000		
Dilución 1:2 de solución madre	10				2.4000	
Solución madre	10				2.5000	
Clorhexidina	10					13.5000
Sig		1.0000	1.0000	1.0000	.616	1.0000

Se muestran las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.0000

Extracto de papaya

Alcohol al 70%

Descriptivos

Extracto de papaya/ alcohol al 70%

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Clorhexidina	10	13.5000	.52705	.16667	13.1230	13.8770	13.00	14.00
Solución madre	10	12.0000	.81650	.25820	11.4159	12.5841	11.00	13.00
Dilución 1:2 de solución madre	10	10.5000	.70711	.22361	9.9942	11.0058	10.00	12.00
Dilución 1:4 de dilución madre	10	6.5000	.52705	.16667	6.8770	6.8770	6.00	7.00
Dilución 1:8 de solución madre	10	2.5000	.52705	.16667	2.1230	2.8770	2.00	3.00
Dilución 1:16 de solución madre	10	1.0000	.47140	.14907	.6628	1.3372	.00	2.00
Dilución 1:32 de solución madre	10	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000	.00	.00
Total	70	6.5714	5.18798	.62008	2.3076	7.8085	.00	14.00

ANOVA de un factor

Extracto de papaya/alcohol al 70%

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1837.143	6	306.190	964.500	.000
Intra-grupos	20.000	63	.317		
Total	1857.143	69			

EXTRACTO DE PAPAYA ALCOHOL AL 70%

Duncan^a

Grupos de estudio	N	Subconjunto para alfa = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
Dilución 1:32 de solución madre	10	.0000						
Dilución 1:16 de solución madre	10		1.0000					
Dilución 1:8 de solución madre	10			2.5000				
Dilución 1:4 de solución madre	10				6.5000			
Dilución 1:2 de solución madre	10					10.5000		
Solución madre	10						12.0000	
Clorhexidina	10							13.5000
Sig		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.000	1.0000

Se muestran las medidas para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10.0000

RESULTADOS

Resultados de las diferentes diluciones de papaína:

- Papaína con agua destilada.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: papaína en polvo-agua destilada contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo de prueba: papaína en polvo-agua destilada es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

- Papaína con solución buffer pH 3.

Ningún producto tiene actividad a pH 3

- Papaína con solución buffer pH 5.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: papaína en polvo-pH 5 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo de prueba: papaína en polvo-pH 5 es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

- Papaína con solución buffer pH 5.4.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: papaína en polvo-pH 5.4 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo de prueba: papaína en polvo-pH 5.4 es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

- Papaína con solución buffer pH 5.5.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: papaína en polvo-pH 5.5 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo

de prueba: papaína en polvo-pH 5.5 es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

- Papaína con alcohol al 70%

Difícilmente es posible la existencia de una actividad de la papaína en polvo en solución acuosa con esa magnitud sin una purificación cromatográfica.

Por ello lo que seguramente estamos viendo en estos resultados es la actividad biológica del Alcohol al 70% que es semejante a clorhexidina. Las diluciones son poco representativas, ya que ilustran la actividad del alcohol a diferentes concentraciones.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: papaína en polvo-Alcohol al 70% contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo de prueba: papaína en polvo-Alcohol al 70% es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

Resultados de las diferentes diluciones del extracto de papaya.

- Extracto de papaya con agua destilada.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: Extracto de semillas de papaya-Agua destilada contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, como la media del grupo de prueba: Extracto de semillas de papaya-Agua destilada es cero, se concluye con un 95% de confianza que no tiene actividad biológica.

- Extracto de papaya con solución buffer pH 3.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: Extracto de semillas de papaya-pH3 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, La prueba de comparaciones múltiples de Duncan muestra que:

La Clorhexidina no tiene actividad biológica a ese pH.

La actividad de la Solución Madre es estadísticamente igual a la actividad de la dilución 1:2 de la Solución Madre, estas dos condiciones tienen la mayor actividad biológica. (2.5)

A continuación, la dilución 1:4 de la Solución Madre tiene una actividad biológica intermedia

La dilución 1:8 de la Solución Madre presenta la menor actividad biológica.

La dilución 1:16 de la Solución Madre ya NO presenta actividad biológica.

