

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE  
TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%,  
CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

**PRESENTA**

**C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ**

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO GUTIÉRREZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**M.C. LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS**

**TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO**

**JUNIO 2024**

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE  
TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%,  
CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS***

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 30 de mayo de 2024

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%, CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por el **C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**  
**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**

  
**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**PRESIDENTE**  
**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 30 de mayo de 2024

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%, CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por el **C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE**  
**“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**

  
**DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO GUTIÉRREZ**

**SINODAL**  
**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 30 de mayo de 2024

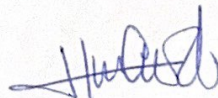
**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%, CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por el **C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE  
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



**M.C. LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL  
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 30 de mayo de 2024

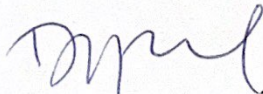
**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE TRES EXTRACTOS NATURALES E HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%, CONTRA *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.**

Propuesto por el **C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE  
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**



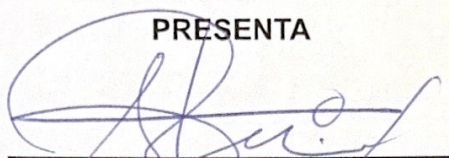
**DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS**

**SINODAL  
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD  
ANTIBACTERIANA DE TRES EXTRACTOS NATURALES E  
HIPOCLORITO DE SODIO AL 5.25%, CONTRA  
*ENTEROCOCCUS FAECALIS***

**PRESENTA**



C.D. JUAN ANTONIO ESPINOZA VELÁZQUEZ

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**



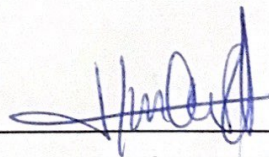
DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

**SINODALES**

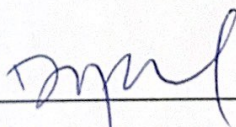
**(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)**



DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO  
GUTIÉRREZ



MC. LUIS HERNÁN CARRILLO  
VÁRGUEZ



DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

Tijuana, Baja California, junio 2024

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer infinitamente a mi familia Elvira, Juan Antonio y Lineth, por siempre estar presentes durante todos y cada uno de los momentos importantes, apoyando todas las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida y siempre animándome a cumplir mis sueños; siempre levantándome de momentos difíciles y comprometidos al cien por ciento con mi proyecto de vida, nuestro proyecto de vida.

También agradecer a todo el cuerpo docente del programa de especialidad en endodoncia, las doctoras María Elena, Dulce, Goretty, Ivette, Yuri, Eustolia, a los doctores Juan José, Miguel Ángel, Javier, Ramón, Michael, Enrique, Hernán, por siempre estar comprometidos con el crecimiento profesional de todos nosotros, por responder dudas, siempre brindando su conocimiento para poder mejorar.

Mención especial a la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, por el apoyo incondicional, por colocar y mantener nuestro programa entre los mejores de México y por darnos a todos la oportunidad de formar parte de este, siempre al pendiente de nosotros y de nuestro crecimiento.

A la Dra. Viviana Sarmiento, mi infinito agradecimiento por el apoyo en la realización de este proyecto, brindando su tiempo, conocimiento y dedicación para la culminación de éste.

Finalmente, quiero agradecer a mis compañeros de vida, a mis amigos, este viaje no hubiera sido lo mismo sin ustedes, todos y cada uno formaron parte importante de este trayecto que hoy vemos culminado. Muy especialmente agradezco a Claudia, Andrea, Francisco, por todas las enseñanzas, por todos los momentos buenos y no tan buenos que compartimos, a pesar de las dificultades, siempre terminábamos todos con una sonrisa y muchas risas; definitivamente han y seguirán siendo parte importante de mi pasado, presente y futuro.

**Agradecimientos institucionales**

A CONACyT por la beca otorgada, No. CVU: 1226149

A Laboratorio Zapata por proporcionar la cepa bacteriana clínica.

**CONTENIDO**

AGRADECIMIENTOS .....	i
CONTENIDO .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS .....	viii
I. RESUMEN .....	1
1.1. ABSTRACT .....	2
II. INTRODUCCIÓN .....	3
2.1. DIAGNÓSTICO .....	3
2.2. SISTEMA DE CONDUCTOS .....	6
2.3. INSTRUMENTACIÓN .....	8
2.4. IRRIGACIÓN .....	9
2.4.1. Alternativas naturales .....	14
2.4.1.1. Bromelina .....	18
2.4.1.2. Triphala .....	20
2.4.1.3. Nejayote .....	21
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	23
IV. JUSTIFICACIÓN .....	24
V. HIPÓTESIS .....	25
5.1. HIPÓTESIS GENERAL .....	25
5.2. HIPÓTESIS NULA (H0) .....	25
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1) .....	25
VI. OBJETIVOS .....	26
6.1. OBJETIVO GENERAL .....	26

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
VII. VARIABLES.....	27
7.1. INDEPENDIENTES .....	27
7.2. DEPENDIENTE .....	27
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES .....	27
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
8.1. TIPO DE ESTUDIO.....	29
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO .....	29
8.2.1. Método de evaluación de inhibición antibacteriana .....	29
8.2.2. Método de evaluación hemolítica en eritrocitos .....	29
8.3. MATERIALES .....	30
8.4. METODOLOGÍA .....	32
8.4.1. Fermentación de cáscaras de piña para obtención de ecoenzima Bromelina .....	32
8.4.2. Realización de diferentes concentraciones de bromelina .....	32
8.4.3 Realización de solución de Triphala.....	33
8.4.4. Obtención de solución de nejayote .....	36
8.4.5. Evaluación de la actividad antibacteriana .....	36
8.4.6. Evaluación del efecto citotóxico a través de la actividad hemolítica.....	40
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	47
IX. RESULTADOS.....	48
9.1. INHIBICIÓN DE MICROORGANISMOS POSTERIOR A INCUBACIÓN ....	48
9.2. PRUEBA DE HEMÓLISIS .....	50
X. DISCUSIÓN.....	55
XI. CONCLUSIONES .....	60

XII. RECOMENDACIONES ..... 61

XIII. BIBLIOGRAFÍA ..... 62

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**Imagen 1. Sistema de conductos..... 11**

**Imagen 2. Estructura química del hipoclorito de sodio ..... 12**

**Imagen 3. Escala de pH y localización del hipoclorito de sodio en ella ..... 14**

**Imagen 4. Ejemplos de alternativas herbales en reparación pulpar y sus principales características ..... 15**

**Imagen 5. Ejemplos de alternativas herbales en limpieza y desinfección y sus principales características ..... 17**

**Imagen 6. Báscula para medición de cáscaras y melaza ..... 30**

**Imagen 7. A) Recipientes herméticos B) Hipoclorito de sodio y solución salina C) Cajas Petri ..... 31**

**Imagen 8. A) Centrífuga programada por 5 minutos a 10,000 rpm B) Colocación de los tubos Eppendorf en la cefrífuga C) Agitador Vórtex ..... 33**

**Imagen 9. Pesado de polvo de triphala ..... 34**

**Imagen 10. Nueva concentración de polvo de triphala ..... 35**

**Imagen 11. Diferencia entre concentraciones de triphala ..... 35**

**Imagen 12. Campo de trabajo estéril ..... 36**

**Imagen 13. Incubación de bacteria 24 horas a 37 °C. .... 37**

**Imagen 14. Irrigantes colocados en pocillos inoculados con E. faecalis..... 38**

**Imagen 15. Cajas Petri retiradas de incubadora después de 24 horas. .... 39**

**Imagen 16. Vernier electrónico y biofilm desarrollado en el medio de cultivo Agar sangre. .... 40**

**Imagen 17. Tubo utilizado para contener la muestra sanguínea ..... 41**

**Imagen 18. Centrífuga preparada para lavados de eritrocitos ..... 42**

**Imagen 19. Botones de eritrocitos obtenidos en cada lavado con solución salina ..... 43**

**Imagen 20. A) Botones de eritrocitos obtenidos; B) Colocación de botones de eritrocitos en probeta; C) Adición de solución salina para obtención de solución madre..... 43**

**Imagen 21. Solución madre de eritrocitos. .... 44**

<b>Imagen 22. Diferentes diluciones de extractos para prueba de actividad hemolítica.....</b>	<b>44</b>
<b>Imagen 23. Centrífuga programada para realizar el último proceso de centrifugación.....</b>	<b>45</b>
<b>Imagen 24. Espectrofotómetro para leer absorbancia .....</b>	<b>46</b>
<b>Imagen 25. Fórmula para estimar porcentaje de hemólisis.....</b>	<b>46</b>
<b>Imagen 26. A) Halos de inhibición del NaOCl a 5.25% y solución salina; B) Pruebas en proporción 25% y 50%; C) Pruebas de proporción 100% y 75%. 48</b>	
<b>Imagen 27. A) Halos de inhibición de nejayote; B) Halos de inhibición de triphala .....</b>	<b>49</b>
<b>Imagen 28. Resultados de efecto antibacteriano de los diferentes irrigantes</b>	<b>50</b>
<b>Imagen 29. Comparativa de la hemólisis de los diferentes irrigantes, en sus diferentes concentraciones.....</b>	<b>53</b>
<b>Imagen 30. Comparativa de biocompatibilidad de los diferentes irrigantes en sus diferentes concentraciones.....</b>	<b>54</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
CMB	Concentración mínima bactericida
CMI	Concentración mínima inhibitoria
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
ETEC	Enterotoxigénica <i>Escherichia coli</i>
MTA	Agregado Trióxido Mineral
NaOCl	Hipoclorito de sodio
OMS	Organización Mundial de la Salud
p. ej.	Por ejemplo
ml	Mililitros
µL	Microlitros
rpm	Revoluciones por minuto
nm	Nanómetros

## I. RESUMEN

**Introducción:** Actualmente el hipoclorito de sodio es el irrigante más utilizado; a pesar de demostrar grandes beneficios en la realización del tratamiento de conductos, tiene efectos tóxicos en los tejidos vitales que producen hemólisis, ulceración de la piel y necrosis; debido a esto, se ha impulsado la búsqueda de irrigantes alternativos. **Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana de tres extractos naturales contra el *E. faecalis*, en comparación con la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio al 5.25% de concentración. **Metodología:** Se prepararon tres extractos naturales para valorar mediante difusión de agar, los halos de inhibición de cada uno de ellos, utilizando una cepa clínica de *Enterococcus faecalis*, determinando la diferencia estadísticamente significativa en caso de presentarse. **Resultados:** Los halos de inhibición observados, demostraron la actividad microbicida de la triphala y el nejayote, no así de la bromelina, que no demostró actividad en las condiciones de este estudio. Adicionalmente, dos de los extractos presentaron biocompatibilidad, sin llegar a la inocuidad de la solución salina. **Conclusiones:** La triphala y el nejayote en proporciones de 100%, exhibieron actividad microbicida en contra de una cepa clínica de *Enterococcus faecalis*; además de que presentan menor citotoxicidad sobre eritrocitos en comparación del grupo control (detergente).

### 1.1. ABSTRACT

**Introduction:** Currently sodium hypochlorite is the most used irrigant; Despite demonstrating great benefits in performing root canal treatment, it has toxic effects on vital tissues that produce hemolysis, skin ulceration and necrosis; Due to this, the search for alternative irrigants has been promoted. **Objective:** Evaluate the antibacterial activity of three natural extracts against *Enterococcus faecalis*, in comparison with the antimicrobial activity of sodium hypochlorite at a 5.25% concentration. **Methodology:** Three natural extracts were prepared to assess the inhibition zones of each of them by agar diffusion, using a clinical strain of *Enterococcus faecalis*, determining the statistically significant difference if any. **Results:** The inhibition zones observed demonstrated the microbicidal activity of triphala and nejayote, but not of bromelain, which did not demonstrate activity under the conditions of this study. Additionally, two of the extracts presented biocompatibility, without reaching the safety of the saline solution. **Conclusions:** Triphala and nejayote in proportions of 100% exhibited microbicidal activity against a clinical strain of *Enterococcus faecalis*; in addition, they present less cytotoxicity on erythrocytes compared to the control group (detergent).

## II. INTRODUCCIÓN

La endodoncia es el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos periodontales. La endodoncia o tratamiento de conductos es un procedimiento que tiene como finalidad preservar las piezas dentales dañadas, evitando así su pérdida. Consiste en extirpar total o parcialmente la pulpa dental afectada. Dejando el conducto reticular o raíz, limpia y libre de bacterias (1).

Para determinar la realización de un tratamiento de conductos es necesario realizar un diagnóstico; para formular un diagnóstico clínico certero no basta con recopilar una serie de datos científicos. Los datos deben interpretarse y procesarse para intentar discernir la información importante de la que podría ser cuestionable. Los hechos deben recopilarse con un diálogo activo entre el clínico y el paciente, de modo que el profesional formula las preguntas adecuadas y a continuación interpreta cuidadosamente las respuestas. En esencia, el proceso que conduce a la determinación de la presencia de una patología dental es la culminación del arte y la ciencia para lograr un diagnóstico certero. El principal objetivo del diagnóstico es determinar cuál es el problema del paciente y la razón de que lo padezca (2).

### 2.1. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico en endodoncia puede ser un tema un tanto controvertido, especialmente cuando se trata de la toma de decisiones y una actitud clínica adecuada (3). Pulpitis reversible o irreversible, quiste o inflamación periapical son las autorreflexiones de la práctica diaria de muchos especialistas. El diagnóstico pulpar y el diagnóstico periapical están sujetos a interpretación, conocimiento, experiencia, estado de ánimo y otros aspectos que convierten el protocolo de evaluación en una percepción personal (4). El motivo para realizar cualquier procedimiento clínico debe basarse en una lista de verificación de evaluación

definida que debe completarse minuciosamente antes de embarcarse en cualquier terapia irreversible. La estandarización y el desarrollo de protocolos claros, así como una terminología y clasificaciones coherentes, ayudan a los médicos a minimizar no sólo la subjetividad a la hora de llegar a un diagnóstico, sino también el riesgo de un tratamiento excesivo (5).

En 2008, la Asociación Estadounidense de Endodoncia realizó una conferencia de consenso para estandarizar los términos de diagnóstico utilizados en endodoncia. Los objetivos fueron proponer recomendaciones universales en cuanto a diagnósticos endodónticos; desarrollar una definición estandarizada de términos clave de diagnóstico que será generalmente aceptado por endodoncistas, educadores, expertos en construcción de pruebas, terceros, generalistas y otros especialistas, y estudiantes; resolver inquietudes sobre las pruebas y la interpretación de los resultados; y determinar los criterios radiográficos, los resultados de las pruebas objetivas y los criterios clínicos necesarios para validar los términos de diagnóstico establecidos en la conferencia (6).

Los diferentes diagnósticos pulpares aprobados por la Asociación Americana de Endodoncia y la Junta Americana de Endodoncia son los siguientes:

- **Pulpa normal:** les una categoría de diagnóstico clínico en la que la pulpa no presenta síntomas y normalmente responde a las pruebas pulpares. Aunque la pulpa puede no ser histológicamente normal, una pulpa "clínicamente" normal da como resultado una respuesta leve o transitoria a la prueba de frío térmico, que no dura más de uno o dos segundos después de que se retira el estímulo (6).
- **Pulpitis reversible:** se basa en hallazgos subjetivos y objetivos que indican que la inflamación debería resolverse y la pulpa volver a la normalidad después de un tratamiento adecuado de la etiología. Se experimenta malestar cuando se aplica un estímulo como frío o dulce y desaparece en un par de segundos después de la eliminación del estímulo (6).

- **Pulpitis irreversible sintomática:** se basa en hallazgos subjetivos y objetivos de que la pulpa vital inflamada es incapaz de cicatrizar y que está indicado el tratamiento de conducto. Las características pueden incluir dolor agudo con el estímulo térmico, dolor persistente (a menudo 30 segundos o más después de la eliminación del estímulo), espontaneidad (dolor no provocado) y dolor referido (6).
- **Pulpitis irreversible asintomática:** es un diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos que indican que la pulpa vital inflamada es incapaz de cicatrizar y que está indicado un tratamiento de conducto. Estos casos no tienen síntomas clínicos y generalmente responden normalmente a las pruebas térmicas, pero pueden haber tenido un traumatismo o una caries profunda que probablemente resulte en exposición después de la extracción (6).
- **Necrosis pulpar:** es una categoría de diagnóstico clínico que indica la muerte de la pulpa dental, lo que requiere un tratamiento de conducto. La pulpa no responde a las pruebas pulpares y es asintomática. La necrosis pulpar por sí sola no causa periodontitis apical (dolor a la percusión o evidencia radiográfica de ruptura ósea) a menos que el conducto esté infectado. Algunos dientes pueden no responder a las pruebas pulpares debido a la calcificación, antecedentes recientes de traumatismos o simplemente porque el diente no responde (6).
- **Previamente Tratado:** es una categoría de diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido tratado endodónticamente y los conductos están obturados con diversos materiales de obturación distintos de los medicamentos intracanal. El diente normalmente no responde a las pruebas pulpares térmicas o eléctricas (6).
- **Terapia iniciada previamente:** es una categoría de diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido tratado previamente con una terapia de endodoncia parcial, como pulpotomía o pulpectomía. Dependiendo del nivel

de la terapia, el diente puede o no responder a las modalidades de prueba pulpar (6).

Una vez realizado diagnóstico y determinado el tratamiento de conductos, es necesario tener en cuenta que el tejido duro que rodea la pulpa dental puede adoptar variedad de configuraciones y formas. El profundo conocimiento de la morfología dental, la interpretación cuidadosa de las radiografías anguladas, el acceso adecuado al interior del diente y su exploración son requisitos indispensables para el éxito del tratamiento. Los clínicos deben tener un conocimiento completo de las relaciones anatómicas internas de los dientes y ser capaces de visualizar esas relaciones antes de embarcarse en la terapia endodóntica (7).

### 2.2. SISTEMA DE CONDUCTOS

El espacio completo dentro de la dentina que contiene pulpa se conoce como sistema de conductos radiculares. El contorno de ese sistema corresponde al contorno externo del diente. Sin embargo, factores como el envejecimiento fisiológico, la patología y la oclusión modifican sus dimensiones a través de la producción de dentina secundaria y terciaria y de cemento. El sistema de conductos radiculares está dividido en dos porciones: la cámara pulpar, localizada en la corona anatómica del diente, y el conducto (o conductos) pulpares o radiculares, localizado en la raíz anatómica (8).

Entre las demás características morfológicas se incluyen: cuernos pulpares; conductos accesorios, laterales y de furcación; orificios de los conductos; deltas apicales, y forámenes apicales como se muestra en la **Imagen 1** (9). Los conductos accesorios son conductos muy pequeños que se extienden en dirección horizontal, vertical o lateral, desde la pulpa hasta el periodonto. En el 74% de los casos se encuentran en el tercio apical de la raíz, en el 11% en el tercio medio y en el 15% en el tercio cervical. Los conductos accesorios contienen tejido conectivo y vasos, pero no suministran suficiente circulación a la pulpa para formar circulación

colateral. Se forman por atrapamiento de vasos periodontales en la vaina radicular epitelial de Hertwig durante la calcificación (9).

Las configuraciones del conducto radicular dentro de las raíces de los dientes permanentes humanos han sido clasificadas en 8 categorías por Vertucci de la siguiente manera (10):

- 1. Tipo I:** un solo conducto se extiende desde la cámara pulpar hasta el ápice.
- 2. Tipo II:** 2 conductos separados salen de la cámara pulpar y se unen cerca del ápice para formar 1 conducto.
- 3. Tipo III:** 1 conducto sale de la cámara pulpar, se divide en 2 dentro de la raíz y luego se fusiona para salir de 1 conducto.
- 4. Tipo IV:** 2 conductos separados y distintos se extienden desde la cámara pulpar hasta el ápice.
- 5. Tipo V:** 1 conducto sale de la cámara pulpar y se divide cerca del ápice en 2 conductos separados y distintos con agujeros apicales separados.
- 6. Tipo VI:** 2 conductos separados salen de la cámara pulpar, se fusionan en el cuerpo de la raíz y se vuelven a dividir cerca del ápice para salir como 2 conductos distintos.
- 7. Tipo VII:** 1 conducto sale de la cámara pulpar, se divide, se vuelve a unir dentro del cuerpo de la raíz y finalmente se vuelve a dividir en 2 conductos distintos cerca del ápice.
- 8. Tipo VIII:** 3 conductos separados y distintos se extienden desde la cámara pulpar hasta el ápice.

Debido a la compleja anatomía del sistema de conductos radiculares como se muestra en la **Imagen 1**, que puede dificultar una limpieza completa, la inflamación

puede persistir o reaparecer después de algunos años y puede ser necesario un nuevo tratamiento (11).

El diente tratado endodónticamente debe estar libre de inflamación. La curación endodóntica se puede evaluar mediante una combinación de exámenes clínicos y radiográficos. Según el Glosario de términos de endodoncia de la Asociación Estadounidense de Endodoncia, el resultado del tratamiento de endodoncia se puede evaluar como curado, curativo o no curado (11). Cuando no hay síntomas clínicos como dolor, sensibilidad a la palpación, bolsas localizadas, tractos sinusales o movilidad y radiográficamente no hay patología periapical, el caso se considera "curado". Radiológicamente, la curación endodóntica se puede evaluar mediante el índice periapical. Pueden pasar varios años antes de que una radiolucidez periapical se haya resuelto por completo. En un informe de consenso de la Sociedad Europea de Endodoncia, se recomienda un período de 4 años después del tratamiento endodóntico para evaluar la enfermedad posterior al tratamiento. Por lo tanto, una reducción en el tamaño de una radiolucidez periapical es un signo de "curación" endodóntica. Cuando hay síntomas clínicos o cuando no hay diferencia o hay un aumento en el tamaño de la radiolucidez periapical, un caso se considera "no curado" (12).

Habiendo entendido la existencia de diferentes características relativas a la morfología del diente tratado, uno de los momentos principales del tratamiento de conductos es la preparación mecánica del conducto radicular (13).

### **2.3. INSTRUMENTACIÓN**

A lo largo del tiempo se han diseñado infinidad de instrumentos y sistemas para mejorar la eficacia de la instrumentación en Endodoncia. El objetivo final de todos ellos ha sido el mismo: conseguir una correcta limpieza y conformación del conducto, deformando mínimamente la forma original del mismo (14).

Aunque los instrumentos manuales siguen siendo los más utilizados, los inconvenientes que presentan, sobre todo la falta de flexibilidad, la poca conicidad

y la lentitud de trabajo, hacen que con el tiempo se estén abandonando paulatinamente, sustituyéndose por limas de níquel-titanio activadas mediante técnica rotatoria (14).

El tratamiento endodóntico depende fundamentalmente de la preparación (limpieza y el modelaje o conformación) del sistema de conductos radiculares y de su obturación, creando un ambiente biológicamente aceptable para prevenir el desarrollo de las patologías periapicales y mantener la salud perirradicular de los tejidos. De esta forma, la instrumentación de los conductos radiculares tiene dos objetivos generales (15):

**a. La limpieza:** Remoción de la infección o de la pulpa inflamada (15).

**b. La conformación:** Creación o formación de un espacio para la obturación radicular (15).

Dentro de los principales factores de fracaso endodóntico son una incompleta instrumentación o conformación, así como, la persistencia de bacterias y debris dentro del conducto. Para poder decir que se ha preparado (instrumentado) un conducto radicular adecuadamente, es necesario que se hayan realizado simultáneamente, la utilización de instrumentos radiculares y la irrigación. Por este motivo este proceso también es conocido como preparación bio-químico-mecánica de los conductos radiculares (15).

Sin embargo, con fines de explicación los procesos de irrigación e instrumentación se describen separadamente, aun cuando en la clínica son simultáneos.

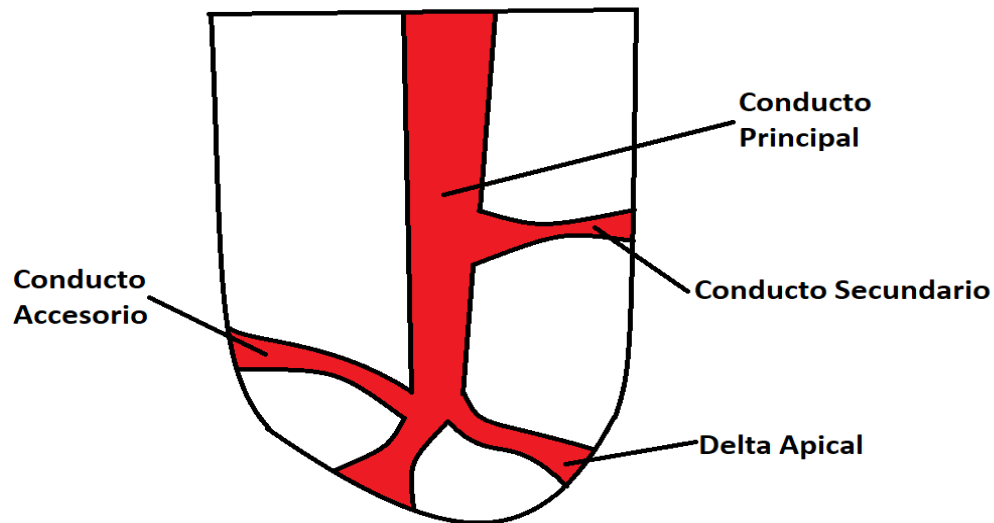
### 2.4. IRRIGACIÓN

Aunado a la conformación mecánica, y como se ha mencionado, otro aspecto de suma importancia es la desinfección mediante irrigación, siendo que la irrigación en términos generales se define como: el lavado de una cavidad corporal o una herida con agua o un líquido con medicación. Por su parte, un desinfectante se define como

un agente que destruye o inhibe la actividad de los microorganismos que provocan enfermedades (16).

- Los objetivos mecánicos y químicos son (16):
- Arrastrar los residuos
- Lubricar el conducto
- Disolver el tejido orgánico e inorgánico
- Evitar la formación de barrillo dentinario durante la instrumentación o disolver cuando se forme
- Despegar y romper las biopelículas

La eficacia mecánica dependerá de la capacidad de la irrigación para generar fuerzas óptimas de flujo en el conjunto del sistema de conductos radiculares (16).



**Imagen 1. Sistema de conductos**

*El espacio pulpar es complejo y los conductos pueden dividirse, unirse nuevamente y tener formas considerablemente más interrelacionadas de lo que se sugiere. Muchas raíces tienen conductos adicionales con una variedad de configuraciones.*

La eficiencia química variará según:

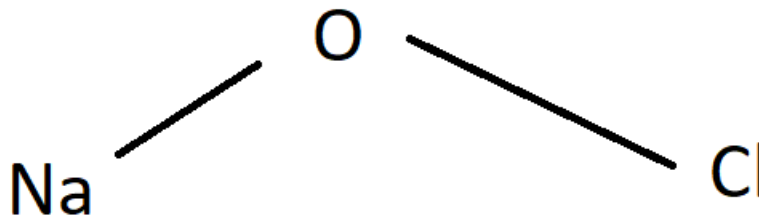
- La concentración del irrigante antimicrobiano
- El área de contacto
- La duración de la interacción entre el irrigante y material infectado.
- La eficacia final de la desinfección endodóntica dependerá de su eficiencia química y mecánica (16).

La función biológica de los irrigantes está relacionada con sus efectos antimicrobianos y su capacidad para erradicar con eficacia o reducir al máximo las bacterias dentro del conducto (17).

Los irrigantes deben de cumplir ciertos principios para su utilización:

- Tener una alta eficacia frente a microorganismos anaeróbicos y facultativos en su estado planctónico y en biopelículas
- Inactivar las endotoxinas
- No ser tóxicos cuando entran en contacto con los tejidos vitales
- No provocar una reacción anafiláctica (17).

Complicado es que exista un irrigante ideal ya que un sistema de conductos radiculares individual infectado alberga una comunidad microbiana endodóntica compuesta por muchas microcolonias bacterianas cuya interacción juega un papel crucial en el equilibrio ecológico y el establecimiento de una comunidad bacteriana, sin embargo, hay algunos irrigantes que alcanzan en mayor o menor medida los principios de un irrigante ideal; siendo actualmente el hipoclorito de sodio (NaOCl) el más utilizado en el tratamiento de conductos (se muestra su estructura química en **Imagen 2** (18)).



**Imagen 2. Estructura química del hipoclorito de sodio**

*El hipoclorito de sodio es un líquido claro, pálido, verde-amarillento, extremadamente alcalino; presenta una acción disolvente sobre tejido necrótico y restos orgánicos.*

Durante muchos años, los irrigantes intraconducto se han utilizado como complemento para mejorar el efecto antimicrobiano de la limpieza y el modelado en endodoncia. Aunque la instrumentación y el uso de soluciones de irrigación con fuerte actividad antimicrobiana eliminan y matan la mayoría de las células

microbianas en el conducto radicular, se ha demostrado que una pequeña parte de la flora sobrevive (18).

No hay evidencia en la literatura que demuestre que la instrumentación mecánica por sí sola da como resultado un sistema de conductos radiculares libre de bacterias. Teniendo en cuenta la compleja anatomía del espacio pulpar del conducto radicular, esto no es sorprendente. Se supone, pero no se demuestra, que cualquier tejido pulpar que quede en los conductos radiculares puede servir como nutriente bacteriano. Además, los restos de tejido también impiden los efectos antimicrobianos de los irrigantes y medicamentos del conducto radicular. Por lo tanto, es necesario algún tipo de irrigación/desinfección para eliminar el tejido de los conductos radiculares y matar los microorganismos (19).

El hipoclorito de sodio, a pesar de demostrar grandes beneficios en la realización del tratamiento de conductos, tiene efectos tóxicos en los tejidos vitales que producen hemólisis, ulceración de la piel y necrosis (20).

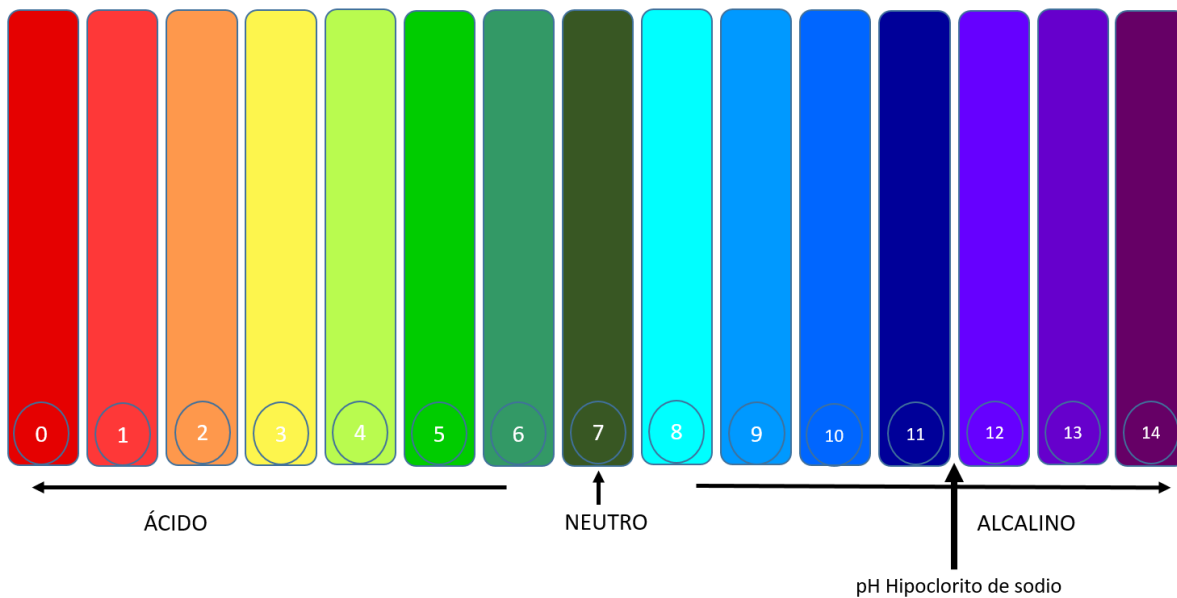
Por otro lado, se ha demostrado que las propiedades de flexión y la dureza de la dentina se ven afectadas negativamente cuando se utiliza NaOCl solo o en combinación(21). Por lo tanto, el fallo mecánico de los dientes tratados endodónticamente es motivo de preocupación. Esto es especialmente crucial en dientes primarios que requieren tratamiento de endodoncia, dientes permanentes jóvenes que requieren procedimientos regenerativos y dientes adultos que requieren retratamiento donde el NaOCl debilitará aún más la calidad del volumen de dentina ya disminuido debido a su efecto adverso sobre el colágeno (22).