- Extracto de papaya con solución buffer pH5.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: Extracto de semillas de papaya-pH5 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, La prueba de comparaciones múltiples de Duncan muestra que:

La Clorhexidina tiene una gran actividad biológica a pH 5. (13.5)

Ningún extracto de semillas de papaya tiene actividad semejante a la Clorhexidina.

De los extractos ensayados, la Solución Madre es la que presenta la mayor actividad biológica, pero 5 veces menor que la clorhexidina.

La actividad de la dilución 1:2 Solución Madre es estadísticamente igual a la actividad de la dilución 1:4 de la Solución Madre, estas dos condiciones tienen la siguiente actividad biológica de los extractos, (2.3 mm de inhibición en promedio).

La dilución 1:8 de la Solución Madre presenta la menor actividad biológica.

La dilución 1:16 de la Solución Madre ya NO presenta actividad biológica.

- Extracto de papaya con solución buffer pH 5.4.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: Extracto de semillas de papaya-pH 5.4 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, La prueba de comparaciones múltiples de Duncan muestra que:

La Clorhexidina tiene una gran actividad biológica a pH 5.4 (13.2 mm de Halo de inhibición)

Ningún extracto de semillas de papaya tiene actividad semejante a la Clorhexidina.

De los extractos ensayados, la Solución Madre y la dilución 1:2 de la Solución Madre son las que presentan la mayor actividad biológica, pero 5.5 veces menor que la clorhexidina.

La actividad de la dilución 1:4 Solución Madre tiene la siguiente actividad biológica de los extractos, (1.6 mm de inhibición en promedio).

La dilución 1:8 de la Solución Madre presenta la menor actividad biológica.

La dilución 1:16 de la Solución Madre ya NO presenta actividad biológica.

- Extracto de papaya con solución buffer pH 5.5.

Los resultados muestran que los grupos de prueba: Extracto de semillas de papaya-pH 5.5 contra el control de Clorhexidina son estadísticamente diferentes, La prueba de comparaciones múltiples de Duncan muestra que:

La Clorhexidina tiene una gran actividad biológica a pH 5.5 (13.5 mm de Halo de inhibición)

Ningún extracto de semillas de papaya tiene actividad semejante a la Clorhexidina.

De los extractos ensayados, la Solución Madre y la dilución 1:2 de la Solución Madre son las que presentan la mayor actividad biológica, pero 5.5 veces menor que la clorhexidina.

La actividad de la dilución 1:4 Solución Madre tiene la siguiente actividad biológica de los extractos, (1.8 mm de inhibición en promedio).

La dilución 1:8 de la Solución Madre presenta la menor actividad biológica.

La dilución 1:16 de la Solución Madre ya NO presenta actividad biológica.

- Extracto de papaya con alcohol al 70%.

Difícilmente es posible la existencia de una extracción alcohólica de semillas de papaya con esa actividad sin una purificación cromatográfica.

Por ello lo que seguramente estamos viendo en estos resultados es la actividad biológica del Alcohol al 70% que es semejante a clorhexidina. Las diluciones son poco representativas, ya que ilustran la actividad del alcohol a diferentes concentraciones.

PROPUESTA.

En la actualidad la clorhexidina en la odontología se ha empleado como la panacea de todos los males hablando de agente bacteriostático y los tratamientos de conductos no son la excepción, creyendo que al usarla el margen de fracaso del tratamiento se elimina, pero como podemos encontrar en la literatura el éxito radica no solo de la buena técnica de irrigación durante el tratamiento, sin embargo, se debe tener en cuenta las características que posee el agente microbiano al que nos estamos enfrentando.

Por lo que es necesario encontrar otras alternativas que amplíen las opciones en soluciones irrigantes para combatir a los microorganismos que se encuentran en una infección pulpar.

No dejando de lado el método científico para llegar a dichas alternativas, pues en el mercado se encuentran una serie de productos naturales que se emplean de manera indiscriminada con fines terapéuticos, pero no se tiene la certeza de su éxito durante el tratamiento.

Lo cual se verá reflejado en un empeoramiento en la salud del paciente y en un gasto innecesario.

La papaína grado reactivo no se empleó en el estudio, ya que el objetivo era papaína comercial

CONCLUSIONES

A pesar de que en esta investigación no se logró cubrir con la hipótesis, es importante resaltar que es preciso continuar con esta línea de investigación, pues se debe tener un mayor control de la variable papaína, pues es necesario tener claros desde un principio los criterios de inclusión y exclusión, que nos ayuden a elegir la enzima que tenga las óptimas condiciones para poder demostrar la hipótesis.