Además, los agentes antimicrobianos convencionales, como el hipoclorito de sodio, no pueden eliminar la capa de dentina inorgánica del sistema de conductos radiculares. Para superar esto, el uso de agentes quelantes se vuelve obligatorio y, para ello, se han empleado varios agentes quelantes, como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el ácido maleico y el ácido cítrico (23).

2.4.1. Alternativas naturales

La búsqueda de irrigantes alternativos está impulsada por los factores antes mencionados, la resistencia microbiana de los irrigantes sintéticos y la producción de paracloroanilina, un producto cancerígeno del grupo 2B, cuando se utiliza una combinación de NaOCl con clorhexidina. Actualmente se encuentran disponibles más de 80 productos naturales probables con propiedades medicinales relevantes, de los cuales más de dos docenas han sido investigadas en endodoncia. No inducen resistencia microbiana ni producen efectos carcinógenos (22).

El hipoclorito de sodio tiene un pH aproximado de 11–12 como se muestra en la **Imagen 3** y cuando éste entra en contacto con las proteínas tisulares, se forman nitrógeno, formaldehído y acetaldehído en poco tiempo y los enlaces peptídicos se rompen, lo que provoca la disolución de las proteínas (24).



**Imagen 3. Escala de pH y localización del hipoclorito de sodio en ella**

Los grupos amino (-HN-) se reemplazan por cloro (-NCl), formando así cloramina, que juega un papel importante en la eficacia antimicrobiana. Como consecuencia de estas propiedades, el NaOCl es altamente tóxico a altas concentraciones y tiende a inducir la irritación de los tejidos por contacto (24). Además, se han realizado

estudios en los cuales se documenta el aumento de la resistencia de diferentes bacterias a antibióticos y efectos secundarios causados por drogas sintéticas, lo que ha llevado a buscar diferentes alternativas en el ámbito natural, algunos ejemplos se muestran en la **Imagen 4**; como el jugo de Morinda citrifolia, la Triphala, que es una formulación herbal que consiste en frutos secos y en polvo de tres plantas medicinales como lo son: Terminalia bellerica, Terminalia chebula y Emblica officinalis (25).

Alternativa Herbal	Características
<b>Propóleos</b>	Ayuda en la formación de puentes tejido duro
<b>Polifenoles de té verde</b>	Inhibe el crecimiento y la aparición de bacterias que causan caries.  Contiene fluoruro, que ayuda a prevenir las lesiones cariosas.
<b>Extracto de galla chinensis</b>	Material promotor de recubrimiento pulpar directo.  Menos respuesta pulpar biológica en comparación con Agregado Trióxido Mineral (MTA).
<b>Stevia negra</b>	Agente de recubrimiento pulpar en dientes deciduos con efecto antiinflamatorio.  Conserva vitalidad pulpar después de la aplicación.

**Imagen 4. Ejemplos de alternativas herbales en reparación pulpar y sus principales características**

## II. INTRODUCCIÓN

Los productos herbales están ganando popularidad en la práctica dental y médica hoy en día debido a su biocompatibilidad, mayor actividad antimicrobiana, propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. La medicina herbaria es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una preparación o material de origen vegetal que incluye componentes procesados o crudos de una o más plantas que tienen propiedades medicinales. El uso de alternativas a base de hierbas para el tratamiento del conducto radicular es cada vez más popular. “Fitoterapia, Fitomedicina o Etnofarmacología” son los términos para el uso de hierbas para tratar diversas dolencias. La medicina herbaria ha experimentado un rápido crecimiento en los últimos años debido a sus propiedades beneficiosas, facilidad de disponibilidad y ausencia de efectos secundarios (26).

Alternativa Herbal	Características
<b>Triphala</b>	Propiedades antioxidantes. Remoción de smear layer. Inhibe formación de biofilm.
<b>Propóleos</b>	Buen agente antiinflamatorio y antimicrobiano. Anestésico y propiedades citotóxicas.
<b>Curcuma</b>	Agente antioxidante y antiinflamatorio. Usado en casos de fracaso endodóntico.
<b>Morinda citrifolia</b>	Efectos similares a hipoclorito de sodio como irrigante. Efectivo como agente quelante.

### **Imagen 5. Ejemplos de alternativas herbales en limpieza y desinfección y sus principales características**

A medida que las bacterias patógenas se vuelven más resistentes a los antibióticos y los agentes quimioterapéuticos, los investigadores se interesan más en productos alternativos y opciones de tratamiento para las enfermedades orales. Como resultado, los fitoquímicos naturales separados de las plantas y utilizados en la medicina tradicional son sustitutos adecuados de los químicos sintéticos (27).

Las hierbas podrían ser un buen sustituto de los tratamientos convencionales para los problemas de salud bucal, pero existe una falta de conocimiento sobre su efecto sobre los tejidos bucales, los mecanismos de acción y los efectos secundarios (28).

Son diversas opciones de extractos de plantas naturales las que se han descubierto para llevar a cabo la limpieza y desinfección del sistema de conductos a través de la irrigación efectiva. El jugo de Morinda citrifolia, la Triphala, que es una formulación herbal que consiste en frutos secos y en polvo de tres plantas medicinales como lo son: Terminalia bellerica, Terminalia chebula y Emblica officinalis; y cúrcuma, son solo algunas de las opciones que se pueden utilizar en la medicación e irrigación intraconductos (29).

Por otro lado, las cáscaras de frutas igualmente han demostrado actividades antimicrobianas contra una amplia gama de microorganismos, incluidos el *E. faecalis*. Por ejemplo, una coenzima extraída de la cáscara de papaya inmadura fermentada es rica en papaína, la cual, exhibe una eficacia antibacteriana significativa contra el *E. faecalis*. Un estudio realizado por Duarte y colaboradores documentó que el 0.8% de papaína es igualmente eficaz que el 1.0% de hipoclorito de sodio y cumple con las características de menos nocividad en tejidos vitales, lo anterior, debido a que sus actividades proteolíticas se dirigen selectivamente a los tejidos no saludables donde la antiproteasa plasmática está ausente. De igual manera, una ecoenzima de la cáscara de piña (*Ananas comusus*) y de naranja (*Citrus aurantium L*) tienen propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias; si se tiene una sinergia de ambas ecoenzimas, se puede aumentar la actividad

antimicrobiana contra una amplia gama de bacterias. También la enzima bromelina obtenida de los extractos de piña, es eficaz para la destrucción de *E. faecalis*, alterando los componentes de peptidoglicano y polisacárido de las membranas celulares bacterianas. Además de lo anterior, diversos estudios han demostrado que la adición de EDTA a la coenzima de cáscaras de frutas, puede mejorar las actividades proteolíticas de la enzima, aumentando la actividad antimicrobiana (30).

Como se mencionó anteriormente, a medida que las bacterias patógenas se vuelven más resistentes a los antibióticos y los agentes quimioterapéuticos, los investigadores se interesan más en productos alternativos y opciones de tratamiento para las enfermedades orales. Como resultado, los fitoquímicos naturales separados de las plantas y utilizados en la medicina tradicional son sustitutos adecuados de los químicos sintéticos. Las hierbas podrían ser un buen sustituto de los tratamientos convencionales para los problemas de salud bucal, pero existe una falta de conocimiento sobre su efecto sobre los tejidos bucales, los mecanismos de acción y los efectos secundarios (31).

### 2.4.1.1. Bromelina

Dentro del ámbito natural, la bromelina es el término general utilizado para un grupo de enzimas proteolíticas que se asocian comúnmente con endopeptidasas más específicas presentes en el tejido de la familia de plantas *Bromeliaceae*. La planta más destacada perteneciente a esta familia es la piña (*Ananas comosus*). La bromelina se identificó por primera vez en 1876, pero no fue completamente aislada, purificado y caracterizado hasta mucho más tarde (32).

Aunque la planta de la piña contiene una pequeña cantidad de otras enzimas proteolíticas, como la ananaína y la comosaína, la bromelina sigue siendo la principal y más explorada entre estas enzimas proteolíticas. Fisiológicamente, la bromelina está presente en abundancia tanto en el tallo como en el fruto de las plantas de piña, y Heinecke lo encontró por primera vez en 1957 que había considerablemente más bromelina en el tallo de la piña que en la fruta real. Estudios posteriores han demostrado que también se puede extraer en pequeñas cantidades

de otros segmentos de la palmera, como el sistema radicular, el folíolo y la corteza (32).

La bromelina es una de las pocas proteasas vegetales que se pueden extraer de una variedad de componentes vegetales, incluida la pulpa, el tallo, la cáscara y las hojas de la fruta. La concentración de bromelina es mayor en el tallo que en el fruto y, por lo tanto, el tallo es una de las fuentes de bromelina más disponibles y abundantes. Dada esta amplia gama de posibles fuentes de enzimas de la planta de piña, los investigadores ahora han centrado sus esfuerzos en la búsqueda de métodos alternativos más eficientes para obtener bromelina purificada en menos pasos y más económicos. Procesos de micropropagación, sistemas micelares inversos, filtración por membrana, y extracción acuosa en dos fases son los métodos de extracción de bromelina más estudiados y prometedores. Además, los científicos continúan utilizando la tecnología avanzada de ADN recombinante para producir y purificar bromelina recombinante a gran escala (33).

La bromelina previene el desarrollo de bacterias intestinales, como *Escherichia coli* y *Vibrio cholera*, y también puede inhibir la bacteria enterotoxigénica *Escherichia coli* (ETEC). Los estudios han demostrado que los receptores ETEC pueden inactivarse temporalmente in vivo y ejercer este efecto al interactuar con vías de señalización secretora intestinal, como tal, puede contrarrestar una serie de efectos relacionados con los patógenos intestinales y no solo esto, sino que la bromelina tiene un efecto sinérgico cuando se administra junto con antibióticos, y estos dos mecanismos pueden explorarse cuando se busca descubrir más los beneficios de la bromelina contra infecciones específicas. Además, al inducir la fagocitosis y la muerte por ruptura pulmonar de *Candida albicans*, se ha informado que la bromelina actúa como agente antifúngico. Otra afección de la piel en la que la bromelina tiene eficacia es la pitiriasis liquenoide crónica, que ha demostrado curar por completo la enfermedad causada por la pitiriasis liquenoide (33).

Debido a sus buenas funciones biológicas, la falta de citotoxicidad sistémica y, a menudo, los excelentes beneficios que ofrece, la bromelina se ha utilizado permanentemente en muchas industrias, como la cosmetología, la farmacia, la

alimentación y la biotecnología. Además, cada vez más datos científicos indican las interesantes propiedades antitumorales de los extractos de bromelina que respaldan la acción de los agentes quimioterapéuticos disponibles. El uso comercial de la bromelina ha contribuido al desarrollo de métodos efectivos para extraer la enzima del tallo de la piña, y las preparaciones resultantes se caracterizan por su ultra pureza (34).

Varios grupos han proporcionado evidencia significativa de la eficacia antibacteriana de la bromelina en una variedad de experimentos clásicos utilizando diferentes especies bacterianas. En el uso de bromelina contra bacterias multirresistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, los autores demostraron que el extracto de piña inhibía el crecimiento bacteriano. Zharfan *et al.*, aceptan la hipótesis de que la bromelina, como enzima proteolítica, induce la descomposición de proteínas enzimáticas en la membrana superficial, lo que en última instancia debilita la pared celular, provoca fugas celulares, se hincha, se rompe en la membrana bacteriana y daña la célula (34).

Los datos sobre la eficacia antibacteriana de la bromelina indican su excelente actividad contra las bacterias, especialmente comunes durante las infecciones orales: *enterococcus faecalis*, *streptococcus mutans*, *streptococcus sanguis*, *Yestafilococo aureus*, como periodontitis, conductos radiculares infectados, abscesos perirradiculares o caries dental. En todos los casos, se ha demostrado que la bromelina tiene un fuerte efecto antibacteriano, lo que lleva a la inhibición del crecimiento y la muerte bacterianos (35).

### 2.4.1.2. Triphala

Como se ha mencionado anteriormente, en los años recientes, el campo de la medicina y la odontología se ha desplazado hacia el uso de hierbas medicinales en diversas aplicaciones. Triphala es una medicina tradicional que consiste en la mezcla de tres extractos de plantas: Terminalia Chebula, Terminalia bellirica y Emblica officinalis (36). El ácido cítrico de los frutos actúa como agente quelante, lo que ayuda a eliminar la capa de smear layer de la pared del conducto (37).

La tripala se ha utilizado en la medicina tradicional india para el tratamiento de dolores de cabeza, estreñimiento y trastornos hepáticos (38). El ácido tánico es su componente principal y posee excelentes propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Según las primeras investigaciones, el ácido tánico tiene un efecto inhibidor sobre el crecimiento de bacterias y un efecto bactericida tanto sobre bacterias Gram positivas como Gram negativas (39).

Varios estudios microbiológicos e in vitro han respaldado el uso de triphala como irrigante del conducto radicular y medicamento intraconducto (36).

Diversos estudios iniciales han demostrado el efecto bacteriostático o bactericida del ácido tánico sobre patógenos grampositivos y gramnegativos y se considera que en comparación con los irrigantes de conducto radiculares de uso común, es seguro y está compuesto de compuestos con efectos fisiológicos adecuados además de sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Dentro de las ventajas más importantes de Triphala incluyen fácil acceso, bajo costo, sustentividad a largo plazo, menor toxicidad y ausencia de resistencia microbiana (38).

### 2.4.1.3. Nejayote

Las aguas residuales de la cocción de cal de maíz se conocen como nejayote, este es un líquido que tiene un pH alto (alrededor 12-14) y una alta carga de materia orgánica. Este líquido se desecha en México, en alrededor de 422,000 toneladas de aguas residuales, lo que genera un problema de contaminación, ya que se vierte directamente al alcantarillado público. Aunque es considerado un residuo, aún contiene una alta concentración de ácido ferúlico, fibra, carbohidratos, almidón y otros nutrientes (40). También contiene estructuras del maíz como partes germinales, pericarpio, estructuras celulósicas, proteínas, calcio y endospermo, y por tanto, altas concentraciones de materia orgánica disuelta y suspendida (DQO > 10,200 mg/L), y generalmente es considerado uno de los efluentes más contaminantes de la industria alimentaria (41).

El nejayote se puede utilizar como materia prima para producir productos de alto valor, como enzimas, a partir del proceso de fermentación. La fermentación en estado sólido y sumergida son sistemas de producción de metabolitos de bajo costo (42). Por esta razón, la reutilización del Nejayote para ser purificado o utilizado en otros procesos antes de su disposición tiene gran importancia en términos de salud ambiental (41).

Se han realizado estudios en los cuales las fracciones de nejayote están compuestas de azúcares fermentables (es decir, glucosa, arabinosa, xilosa y sus oligómeros) que se han propuesto como sustratos para el crecimiento de biomasa (43). Además, también se han utilizado compuestos fenólicos por su actividad antimicrobiana; por ejemplo, el extracto fenólico de Nejayote mostró un poder antimicrobiano moderado-alto cuando se aplicó a bacterias patógenas (p. ej., cepa *L. monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) y bacterias fitopatógenas (p. ej., *Erwinia carotovora*). Mientras que el ácido ferúlico aislado de la pared celular del salvado de maíz tiene actividad antifúngica contra *Alternaria sp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium oxysporum* (44).

En un estudio realizado por Ramirez K, *et. al.* en el año 2020, se determinaron las condiciones óptimas para bioactividad del nejayote, en el cual, el proceso de fermentación optimizado maximizó la biomasa del agente fermentante, el contenido fenólico y la actividad antioxidante del nejayote y aumento significativamente la actividad antimicrobiana del nejayote contra *Salmonella typhimurium* y *Enterococcus faecalis*. El proceso aumentó el contenido de los ácidos hidrodiferúlico, hidrotriferúlico y ferúlico y sintetizó ácido cafeico. Por lo tanto, se puede considerar que el nejayote fermentado es un producto de valor añadido con propiedades antioxidantes y antimicrobianas mejoradas (45).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tomando en cuenta los efectos adversos del NaOCl durante el tratamiento de conductos, nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Tendrá el mismo o similar efecto antibacteriano un agente de irrigación a base de un extracto natural (bromelina, tripala y nejayote) contra el *E. faecalis*?

## IV. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones endodónticas primarias son causadas por microorganismos patógenos oportunistas que invaden el sistema de conductos radiculares y establecen procesos infecciosos. Para su erradicación, adicionalmente a la instrumentación mecánica, se ha utilizado la irrigación, a través de diferentes agentes como el hipoclorito de sodio. Se ha demostrado que el NaOCl es significativamente eficiente para la eliminación del *E. faecalis*; sin embargo, este irrigante, cuenta con algunas desventajas como su alta TOXICIDAD, sabor desagradable e incapacidad para eliminar barrillo dentinario. Además, se han realizado estudios en los cuales se documenta el aumento de la resistencia de diferentes bacterias a antibióticos y efectos secundarios causados por drogas sintéticas, lo que ha llevado a buscar diferentes alternativas en el ámbito natural, como la coenzima bromelina, la tripala y el nejayote; siendo el objetivo del presente estudio, la evaluación de la efectividad de estos agentes como medios de desinfección en el sistema de conductos.

## V. HIPÓTESIS

### 5.1. HIPÓTESIS GENERAL

Un irrigante natural a base de bromelina, triphala o nejayote tiene un efecto microbicida semejante al hipoclorito de sodio al 5.25%, sobre una cepa bacteriana clínica de *E. faecalis*.

### 5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)

Existe una actividad antibacteriana diferente entre un irrigante natural a base de bromelina, triphala o nejayote en comparación con hipoclorito de sodio al 5.25% de concentración, contra el *E. faecalis*, con un nivel de confianza de 95%.

### 5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)

Al menos uno de los irrigantes naturales a base de bromelina, triphala o nejayote tiene una actividad antibacteriana similar al hipoclorito de sodio a una concentración del 5.25%, con un nivel de confianza de 95%.

## VI. OBJETIVOS

### 6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad microbicida *in vitro* de irrigantes naturales a base de ecoenzima bromelina, triphala y nejayote, así como, hipoclorito de sodio al 5.25% de concentración contra una cepa bacteriana clínica de *E. faecalis*.

### 6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtención de la ecoenzima bromelina, a partir de fermentación de cáscaras de piña, utilizando melaza en un medio acuoso.
2. Determinar actividad microbicida de bromelina, triphala y nejayo con respecto a hipoclorito de sodio al 5.25%.
3. Evaluar efecto hemolítico de los extractos naturales bromelina, triphala, nejayo e hipoclorito de sodio a 5.25%, mediante la medición de su capacidad hemolítica en diferentes concentraciones.
4. Análisis estadístico de los resultados obtenidos.

## VII. VARIABLES

### 7.1. INDEPENDIENTES

-Agente irrigante:

- Extracto de ecoenzima bromelina.
- Extracto de triphala.
- Extracto de nejayote

-Microorganismo: cepa clínica de *E. faecalis*.

### 7.2. DEPENDIENTE

-Halo de inhibición observado cómo crecimiento antibacteriano provocado por el tipo de irrigante.

-Actividad sobre eritrocitos.

### 7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de bromelina, tripala y nejayote en diferentes concentraciones sobre la bacteria *E. faecalis*. Lo anterior se llevó a cabo midiendo halos de inhibición con la utilización de un vernier electrónico en las cajas Petri, en medios de cultivo de agar sangre, durante un periodo de 24 horas. Se realizó un análisis estadístico GraphPad Prism Software (versión 10 para Windows, San Diego, California USA) por medio de comparación múltiple Tukey, mediante el análisis de varianza ANOVA de una vía.

Por otro lado, se evaluó el efecto citotóxico de los extractos de triphala y nejayote sobre la suspensión de eritrocitos mediante la medición de la absorbancia a 600 nm en un lector multipozo. Para llevarlo a cabo, se realizaron diversas diluciones con el objetivo de obtener una variedad de concentraciones de los extractos acuosos y se

utilizó el programa GraphPad Prism Software (versión 10 para Windows, San Diego, California USA) por medio de comparación múltiple Tukey, mediante el análisis de varianza ANOVA dos vías, para determinar si existían diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de los extractos sobre la suspensión de eritrocitos.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental *In Vitro*.

### 8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

#### 8.2.1. Método de evaluación de inhibición antibacteriana

**Grupo Bromelina:** Cajas Petri conteniendo los cultivos de la bacteria *E. faecalis*, expuestos a soluciones de extracto de bromelina en diferentes concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%).

**Grupo Triphala:** Caja Petri conteniendo cultivos de la bacteria *E. faecalis*, expuesto a solución de extracto de triphala en concentración de 100%.

**Grupo Nejayote:** Caja Petri conteniendo cultivos de la bacteria *E. faecalis*, expuesto a solución de extracto de nejayote en concentración de 100%.

**Grupo control positivo:** NaOCl a 5.25%.

**Grupo control negativo:** Solución salina.

#### 8.2.2. Método de evaluación hemolítica en eritrocitos

**Grupo 1:** Muestra de cultivo de eritrocitos al 4% expuestos a diferentes concentraciones de extracto de triphala (100%, 75%, 50%, y 25%).

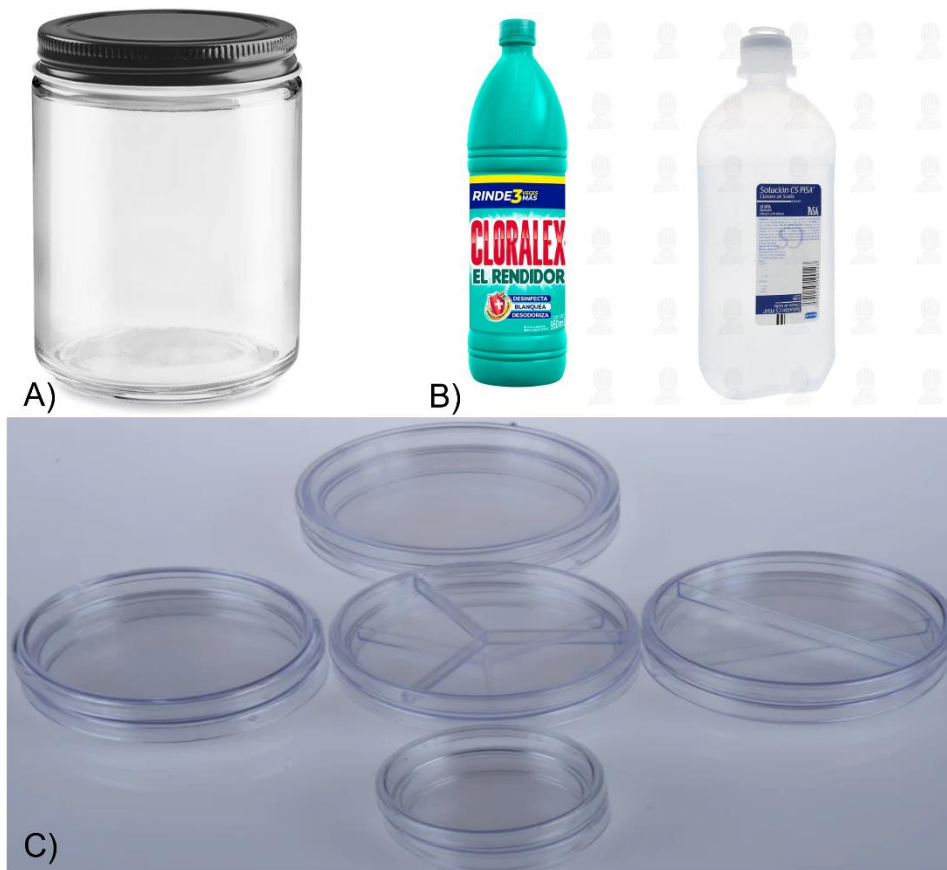
**Grupo 2:** Muestra de cultivo de eritrocitos al 4% expuestos a diferentes concentraciones de extracto de nejayote (100%, 75%, 50%, y 25%).

**Grupo control positivo:** Detergente.



## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

(McKESSON), pipeta Pasteur de vidrio estéril, fuego para área estéril (alcohol sólido, THERMO), plumón negro marcador permanente (sharpie), incubadora (HHD), regla calibradora electrónica vernier, micropipeta (VWR de 2-20  $\mu\text{L}$ , 100-1000  $\mu\text{L}$ ), extractos de bromelina, triphala y nejayote; además, se utilizarán cajas Petri marca Citotest (Jiangsu, P.R. China) y se utilizará solución salina estéril marca Pisa (México), como medio de control negativo (Ver **Imagen 7**).



**Imagen 7. A) Recipientes herméticos B) Hipoclorito de sodio y solución salina C) Cajas Petri**

Para la recolección de la muestra sanguínea se utilizó alcohol etílico al 70% para desinfección de área de punción, una jeringa hipodérmica de 10ml (BD Plastipak) para punción y la extracción de la muestra sanguínea, torniquete venoso suave para extracción de sangre, tubos de tapón morado con anticoagulante EDTA (BD VACUTAINER con EDTA K2) Para la medición de la citotoxicidad a través de

actividad hemolítica se utilizaron gradilla para tubos Eppendorf, una centrífuga para tubos Eppendorf (Eppendorf, Centrifuge 5418), solución salina al 0.9% (cloruro de sodio, CS PiSA), un frasco de vidrio de boca ancha para el lavado de eritrocitos, micropipetas (VWR de 2-20  $\mu$ L, 100- 1000  $\mu$ L) y el lector de absorbancia el fotómetro de mesa multiparamétrico y medidor de pH (H183399 HANNA), extractos de triphala y nejayote al 100 %, 75%, 50% y 25% cada uno, NaOCl al 5.25% (botella de hipoclorito de sodio, contenido líquido de 930 g Clorox, Tijuana, México).

#### 8.4. METODOLOGÍA

##### 8.4.1. Fermentación de cáscaras de piña para obtención de coenzima Bromelina

Para la realización de este estudio *in vitro* se preparó un extracto de coenzima presente en las cáscaras de piña; el extracto se preparó por duplicado, y se realizó mezclando 75 gramos de cáscaras de piña, 25 gramos de melaza y 250 ml de agua de grifo y se almacenaron en recipientes herméticos transparentes. Cada mezcla se almacenó y fermentó durante 4 meses.

Con 100% de concentración después del período de fermentación se filtraron de forma estéril para la prueba de eficacia antimicrobiana contra *E. faecalis*.

##### 8.4.2. Realización de diferentes concentraciones de bromelina

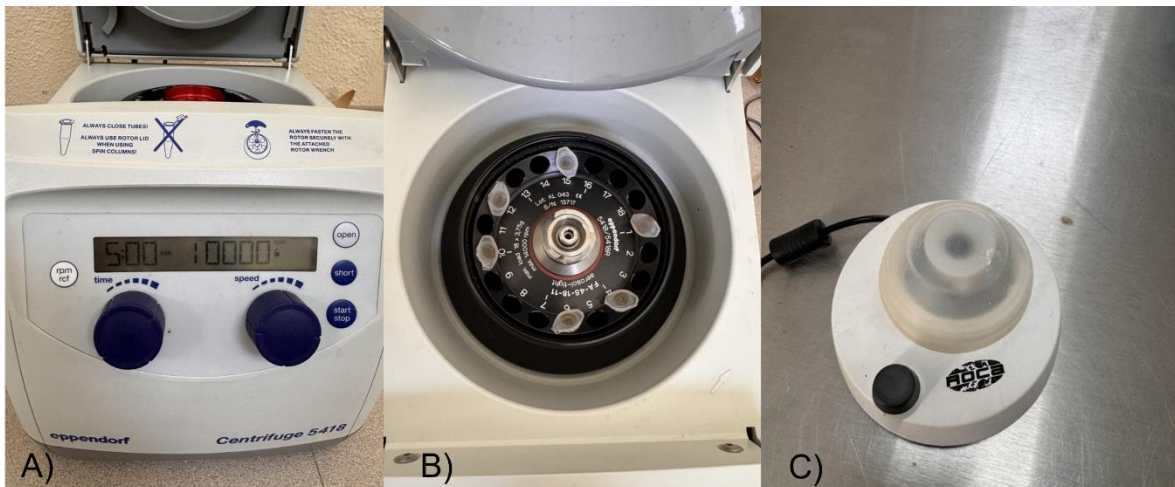
Para la toma de muestra del extracto de bromelina, se realizó a través de micropipeta en 5 cinco tubos Eppendorf, en los cuales se realizaron las siguientes concentraciones:

CONCENTRACIÓN	EXTRACTO	SOLUCI ÓN SALINA
100%	1 mililitro (ml)	
75%	750 microlitros ( $\mu$ L)	250 $\mu$ L

50%	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L
25%	250 $\mu$ L	750 $\mu$ L

Una vez obtenidas las diferentes concentraciones, los cuatro tubos Eppendorf se sometieron durante 10 minutos a un agitador vórtex que nos permitió tener diluciones bien mezcladas mediante la agitación constante durante el tiempo determinado.

Una vez bien agitados, se colocaron los tubos en la centrífuga y se programó durante 5 minutos a 10,000 revoluciones por minuto (rpm), esto para separar completamente los elementos sólidos que pudiera contener el extracto de bromelina y quedarnos con un sobrenadante adecuado para la realización de la prueba.



**Imagen 8. A) Centrífuga programada por 5 minutos a 10,000 rpm B) Colocación de los tubos Eppendorf en la centrífuga C) Agitador Vórtex**

#### 8.4.3 Realización de solución de Triphala

Basándonos en algunos artículos, se realizó una primera preparación de de 5 mg/ml de triphala con dimetil sulfóxido. El pesaje de los miligramos de polvo de triphala se llevó a cabo con báscula, como se puede observar en la **Imagen 9** y con la ayuda

de una espátula estéril, mientras que el líquido de dimetil sulfóxido fue tomado directamente de la botella con micropipeta.



**Imagen 9. Pesado de polvo de triphala**

Se obtuvo una primera solución de triphala, la cual fue sometida a agitación mediante vórtex durante 10 minutos y posteriormente a una centrifugación de 30 minutos a 8,000 rpm con la cual se realizó una prueba piloto, en la cuál si bien no hubo un indicio completamente cierto de la actividad antibacteriana, uno de los pocillos tuvo un pequeño indicio de actividad, por lo que se tomó la decisión de aumentar la concentración a 50 mg/ml (ver **Imagen 10**)

Para realizar lo anterior, se llevó a cabo el mismo procedimiento de agitación vórtex durante 10 minutos y posterior centrifugación durante 30 minutos a 8,000 rpm, pero con el nuevo grado de concentración de polvo de triphala.