Los datos muestran que es posible concluir con un 95% de confianza que:

- No existe actividad biológica alguna de la papaína en polvo.
- Existe una mínima actividad biológica del extracto de semillas de papaya, pero es en promedio 5.5 veces menor que la clorhexidina.
- La clorhexidina es el compuesto que más actividad biológica tuvo.

En el presente trabajo se demostró que la papaína comprada en polvo, no presentó ninguna actividad enzimática, mientras que la papaína obtenida del extracto si presentó actividad muy débil, debido a que la papaína se encuentra oculta en el macerado, se sugiere que, para ver su actividad real, se tendría que hacer una extracción y purificación de la papaína del macerado que sería otro tema de tesis.

Si este producto naturista contiene papaína, los resultados demuestran que no tiene actividad farmacológica, debido a que la enzima esta desnaturalizada, al proceso de su obtención, por lo que bioquímicamente no sirve para generar efecto bacteriostático ni bactericida.

Con estos datos no es posible decir si la papaína tiene actividad bacteriostática ni bactericida porque no se utilizó una papaína bioquímicamente funcional

En contraste con lo anterior, al usar clorhexidina al 2% la inhibición de crecimiento bacteriano fue evidente en los antibiogramas empleados. Con base a nuestros resultados podemos concluir que la clorhexidina presenta actividad antibiótica y la papaína comercial no, contrario a lo encontrado en la literatura.

Evitar el uso en la práctica odontológica de productos naturales o derivados de la medicina tradicional, cuya eficacia no esté comprobada científicamente por investigadores serios, con protocolos estrictos y basados en evidencia experimental, documental, estadística y/o matemática.

El aspecto más importante y que se debe de resaltar sobre la investigación radica en que, no todo lo que se vende como natural en las tiendas comerciales, tiene la actividad biológica que se oferta

Para poder elegir el irrigante adecuado durante el tratamiento de conductos es necesario saber que agente microbiano está presente, pues los microorganismos cambian respecto a cada una de las patologías pulpares.

Siempre será necesario dar un diagnóstico adecuado para poder elegir el tratamiento a seguir, en este caso de la enfermedad pulpar que aqueja al órgano dentario.

y para lograr este diagnóstico es necesario conocer, primero que nada, las características anatomofuncionales del tejido pulpar que se considera sano o normal. Ahora una vez conocidas las condiciones normales de la pulpa podemos ver las diferencias en las que dicho tejido se encuentra en la enfermedad.

Debido a que la forma de diagnóstico en las patologías pulpares para fines prácticos son meramente clínicas, es necesario tener una buena historia clínica del paciente, así como una anamnesis a conciencia de la cavidad oral, pues lo que el paciente refiera sobre la sintomatología y a los signos hallados durante la anamnesis, podremos elaborar un plan de tratamiento que cumpla satisfactoriamente con el malestar del paciente.

PERSPECTIVAS.

La papaína requiere inductores para su actividad como el ácido cianhídrico, la cisteína, glutatión, y dado que no se estudiaron estas condiciones para activarla es posible que la enzima no funcionara.

Una enzima grado reactivo, tiene protocolos de activación, en la tesis no se usó enzima grado reactivo, sino fue un producto comercial, no producto reactivo.

Suponiendo que la enzima funcionara, es posible que no existiera efecto antimicrobiano debido a que la membrana celular de las bacterias gram negativas es muy compleja, ya que tiene dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglicano, mientras que las bacterias gram-positivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared de peptidoglicano es mucho más gruesa.

Dado que la papaína rompe proteínas y no membranas celulares, aunado a la posible falta de actividad, es factible que no se encontrara el efecto

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Quispe Y E, Zeballos LL. Pulpitis reversible. *Rev de actualizacion clínica*. 2012; 21: 1072-7.
2. Álvarez T, Julieta J. Etiología y plan de tratamiento de las alteraciones pulpares en dientes permanentes. 2014 Jul [citado 2015 Sep 30]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/5354>
3. Correa JMA, González RM, López IM, de la Cruz IO. Complejo dentino pulpar. Estructura y diagnóstico. *Rev Med Isla Juv*. 2013 Dic; 1(12): 82-99.
4. García CL, Rodríguez RO, Calzado de SM. Bases morfofisiopatológicas de la respuesta inflamatoria aguda pulpar. *MEDISAN*. 2011 Nov; 15(11): 1647-55.
5. Montoro FY, Fernández CME, Vila MD, Rodríguez SA, Mesa GDL. Urgencias estomatológicas por lesiones pulpares. *Rev Cuba Estomatol*. 2012 Dic; 49(4): 286-94.
6. Dorta DCG, Clementes DJL, Pacheco DCP. Procesos pulpares y periapicales agudos como urgencias estomatológicas. *Cienc Holguín* [Internet]. 2010 Jul [citado 2015 Sep 30]; 15(4). Disponible en: <http://www.ciencias.holguin.cu/index.php/cienciasholguin/article/view/521>
7. Cohen S, Burn C. R. Vías de la pulpa. Octava edición. Madrid España: Mosby; 2004. 1028 p.
8. Maldonado M, Karina A. Irritantes pulpares y sus efectos sobre la pulpa. 2012 [citado 2015 Oct 5]; Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/30922>
9. Alvarez E. C. Microbiología en endodoncia. 2013 Jul; 32.

10. Sirvent. F. Biofilm. Un nuevo concepto de infección en Endodoncia [Internet]. 2016 [citado 2016 Abr 28]. Disponible en: <http://www.medlinedental.com/pdf-doc/ENDO/vol28n45.pdf>
11. Aguirre BC, Huatuco GJ. Efectividad antibacteriana de dos pastas medicamentosas frente al *Enterococcus faecalis*, Chiclayo, Perú. *Univ Católica St Toribio Mogrovejo - USAT* [Internet]. 2014 [citado 2016 Abr 28]; Disponible en: <http://tesis.usat.edu.pe/jspui/handle/123456789/210>
12. Díaz PM, Rodríguez MC, Zhurbenko R. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Rev Cuba Hig Epidemiol*. 2010 Ago; 48(2): 147-61.
13. Díaz PM, Rodríguez MC, Zhurbenko R. *Enterococcus*, medios de cultivo convencionales y cromogénicos. *Rev Cuba Hig Epidemiol*. 2013 Abr; 51(1): 97-110.
14. Silva EJNL, Coutinho-Filho WP, Andrade A de O, Morante DRH, Hirata-Junior R, Coutinho-Filho T de S, et al. Efecto antimicrobiano de la terapia fotodinámica sobre *Enterococcus faecalis*, estudio in vitro. *Rev Estomatológica Hered*. 2014 Jul; 21(4): 185.
15. Irala M.A. Evaluación de la filtración bacteriana en conductos radiculares sellados por tres diferentes técnicas de obturación. [Internet]. 2016 [citado 2016 Abr 28]. Disponible en: <http://www.medlinedental.com/pdf-doc/ENDO/VOL2831.PDF>
16. Morante DRH, Jon LYTC, Kose-Jr C, Andrade TMC de, Rezende EC de, Kozlowski-Jr VA, et al. Efecto antibacteriano de la asociación de hidróxido de calcio y yodoformo sobre *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Estomatológica Hered*. 2014 Sep; 18(1): 5.
17. Padilla E C, Núñez A M, Padilla G A, Lobos G O. Genes de virulencia y bacteriocinas en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas desde diferentes

- muestras clínicas en la Región del Maule, Chile. *Rev Chil Infectol*. 2012 Feb; 29(1): 55-61.
18. Hernández RN. Lectura interpretada del antibiograma. *Rev Cuba Med Mil*. 2013 Dic; 42(4): 502-6.
 19. Mantilla J, Pulido M, Jaime J. Prueba de sensibilidad antimicrobiana de cepas de Salmonella grupo d (móviles e inmóviles) aisladas de ponedoras comerciales en Colombia. *Rev Fac Med Vet Zootec*. 2010 Oct; 57(3): 159-67.
 20. Soriano-García F. Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos para la lectura interpretada del antibiograma. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. : 461-6.
 21. Alós J-I, Rodríguez-Baño J. ¿Qué antibióticos debemos informar en el antibiograma y cómo? *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. : 737-41.
 22. Pérez JPL, Gil RB. El antibiograma. Un recurso en el laboratorio de Educación Secundaria. *Rev Eureka Sobre Enseñ Divulg Las Cienc*. 2011; 8(3): 353-7.
 23. Mueller Hinton Agar [Internet]. [citado 2016 Oct 4]. Disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/muellerhintonagar.htm>
 24. Medios de cultivo convencionales - Medios para pruebas de susceptibilidad - bioMérieux España S.A. [Internet]. [citado 2016 Oct 4]. Disponible en: http://www.biomerieux.es/servlet/srt/bio/spain/dynPage?open=SPN_CLN_PRD&doc=SPN_CLN_PRD_G_PRD_CLN_93&pubparams.sform=8&lang=es
 25. Blas B SB. Efecto de liofilizados de cáscara y semilla de papaya en la salud intestinal de pollos de engorda. [Tesis de Maestría.]. [México, D.F.]: Universidad Nacional Autónoma de México; 2010.
 26. Kure J, Castillo P, Yugcha A. “Estudio del proceso de secado del látex de papaya (carica papaya l.) deshidratado por aspersion”. 2013 Jun [citado 2017