Imagen 10. Nueva concentración de polvo de triphala



Imagen 11. Diferencia entre concentraciones de triphala

### 8.4.4. Obtención de solución de nejayote

La nixtamalización se realizó según Gutiérrez Uribe *et al.* (2010). Se utilizaron 10 kg de maíz, adicionados con 10 g de cal alimentaria (D.E.Q., Monterrey, México) y 10 litros de agua. Esto se cocinó durante 44 min a 95 °C y los granos cocidos se dejaron reposar durante 16 h a temperatura ambiente. Se recuperó el agua residual, se lavó el maíz nixtamalizado y se añadió el agua a los residuos. Se centrifugó nejayote (aproximadamente 30 L) durante 10 minutos a 3000 gramos y 4 °C (Thermo Scientific IEC CL40R, Waltham, MA, EE. UU.) para recuperar los sólidos suspendidos.

### 8.4.5. Evaluación de la actividad antibacteriana

Una vez obtenidas las diluciones adecuadas, en un campo de trabajo estéril, mediante el uso de fuego sólido, laysol y alcohol al 70% (ver **Imagen 12**), una vez estéril, se colocaron todos los materiales necesarios dentro del campo o zona estéril.

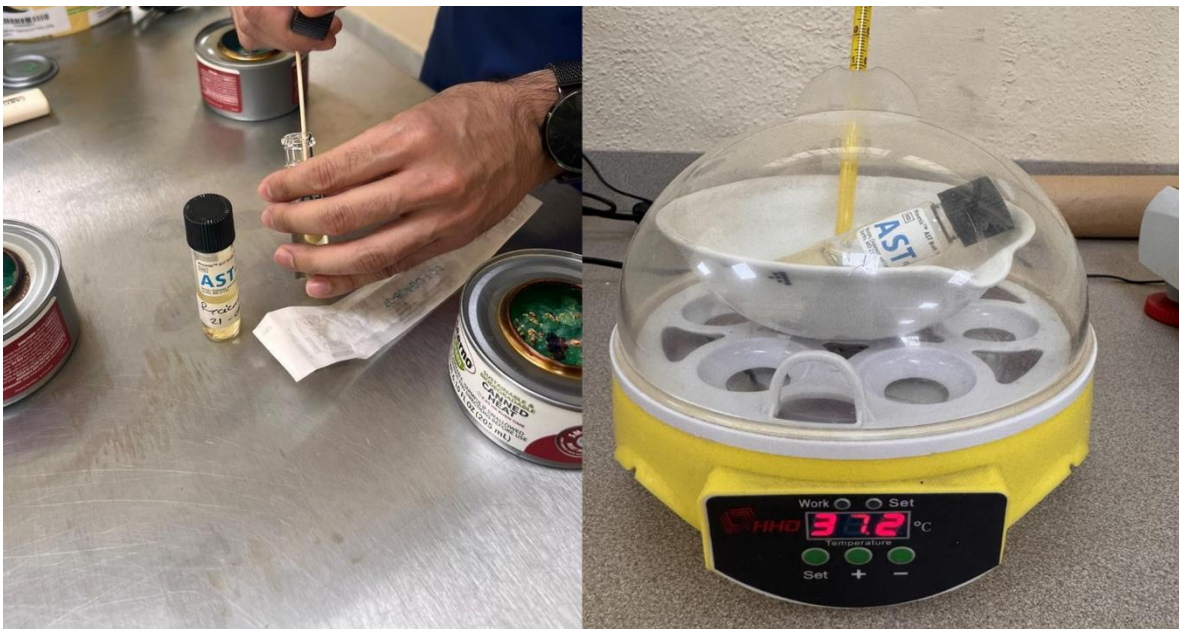


**Imagen 12. Campo de trabajo estéril**

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la preparación de las cajas Petri y los pozos, se abrieron las cajas Petri que contenían medio Agar Sangre. Se utilizaron pipetas Pasteur de vidrio estériles para realizar pozos de 6 milímetros (mm) de diámetro con una distancia de 15-26 mm aproximadamente entre cada uno. Estos pozos se utilizaron para colocar los extractos en triplicado.

En la preparación de la inoculación, se abrió el tubo de cultivo en caldo que contenía la cepa clínica de *E. faecalis*, la cual se había dejado previamente en incubadora durante 24 horas y una temperatura de 37 °C para lograr un punto óptimo de la bacteria (Ver Imagen 13. Incubación de bacteria 24 horas a 37 °C. Imagen 13). Se utilizó un hisopo estéril para tomar una muestra del cultivo sumergiéndose en el tubo.



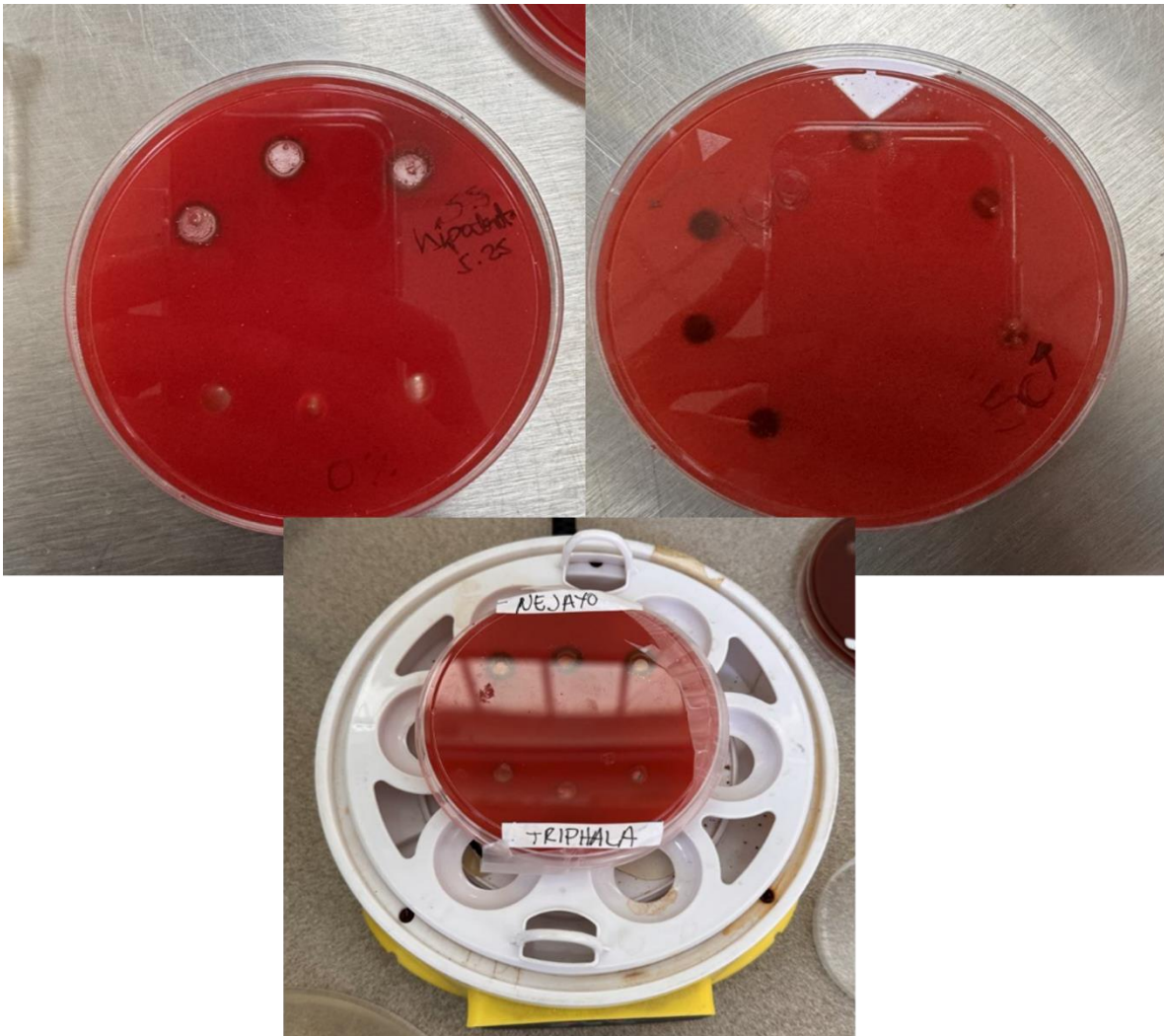
**Imagen 13. Incubación de bacteria 24 horas a 37 °C.**

La siembra en las cajas Petri se utilizaron 100  $\mu$ L tomados con micropipeta, del caldo de cultivo de *E. faecalis* en cada una de las cajas; se abrió la primera caja Petri y se realizó la siembra utilizando la técnica de extensión o hisopado en una sola dirección, asegurando la confluencia de *E. faecalis*. Posteriormente, se giró la caja en un ángulo de 60 ° dos veces más, lo que permitió realizar tres estriaciones

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

para obtener una distribución uniforme de la muestra. Después de la siembra, se dejó secar durante aproximadamente 15 minutos antes de agregar los extractos y soluciones irrigantes que se estaban estudiando.

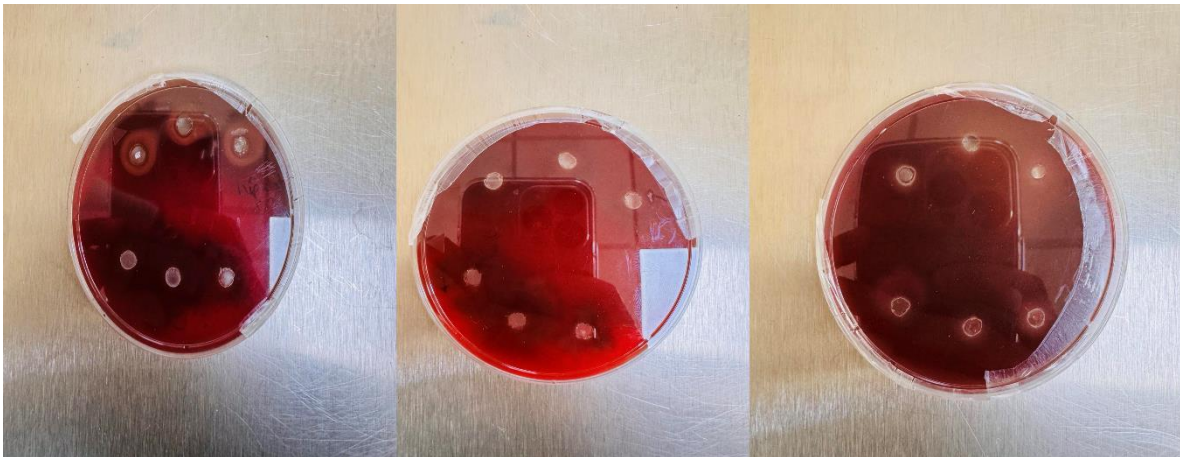
En la colocación de los extractos y soluciones, se emplearon micropipetas, para depositar 50  $\mu$ L de los extractos de bromelina, triphala y nejayote en cada pocillo, así como soluciones de NaOCl al 5.25% y solución salina en cada pocillo por triplicado (Ver **Imagen 14**).



**Imagen 14.** Irrigantes colocados en pocillos inoculados con *E. faecalis*



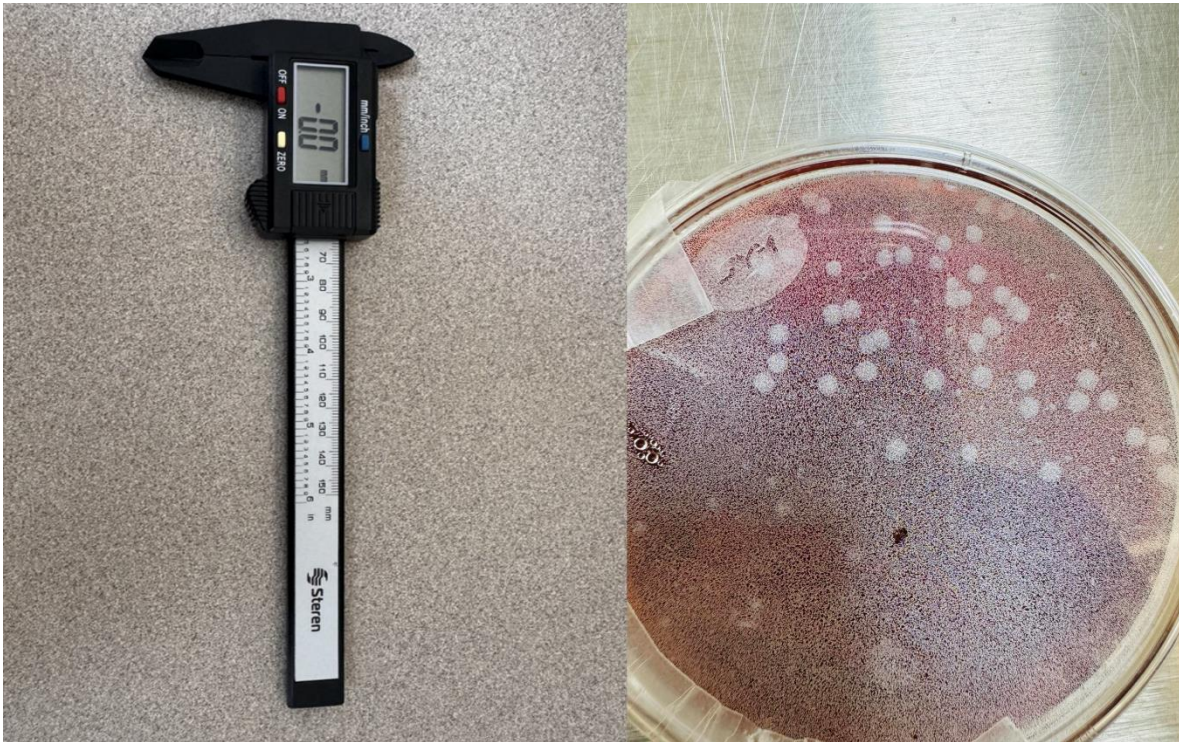
Las cajas Petri se sellaron con papel Parafilm, esto para el control de la apertura, dejando espacios para la obtención de oxígeno de la bacteria; se incubaron a 37 °C durante 24 horas.



**Imagen 15. Cajas Petri retiradas de incubadora después de 24 horas.**

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las cajas Petri fueron retiradas de la incubadora y se procedió a realizar las lecturas de los resultados (**Imagen 15**) Utilizando una regla calibradora vernier, se midió el diámetro del halo de inhibición formado al cabo de 24 horas.