Abr 4]; Disponible en:
<http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/24551>

27. Núñez O V. Bacterias antagonistas con el potencial para el control biológico postcosecha de la antracnosis en papaya. [Jiquilpan, Michoacán]: Instituto Politécnico Nacional; 2012.
28. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet]. Papaya. [citado 2015 Ago 9]. Disponible en:
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Carica%20papaya&id=7744>
29. Serrano AD. Extracción de la enzima papaína del látex de *Carica papaya* (papayo) cultivado en el país y su aplicación en cicatrices tipo queloides y verrugas [Tesis de licenciatura]. [SAN SALVADOR, EL SALVADOR,]: UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR; 2012.
30. Villavicencio M. MC. Extracción, concentración y cuantificación de la actividad enzimática de la papaína a partir de la papaya (*Carica papaya*). [Tesis de licenciatura]. [Ambato, Ecuador.]: Universidad Técnica de Ambato; 2011.
31. Cuéllar AC, Lezama RS, Armenteros YM, Calienes AF, & Monzote L. Evaluación preliminar de la composición química de las hojas de *Carica papaya* L y del efecto anti protozoario de un extracto enriquecido en alcaloides a partir de la misma. *Rev Colomb Cienc Anim.* 2012; 4(2): 364-76.
32. Chimborazo L CL. Determinación de la actividad enzimática, de un concentrado que contiene papaína, obtenida de la papaya (*Carica papaya*), medida en soluciones preteicas. [licenciatura]. [Ambato, Ecuador.]: Universidad Técnica de Ambato; 2012.
33. López JM, Amaral SR, Kalil S. Proteólisis enzimática del colágeno dentinario. *Odontoestomatología.* 2010 Mar; 12(14): 35-40.

34. Linares LA, Morales FR. Estudio para instalar una planta de producción de pasta dental utilizando papaína como ingrediente activo. *Ing Ind.* 2015 Feb; 0(33): 159-79.
35. Jimenez CI. Enzimas vegetales proteasas, aplicadas para el ablandamiento de carne (bromelina ficina y papaina)./. 2014 Dic [citado 2017 Abr 4]; Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/415>
36. Martínez D R. Estudio comparativo sobre utilización de adhesivo tisular base de fibrina en la reparación de perforaciones timpánica. [Tesis de especialidad]. [México, D.F.]: Universidad Nacional Autonoma de México; 2006.
37. Castro AV. Inhibicion del crecimiento in vitro de Streptococcus mutans por papaina y sanitrend [Tesis de licenciatura]. [Santiago, Chile.]: Universidad de Chile; 2005.
38. Mercado SE. Evaluación de una técnica de remoción mecánica de caries, como una alternativa en pacientes pediatricos. [Tesis de especialidad]. [México, D.F.]: Universidad Nacional Autonoma de México; 2010.
39. Urióstegui F A. Hierbas medicinales utilizadas en la atención de enfermedades del sistema digestivo en la ciudad de Taxco de Alarcón, Guerrero, México. *Tlamati.* 2014 Abr; 24-39.
40. SIERRA SJ, CUBERO SJ. Asma y rinitis profesional en un charcutero. *SEAIC.* 2010; 3.
41. Castro de RL, Alvarado RS, Alvarez M. Efectos de la infusión de hojas de higuera (*Ficus carica*) sobre la depresión neonatal en ratas. *Abril-Junio 2011.* 2011; 5.
42. Elgadir MA., Mohamed S, Aishah A. Carica papaya as a source of natural medicine and its utilization in selected pharmaceutical applications. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014; 6: 4.