**Imagen 16. Vernier electrónico y biofilm desarrollado en el medio de cultivo Agar sangre.**

### 8.4.6. Evaluación del efecto citotóxico a través de la actividad hemolítica

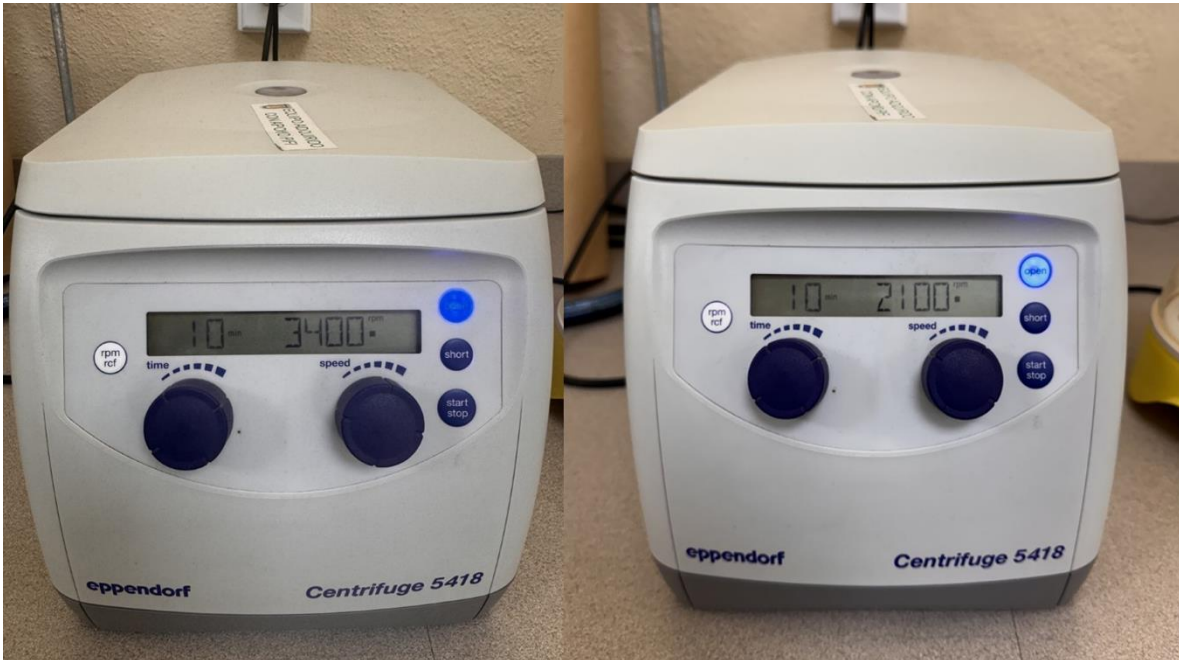
El paciente elegido para la extracción sanguínea fue un paciente masculino de 34 años, sin antecedentes sistémicos patológicos y que se encontraba en buen estado de salud.

Se aplicó un torniquete para realizar la punción en el brazo del paciente; se utilizó una jeringa hipodérmica y se extrajeron 10 ml de muestra. Posteriormente se colocó en un tubo de tapón morado con anticoagulante EDTA (BD VACUTAINER con EDTA K2), esto para garantizar su conservación para su posterior uso.



**Imagen 17. Tubo utilizado para contener la muestra sanguínea**

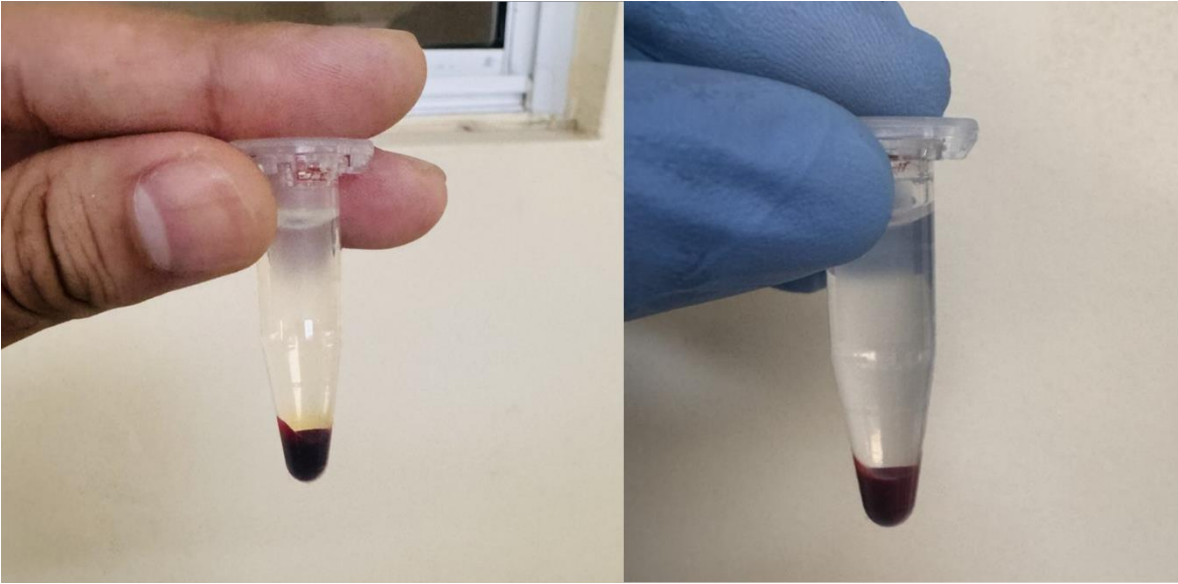
La preparación de la solución de eritrocitos se llevó a cabo añadiendo solución salina a una muestra glóbulos rojos para su posterior procesamiento en 16 tubos Eppendorf. A continuación, se realizó una primera centrifugación a 3,400 rpm durante 10 minutos con el fin de separarlos del suero. Una vez obtenidos los botones de eritrocitos, se añadió de nuevo solución salina a los 16 tubos Eppendorf y se realizó una nueva centrifugación a 2,000 rpm y un tiempo de 10 minutos, con tres repeticiones más; dando un total de lavados de 5 (ver **Imagen 18**). Posteriormente, fueron almacenados a baja temperatura para conservación y uso posterior



**Imagen 18. Centrifuga preparada para lavados de eritrocitos**

Para obtener una solución madre de eritrocitos al 4% se eliminó el sobrenadante, dejando únicamente el botón de glóbulos rojos, repitiendo este proceso en todos los tubos Eppendorf con los que se contaban. Una vez quedando el botón de glóbulo rojo, se toma con una micropipeta plástica para obtener el botón, obteniendo 1.2 ml. de eritrocitos y colocarlos en una probeta graduada de 50 ml (Ver **Imagen 20.**) Posteriormente se agregó solución salina gradualmente hasta alcanzar un volumen definitivo de 40 ml. La solución resultante de eritrocitos al 4% se transfirió a un tubo Eppendorf de 45 ml. y se almacenó bajo refrigeración (Ver **Imagen 21.**)

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS



**Imagen 19. Botones de eritrocitos obtenidos en cada lavado con solución salina**



**Imagen 20. A) Botones de eritrocitos obtenidos; B) Colocación de botones de eritrocitos en probeta; C) Adición de solución salina para obtención de solución madre.**



Imagen 21. Solución madre de eritrocitos.

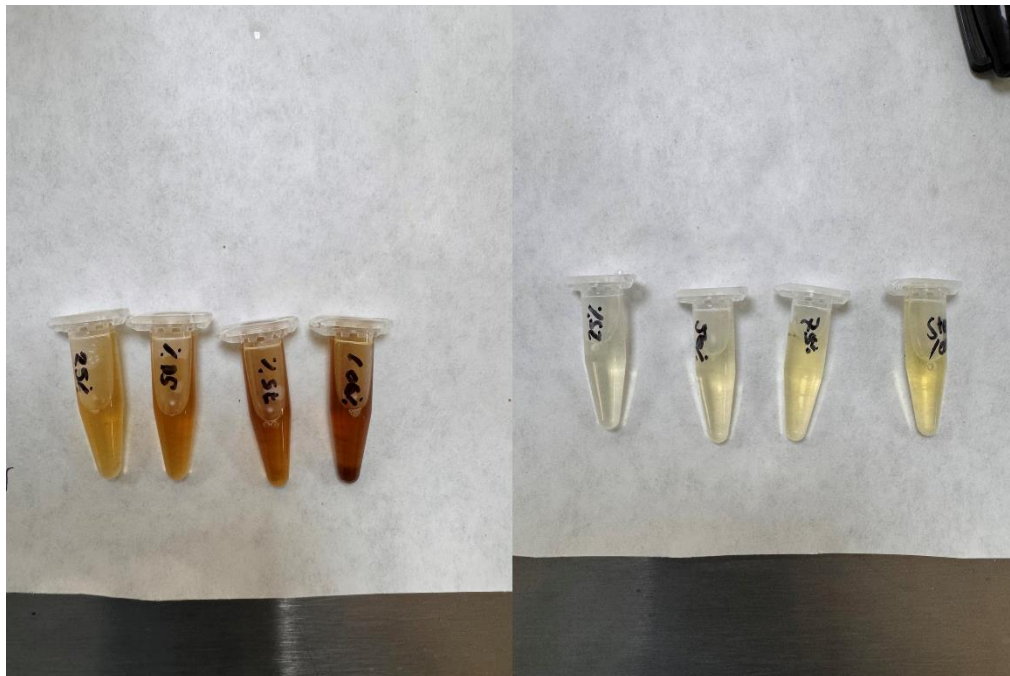


Imagen 22. Diferentes diluciones de extractos para prueba de actividad hemolítica.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la actividad hemolítica, se tomó una muestra de 1 ml de la solución madre y se agregó a los extractos en suspensión (500  $\mu$ L). Para el extracto de triphala, se realizaron diluciones en concentraciones del 100%, 75%, 50%, 25%. Por otro lado, para el extracto de nejayote se realizaron diluciones en concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25% (Ver **Imagen 22**). Además, se incluyeron controles para comparar resultados. La solución salina se utilizó como control negativo y NaOCl al 5.25% como control positivo.

Las muestras diluidas junto con los controles fueron incubadas en tubos Eppendorf y se colocaron en la incubadora a una temperatura de 37°C durante un periodo de 1 hora. Posterior a la incubación las muestras fueron centrifugadas por 5 minutos a una velocidad de 10,000 rpm.



**Imagen 23. Centrifuga programada para realizar el último proceso de centrifugación**

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Para medir el rendimiento de la hemoglobina en el sobrenadante, se utilizó un espectrofotómetro. Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 600 nanómetros (nm) utilizando un lector de absorbancia modelo H183399 HANNA.



**Imagen 24. Espectrofotómetro para leer absorbancia**

Una vez registrado los resultados de absorbancia en el espectrofotómetro se utilizó la fórmula que se muestra en la figura 25, para medir el porcentaje de hemólisis presente en las muestras.

$$\text{Porcentaje de hemólisis (\%)} = \frac{\text{Muestra abs 540-655nm} - \text{control negativo abs 540-655nm}}{\text{Control positivo abs 540-655nm} - \text{control negativo abs 540-655nm}} \times 100$$

**Imagen 25. Fórmula para estimar porcentaje de hemólisis**

### 8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo utilizando el programa de GraphPad Prism Software (versión 10 para Windows, San Diego, California USA, 2024) por medio de comparación múltiple Tukey, mediante el análisis de varianza ANOVA de una vía (ANOVA, por sus siglas en inglés) para la experimentación antibacteriana y se utilizó comparación múltiple Tukey, ANOVA de dos vías para la experimentación de hemólisis. La diferencia fue considerada como significativa a  $p < 0.05$ .

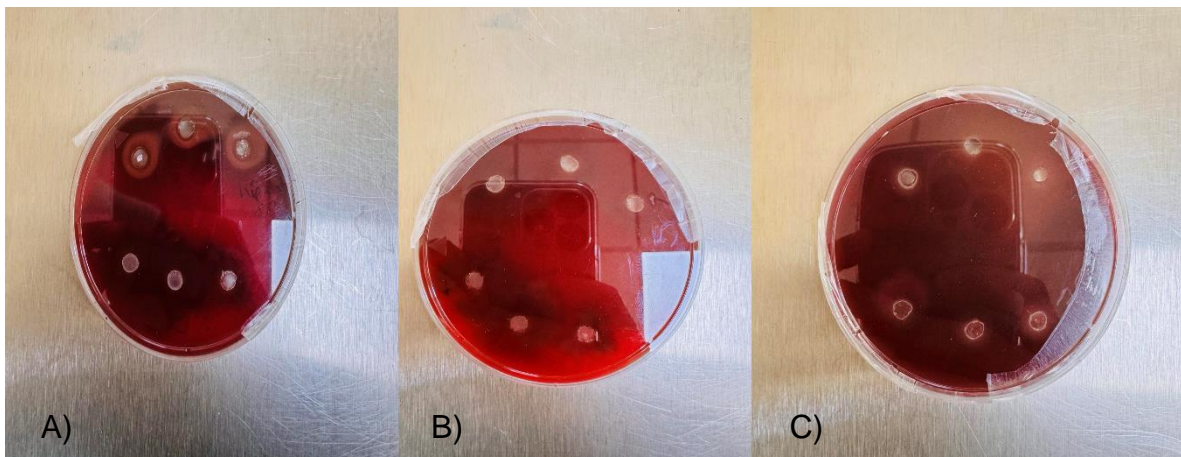
## IX. RESULTADOS

### 9.1. INHIBICIÓN DE MICROORGANISMOS POSTERIOR A INCUBACIÓN

En el presente estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de tres extractos, bromelina, triphala y nejayote, utilizando la prueba de difusión agar. Se utilizó una cepa clínica de *E. faecalis* como cepa modelo para las pruebas microbiológicas.

Se realizaron pruebas de difusión de agar utilizando diferentes concentraciones de los extractos de bromelina, triphala y nejayote. Los resultados obtenidos se expresaron en forma de halos de inhibición, los cuales fueron medidos en milímetros tras un período de incubación de 24 horas.

Para el extracto de bromelina, se buscó actividad antibacteriana, en ninguno de los casos se observó inhibición del crecimiento para la cepa clínica utilizada en este estudio.



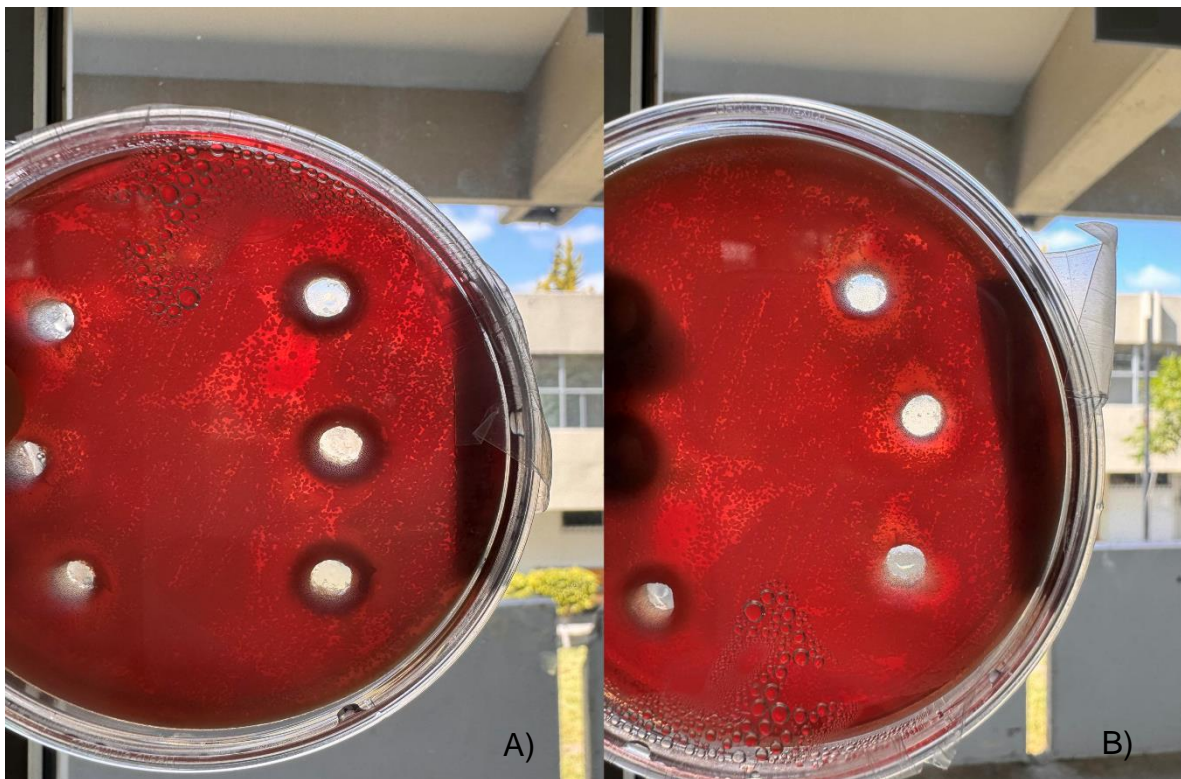
**Imagen 26. A) Halos de inhibición del NaOCl a 5.25% y solución salina; B) Pruebas en proporción 25% y 50%; C) Pruebas de proporción 100% y 75%**

Para el extracto de triphala, se observó inhibición de crecimiento bacteriano, con una media en los halos de inhibición de 9.3 mm en proporción de 100%. Mientras

## IX. RESULTADOS

que para el nejayote se obtuvo una media de 8.1 mm al 100%, para el NaOCl al 5.25% se obtuvo una media de los halos de inhibición de 20.47mm.

Se realizó también un análisis estadístico comparativo entre la actividad microbica entre los irrigantes (bromelina, triphala y nejayote), en la cual, para todas las comparaciones, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ( $<0.0001$ ), excepto, en la comparativa entre el irrigante de bromelina y el grupo control negativo (solución salina) y en la comparativa de actividad microbica entre triphala y nejayote (ver **Imagen 28**).



**Imagen 27. A) Halos de inhibición de nejayote; B) Halos de inhibición de triphala**

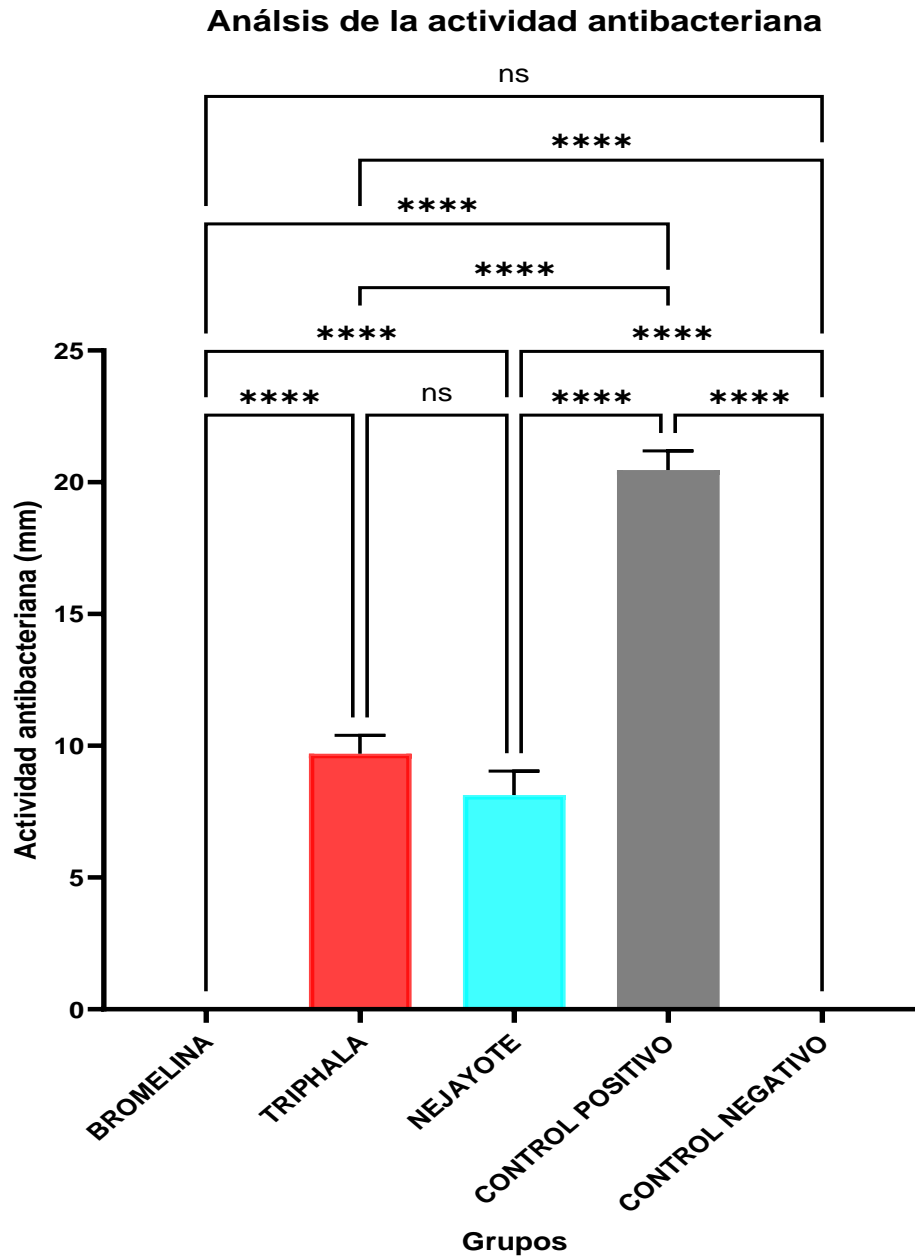


Imagen 28. Resultados de efecto antibacteriano de los diferentes irrigantes

## 9.2. PRUEBA DE HEMÓLISIS

Además, se realizaron pruebas de citotoxicidad con el propósito de evaluar el efecto de los extractos en la viabilidad de los eritrocitos. Mediante una fórmula específica

la cual se menciona en la metodología (ver **Imagen 25**), esta determinó el porcentaje de hemólisis presente, lo cual permitió evaluar la citotoxicidad inherente a los extractos estudiados.

<b>PORCENTAJE DE HEMÓLISIS</b>		
<b>PROPORCIÓN</b>	<b>NEJAYOTE</b>	<b>TRIPHALA</b>
<b>100%</b>	47.23	45.62
<b>75%</b>	39.99	9.09
<b>50%</b>	34.75	8.80
<b>25%</b>	29.92	8.38

Después de medir la absorbancia, se recopilaron los datos para realizar un análisis de varianza ANOVA de dos vías utilizando el método comparativo Tukey, a fin de comparar las diferencias entre los diversos grupos.

Para el extracto de Triphala, se obtuvieron las medias de los siguientes resultados: el extracto al 100% mostró una hemólisis del 45.6%. Mientras que, en proporciones más bajas, el porcentaje de hemólisis disminuye considerablemente; el extracto al 75% presentó una hemólisis del 9.1%. Por otro lado, los extractos al 50% y 25% exhibieron una hemólisis del 8.8% y 8.3%, respectivamente. Además, se evaluaron la Solución salina (control negativo) con una media de 0.000 %, y detergente (control positivo) con una media de 99.80 %.

En la siguiente tabla se revela una diferencia significativa en todas las comparaciones entre los diferentes porcentajes de extracto de triphala y el control positivo. Esta diferencia significativa se refleja en el valor p obtenido, que es menor a 0.0001 en todos los casos.

<b>Hemólisis</b>	<b>Diferencia significativa</b>	<b>Resumen</b>	<b>Valor de P</b>
Detergente vs. Triphala 100%	Si	****	<0.0001
Detergente vs. Triphala 75%	Si	****	<0.0001
Detergente vs. Triphala 50%	Si	****	<0.0001
Detergente vs. Triphala 25%	Si	****	<0.0001

## IX. RESULTADOS

La siguiente tabla muestra la comparación del extracto de triphala en diferentes proporciones (100%, 75%, 50% y 25%) con el control negativo (solución salina). En todos los casos se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $<0.0001$ ).

Hemólisis	Diferencia significativa	Resumen	Valor de P
Solución salina vs. Triphala 100%	Si	****	$<0.0001$
Solución salina vs. Triphala 75%	Si	****	$<0.0001$
Solución salina vs. Triphala 50%	Si	****	$<0.0001$
Solución salina vs. Triphala 25%	Si	****	$<0.0001$

En relación con el extracto de nejayote, se obtuvieron los siguientes resultados en las medias: el extracto con una concentración del 100% mostró una hemólisis del 47.20%, mientras que el extracto con una concentración del 75% presentó una hemólisis del 40%. Por otro lado, los extractos al 50% y 25% exhibieron un porcentaje de hemólisis del 34.7% y 29.9% respectivamente. Además, se llevaron a cabo evaluaciones de la Solución salina (control negativo), que reflejó una media de 0.000 %, indicando la ausencia de hemólisis. Por otro lado, el detergente (control positivo) presentó una media de 99.80 %.

Hemólisis	Diferencia significativa	Resumen	Valor de P
Detergente vs. Nejayote 100%	Si	****	$<0.0001$
Detergente vs. Nejayote 75%	Si	****	$<0.0001$
Detergente vs. Nejayote 50%	Si	****	$<0.0001$
Detergente vs. Nejayote 25%	Si	****	$<0.0001$

La tabla anterior muestra que en todos los casos se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $p <0.0001$ ) en la evaluación de hemólisis.

También se evaluó la hemólisis del extracto de nejayote en diferentes concentraciones en relación con el control negativo (solución salina). Los resultados mostraron que se encontró una diferencia estadísticamente significativa en términos

de hemólisis entre todas las concentraciones del extracto de nejayote como se muestra en la siguiente tabla.

Hemólisis	Diferencia significativa	Resumen	Valor de P
Solución salina vs. Nejayote 100%	Si	****	<0.0001
Solución salina vs. Nejayote 75%	Si	****	<0.0001
Solución salina vs. Nejayote 50%	Si	****	<0.0001
Solución salina vs. Nejayote 25%	Si	****	<0.0001

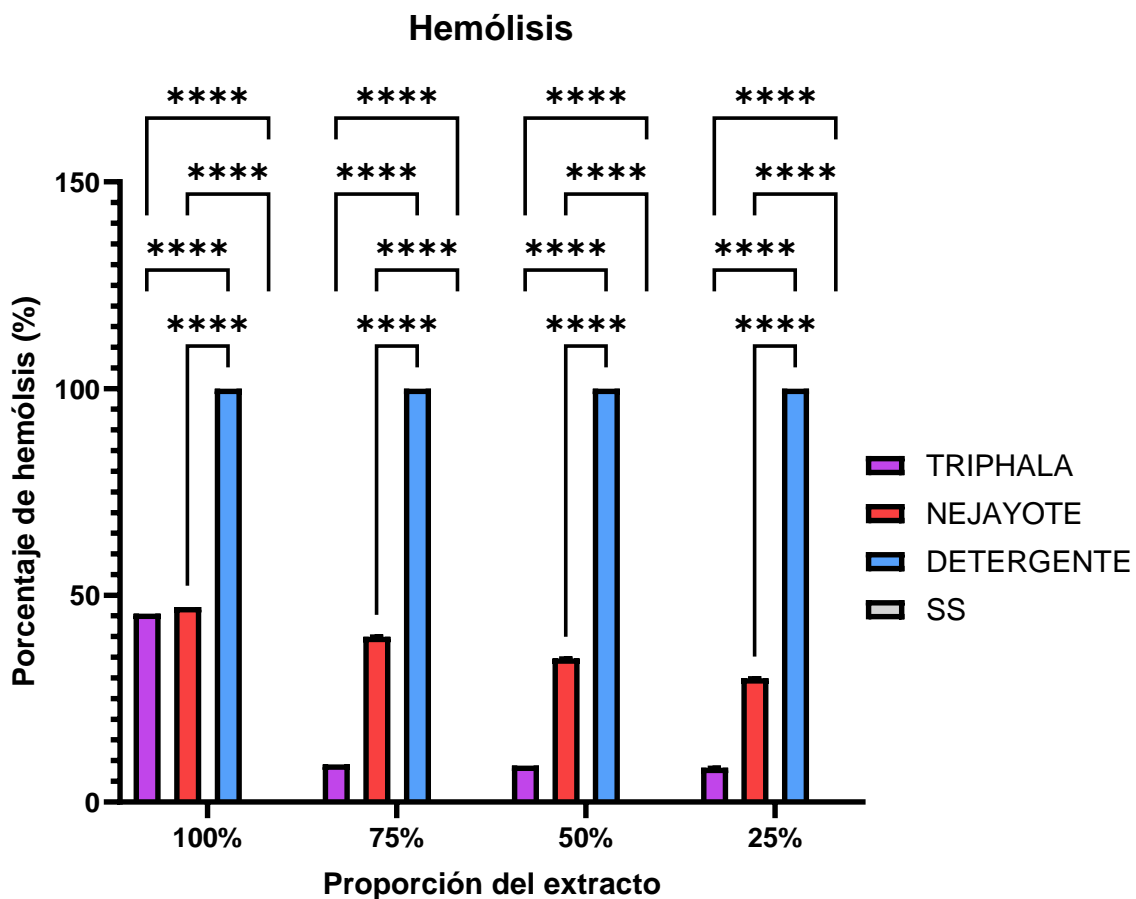
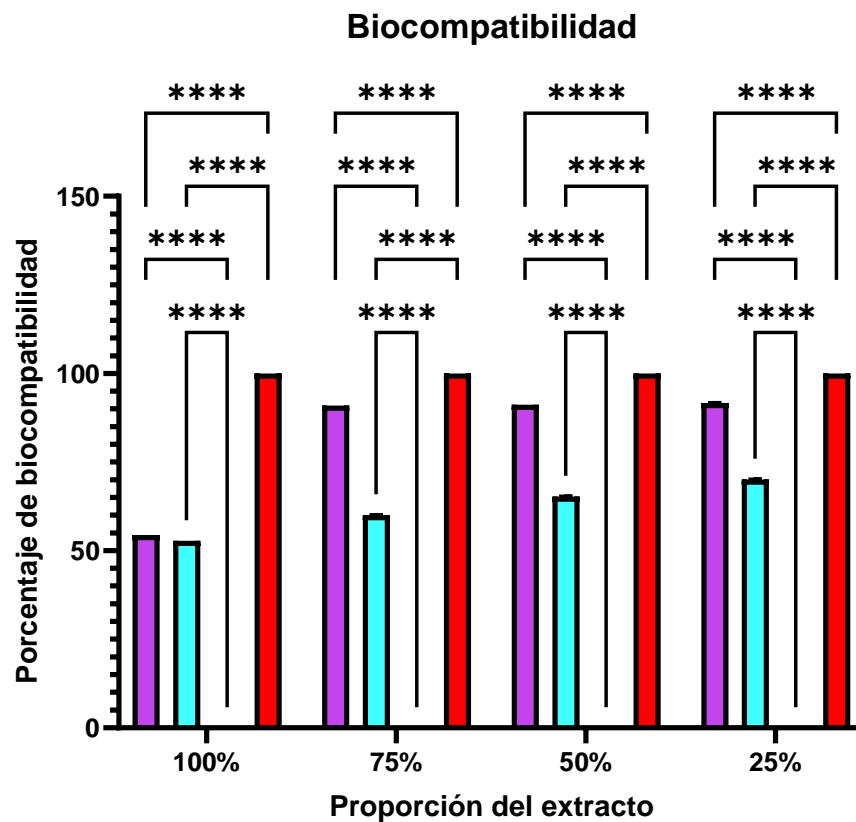


Imagen 29. Comparativa de la hemólisis de los diferentes irrigantes, en sus diferentes concentraciones.

La biocompatibilidad de cada uno de los extractos evaluados se obtuvo restando del 100%, los porcentajes de hemólisis determinados mediante la fórmula mencionada en la metodología (ver **Imagen 25**). Con esto, podemos determinar, mediante diferentes comparativas que se encontró una diferencia estadísticamente significativa en términos de biocompatibilidad entre todas las proporciones de los diferentes extractos, como se muestra en el siguiente gráfico.

- DETERGENTE
- TRIPHALA
- NEJAYOTE
- SS



**Imagen 30. Comparativa de biocompatibilidad de los diferentes irrigantes en sus diferentes concentraciones.**

## X. DISCUSIÓN

El objetivo principal de la endodoncia es la eliminación completa de los microorganismos del sistema de conductos radiculares; dicho objetivo se logra mediante una extensa preparación químico-mecánica que continúa al sellado hermético (1). A través de diferentes tipos de irrigantes es que se busca lograr o coadyuvar para la erradicación de microorganismos, siendo notablemente el *E. faecalis* el microorganismo predominantemente observado en casos de infecciones endodónticas persistentes o recurrentes; como el patógeno intraconducto más resistente encontrado en casos de tratamientos fallidos, se erige como punto de referencia para representar otros microorganismos potenciales (17). Para ello, se utilizan diferentes irrigantes durante el tratamiento endodóntico, siendo el NaOCl el considerado estándar de oro, por sus propiedades significativamente eficientes para la eliminación del *E. faecalis*; sin embargo, este irrigante, cuenta con algunas desventajas como su alta toxicidad, sabor desagradable e incapacidad para eliminar barrillo dentinario (20).