43. Villafuerte J, Laura M. Reducción bacteriana en el conducto radicular por medios mecánicos y químicos. [Internet]. 2013 Jun [citado 2015 Sep 18]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3633>
44. León P, Denise D. Mecanismos químicos de eliminación de bacterias patógenas en endodoncia. [Internet]. 2014 Jul [citado 2015 Sep 18]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/6316>
45. Rumiguano C, Estefanía E. Tratamiento farmacológico del conducto radicular. [Internet]. 2012 Jun [citado 2015 Sep 18]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/3611>
46. Páez C. I. Uso de papacarie en la remoción quimico-mecanica de caries en la primera dentición [Tesis de licenciatura]. [México, D.F.]; 2010.
47. Alvarado V V, Azaña E L, Cosco R D, Díaz P, Fernández Vivas S, A J, et al. Efectividad antimicrobiana in vitro del Papacarie® en muestras de tejido cariado en escolares de educación primaria. *Odonto Sanmarquina*. 2015 Enero; 20-2.
48. Mizuno D, Guedes C, Hermida BL, Motta L, Santos E, Bussadori S. Análisis clínico y radiográfico de las técnicas ART y remoción químico- mecánica de caries: estudio piloto. *Odontoestomatología*. 2011 Dic; 13(18): 29-35.
49. Meza RM, Moreira RC. Evaluación in vitro de un material experimental a base de papaya 2r2m1 a diferentes concentraciones para remoción quimico-mecanica de dentina infectada [Internet] [phd]. Universidad de El Salvador; 2011 [citado 2015 Sep 18]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/7745/>
50. Raulino da SL, Hartley M J, Marcílio SE, Guedes-P AC, Kalil BS. Utilización del gel de la papaya para la remoción de la caries reporte de un caso con seguimiento clínico de un año. *Rev.2005*; 43 (2):7.
51. Kittu J, Anshul B, Ankit G. Papacarie: A Chemomechanical Caries Removal Agent. *IJSS Case Reports & Reviews*. 2015 Feb; 1(4): 57-60.

52. Castelo B. P. Nuevos métodos de desinfección y limpieza del sistema de conductos radiculares [tesis doctoral]. [Santiago de Compostela]: Universidad de Santiago de Compostela; 2012.
53. Fuentes M, Janina G. Desinfección y eliminación del barrillo dentinario en pulpa necrótica mediante la utilización del Q-Mixy el hipoclorito de sodio al 2.5%. [Internet]. 2014 Jul [citado 2015 Sep 14]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/6227>
54. Mena ME. Efecto antimicrobiano de microdacyn 60®, oxoral® e hipoclorito de sodio al 5.25% en bacterias anaerobias [Tesis de especialidad]. [Monterrey, Nuevo León]: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN; 2012.
55. Pappen F, Bolzani L, Sosa SR, Amaral MR, Filho MT. Efecto antimicrobiano de soluciones irrigadoras utilizadas en endodoncia. *Rev Estomatológica Hered* [Internet]. 2014 Oct [citado 2015 Sep 14]; 13(2-1). Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/REH/article/view/2043>
56. Villalta P, Rodrigo B. Análisis de la acción de la clorhexidina e hidróxido de calcio químicamente puro como medicamentos intraconductos en dientes con necrosis pulpar. [Internet]. 2012 Oct [citado 2015 Sep 14]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/2909>
57. Cruz A, Carolina G. Capacidad antibacteriana de la clorhexidina al 2% como solución antiséptica en ápices abiertos. [Internet]. 2014 Jul [citado 2015 Sep 14]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/5453>
58. Anaguano F, Magaly H. Efecto inhibidor del aceite esencial de Matricaria chamomilla “manzanilla” en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% sobre cepas *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro. [Internet]. 2013 [citado 2015 Sep 14]; Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2803>

59. Correa PS, Ocampo GE, David OJ. Efectividad antimicrobiana del digluconato de clorhexidina al 0.2% y del clorhidrato de bencidamina al 0.15%, usados como irrigantes intraconducto contra enterococcus faecalis [Internet] [Thesis]. 2013 [citado 2015 Sep 26]. Disponible en: <http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/handle/10946/996>