Es por ello por lo que los estudios sobre posibles aplicaciones de sustancias de origen natural en odontología han ido en aumento durante los últimos años; diversos extractos originados de diferentes frutas como la bromelina, de plantas como la triphala y el extracto de maíz como nejayote, han sido investigadas para su utilización dentro del tratamiento de diferentes enfermedades periodontales y caries (32), (36), (40).

En el presente estudio se buscó demostrar la eficacia de la bromelina contra la bacteria *E. faecalis*, la bromelina, según literatura existente, ha demostrado mayor eficacia contra bacterias Gram positivas que contra Gram negativas, como lo demuestra Ali AA y colaboradores en su estudio realizado en el año 2015, en cuál se obtuvo extracto de bromelina y se probó contra diferentes bacterias, como *E. coli* y *Proteus spp* (46).

Un estudio realizado en el año 2018 por Hidayat *et. al.*, demostró actividad antibacteriana efectiva contra diversos tipos de bacterias como *P. acnes* y *S. aureus*; los cuales se probaron con un extracto de bromelina, demostrando zonas de inhibición en los discos de agar en los cuales fueron probados.

En el estudio realizado por Mavani *et. al.* en el año 2020, en el cual se estudiaba la efectividad antibacteriana de la bromelina en diferentes concentraciones; mediante un proceso de concentración de 3 y 6 meses del extracto y se comparaba con hipoclorito de sodio en una concentración de 2.5%, mostraron resultados favorables, utilizando una técnica de observación a simple vista de la turbidez en pocillos, utilizando una cepa bacteriana de *E. faecalis* (ATCC 29212) (28); en nuestro estudio, sin embargo, mediante la técnica de difusión de agar y utilizando una cepa bacteriana clínica de *E. faecalis*, y utilizando una referencia de hipoclorito de sodio de 5.25%, no se observó efectividad antibacteriana por parte del extracto de bromelina, en ninguna de sus concentraciones, bajo las condiciones de este estudio. Lo anterior, se puede deber a diversos factores como la temperatura a la cual se realizó la fermentación del extracto y/o la calidad de los materiales; otro factor que pudo influir en el resultado es la utilización de una cepa clínica, la cual tiene características altas de resistencia antibacteriana y que, por lo tanto, consideramos que la medición de la capacidad antibacteriana de los extractos probados es más significativa.

Por otra parte, con el extracto de triphala, se han llevado a cabo estudios sobre su efectividad contra diversas bacterias, entre ellas el *E. faecalis*, como el realizado en 2014 Shakouie *et. al.*, en el cual, se probaba la capacidad antibacteriana comparándola con hipoclorito de sodio en concentraciones 0.5% y 1%, mostrando actividad microbicida por parte del extracto (38).

Otro estudio publicado en el año 2024, realizado por Alghamdi *et. al.*, en el cual se compararon la capacidad de remoción de biofilm de la triphala, adicionales a diferentes irrigantes endodónticos como la clorhexidina, un extracto acuoso de curcuma, entre otros; en el estudio, se tomaron muestras de bacterias presentes de los conductos radiculares de dientes diagnosticados con necrosis pulpar y

colocados en incubación. En el estudio los resultados favorables de todos los irrigantes, es decir, presentaron actividad microbicida, entre ellos, la triphala (39)

De acuerdo con el estudio elaborado por nosotros, utilizando una cepa clínica de *E. faecalis* y un procedimiento de difusión de agar, se obtuvo una actividad microbicida por parte de la triphala en cuanto a dicha bacteria, obteniendo una media de halos de inhibición de 9.7 mm, de acuerdo con los resultados observados en los diferentes estudios, antes citados.

Sin embargo, durante las primeras pruebas, y basándonos en diversos estudios (36) (38), (37), en los cuales se menciona una preparación de irrigación de 5 mg/ml de triphala; solo en uno de los triplicados de los que se hicieron la siembra de bacteria y posterior colocación del irrigante a base del extracto de triphala se obtuvo un indicio de su posible actividad antibacteriana, es decir, un halo incipiente; por lo que tomando esto en cuenta, se realizó una prueba posterior con una mayor concentración de triphala de 50 mg/ml, para valorar si con ello, se observaba actividad; siendo efectiva esta concentración, observando actividad microbicida contra la cepa clínica de *E. faecalis*. Se decidió aumentar la concentración a partir de que se trata y se comercializa como suplemento alimenticio, con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Además, en nuestro estudio, se realizó una prueba para valorar el grado de hemólisis que este irrigante pudiera causar; si bien es cierto, que en una concentración como la utilizada, genera un cierto grado de hemólisis (8.38% - 45.62%), en concentraciones menores, disminuye significativamente este proceso y siempre sin llegar al grado que el control positivo, en este caso, el detergente, llega a generar. Por lo anterior, consideramos que su utilización puede ser segura en un tratamiento de conductos, aún con un aumento mayor de su concentración.

En lo concerniente al extracto de nejayote, existen diversos artículos en los cuales se utiliza este extracto en diversas formas y prueban sus propiedades antibacterianas contra diversas bacterias; uno de esos estudios es el realizado por Castañeda-Ruelas *et. al.* en el año 2021, en el cual, a través de un proceso de nixtamalización, se obtenía el nejayote del agua con la cual se cose el maíz, se

extrajeran los compuestos fitoquímicos solubles que posteriormente, a través de una difusión de agar se probaron contra diversas bacterias como: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, entre otras, se midieron los halos de inhibición de cada una de ellas; el nejayote logró halos de inhibición de entre 8 a 13 milímetros con todas ellas, considerando esto, según la escala utilizada en el estudio, actividad antibacteriana fuerte (8 mm) como mínimo y muy fuerte como máximo (11 mm en adelante) (44).

Otro estudio realizado en el año 2020, por Ramírez *et. al.* en el cual, se comprueba la actividad antibacteriana del nejayote, utilizándolo contra *Salmonella typhimurium* y *E. faecalis*, a través de un estudio donde se mide la actividad con la turbidez observada, para medir el grado de reducción de bacterias en cada tubo donde se inoculó la bacteria; siendo observados por ellos porcentajes de reducción de hasta un 50% en su concentración más alta; mientras que contra *S. typhimurium* logró porcentajes de reducción de hasta 80% (45).

En nuestro estudio, mediante la técnica de difusión de agar y con la cepa clínica de *E. faecalis*, se midieron halos de inhibición en los cuales se obtuvieron una media de 8.1 mm, por lo que si lo comparamos con la escala utilizada en el estudio de Castañeda-Ruelas del año 2021, podemos inferir que la actividad antibacteriana obtenida bajo las condiciones de nuestro estudio, la catalogaríamos como actividad fuerte. Además, se realizó también el estudio para determinar el grado de hemólisis que el extracto de nejayote pudiera provocar, obteniendo resultados prometedores, ya que, si bien es cierto que muestra grados de citotoxicidad, no logra los mismos niveles que el control positivo (detergente) y si logra porcentajes de biocompatibilidad de entre 50-70% en sus diferentes concentraciones.

Como resumen tenemos que, los resultados observados en este estudio comparativo indican que los extractos de triphala y nejayote al 100% de concentración son opciones prometedoras como irrigantes de conductos radiculares debido a su actividad microbicida contra la cepa clínica de *E. faecalis*. Además de que no generan efectos citotóxicos de importancia que puedan afectar significativamente al paciente.

Por otro lado, podemos destacar que el uso de extractos naturales como alternativa a los irrigantes tradicionales tiene ventajas adicionales. Estos extractos son más accesibles en términos de precio y su obtención es relativamente sencilla. Al utilizar medios para extraer las propiedades antibacterianas de plantas como la triphala y de origen del maíz como el nejayote, se busca evitar efectos adversos y tóxicos asociados con el uso de agentes químicos como el NaOCl.

Estos resultados nos permiten evidenciar la importancia de buscar, estudiar y evaluar extractos naturales como posibles alternativas a los irrigantes de uso común en la endodoncia. Si se logra encontrar extractos con actividad microbicida efectiva y sin efectos tóxicos o adversos, se podrían obtener beneficios tanto para los pacientes como para los profesionales de la salud oral. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para confirmar los resultados obtenidos hasta ahora y para abordar otros aspectos importantes, como la seguridad, estabilidad de estos agentes en diferentes formulaciones y su eficacia en diferentes etapas del tratamiento endodóntico.

## XI. CONCLUSIONES

Se lograron evaluar la actividad microbicida a diferentes concentraciones de extractos de bromelina, triphala y nejayote, utilizando la técnica de difusión agar con la cepa clínica de *E. faecalis*. Los halos de inhibición para la bromelina fueron de 0 mm, para el triphala de 9.7mm, y para nejayote fueron de 8.1mm.

Para las condiciones de este estudio, la bromelina no exhibió actividad microbicida para la cepa clínica de *E. faecalis*. El triphala, el nejayote y el NaOCl presentaron actividad microbicida; que según Castañeda-Ruelas en su estudio del año 2021, es una actividad fuerte, semejante al NaOCl; sin embargo, el análisis estadístico nos arrojó que existe una diferencia estadísticamente significativa de la actividad del triphala y el nejayote con respecto al NaOCl.

Se logró evaluar la citotoxicidad de los extractos a diferentes proporciones mediante la prueba de hemólisis de eritrocitos. La triphala al 100%, 75%, 50% y 25% exhibieron una citotoxicidad inferior al detergente, al igual que el nejayote al 100%, 75%, 50% y 25%, pero sin ser tan inocuos como la solución salina.

En base a estos resultados, se descarta la hipótesis de trabajo y no se rechaza la hipótesis nula que nos dicta que existe una actividad antibacteriana diferente entre un irrigante natural a base de bromelina, triphala o nejayote en comparación con hipoclorito de sodio al 5.25% de concentración, contra el *E. faecalis*, con un nivel de confianza de 95%.

Estos hallazgos sugieren que los extractos naturales de triphala y nejayote podrían ser considerados como alternativas potenciales al NaOCl en el tratamiento de conductos, ya que presentan actividad antibacteriana sin generar una hemólisis del grado que puede generar el hipoclorito de sodio en una alta proporción. Sin embargo, se recomienda llevar a cabo más investigaciones para evaluar su eficacia y seguridad en modelos *in vivo* y condiciones clínicas intraorales.

## XII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios *in vivo*: para evaluar la eficacia de los extractos en condiciones clínicas.
2. Investigar el mecanismo de acción de los extractos naturales: esto proporcionará información acerca del posible sinergismo con otros irrigantes coadyuvantes.
3. Evaluar los posibles efectos secundarios, irritación y toxicidad a largo plazo tanto *in vitro* como *in vivo*.
4. Estudiar el efecto en la dentina, la interacción con medicamentos intraconducto y cementos endodónticos: para comprender la capacidad de penetración y eliminación de microorganismos, así como garantizar la compatibilidad en el tratamiento.
5. Recomendar un lavado final con solución salina o agua estéril para la prevención de la pigmentación dental.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Soares J, Goldberg F. Endodoncia, técnica y fundamentos. Editorial Médica Panamericana; 2002.
2. Hargreaves KM BLCS. Vías de La Pulpa. Décima edición. España: ELSEVIER; 2011.
3. Gliga A, Imre M, Grandini S, Marruganti C, Gaeta C, Bodnar D, et al. The Limitations of Periapical X-ray Assessment in Endodontic Diagnosis—A Systematic Review. Vol. 12, Journal of Clinical Medicine. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
4. Pigg M, Brodén J, Fransson H, Vareman N. How do we and how should we deal with uncertainty in endodontics? Vol. 55, International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 282–9.
5. Messer HH. Clinical judgement and decision making in endodontics. Australian Endodontic Journal. 1999 Dec;25(3):124–32.
6. Diagnostico pulpar - ENDODONCIA Colegas por Excelencia . Diagnóstico endodóntico. 2013;
7. de Kuijper MCFM, Meisberger EW, Rijpkema AG, Fong CT, De Beus JHW, Özcan M, et al. Survival of molar teeth in need of complex endodontic treatment: Influence of the endodontic treatment and quality of the restoration. J Dent. 2021 May 1;108:103611.
8. Orstavik' D, Kerekes^ K, Eriksen^ HM. The periapical index: A scoring system for radiographic assessment of apical periodontitis.
9. Fonseca Tavares W, de Oliveira Murta Pedrosa N, Moreira R, de Carvalho Machado V, Ribeiro Sobrinho A. Limitations and Management of Static-guided Endodontics Failure. J Endod. 2022 Feb;48.

10. Orhan EO, Dereci Ö, Irmak Ö. Endodontic Outcomes in Mandibular Second Premolars with Complex Apical Branching. *J Endod.* 2017 Jan 1;43(1):46–51.
11. Santos Miranda A, Moura J, Calefi P, Amoroso Silva P, Marceliano-Alves M, Lopes R. Influence of conservative endodontic access cavities on instrumentation of oval-shaped straight root canals. *Int Endod J.* 2021 Oct;55.
12. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Herbal Alternatives (Triphala and Green Tea Polyphenols), MTAD, and 5% Sodium Hypochlorite against *Enterococcus faecalis* Biofilm Formed on Tooth Substrate: An In Vitro Study. *J Endod.* 2010 Jan;36(1):83–6.
13. Casaña Ruiz MD, Martínez LM, Miralles EG. Update in the Diagnosis and Treatment of Root Canal Therapy in Temporary Dentition through Different Rotatory Systems: A Systematic Review. Vol. 12, *Diagnostics*. MDPI; 2022.
14. Dioguardi M, Di Gioia G, Illuzzi G, Arena C, Caponio VCA, Caloro GA, et al. Inspection of the microbiota in endodontic lesions. Vol. 7, *Dentistry Journal*. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2019.
15. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019 May 1;24(3):e364–72.
16. Kharouf N, Pedullà E, La Rosa GRM, Bukiet F, Sauro S, Haikel Y, et al. In vitro evaluation of different irrigation protocols on intracanal smear layer removal in teeth with or without pre-endodontic proximal wall restoration. *J Clin Med.* 2020 Oct 1;9(10):1–15.
17. Wright PP, Cooper C, Kahler B, Walsh LJ. Multiple assessment methodologies in determining the antibiofilm actions of sodium hypochlorite mixed with

- clodronate or etidronate in endodontic irrigation. *J Microbiol Methods*. 2021 Jan 1;180.
18. Tandon J, Taneja S, Bhalla VK, Jain A. Evaluation of Bacterial Reduction at Various Stages of Endodontic Retreatment After Use of Different Disinfection Regimens: An In Vivo Study. *Eur Endod J*. 2022 Oct 1;7(3):210–6.
  19. Howard RK, Kirkpatrick TC, Rutledge RE, Yaccino JM. Comparison of debris removal with three different irrigation techniques. *J Endod*. 2011 Sep;37(9):1301–5.
  20. Sarda RA, Shetty RM, Tamrakar A, Shetty SY. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy, diode laser, and sodium hypochlorite and their combinations on endodontic pathogens. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019 Dec 1;28:265–72.
  21. Rath PP, Yiu CKY, Matinlinna JP, Kishen A, Neelakantan P. The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review. *Restor Dent Endod*. 2020;45(3).
  22. Susila A, Sai S, Sharma N, Balasubramaniam A, Aruna Kumari V, Nivedhitha M. Can natural irrigants replace sodium hypochlorite? A systematic review. *Clin Oral Investig*. 2023 Feb;18.
  23. Teja KV, Janani K, Alqahtani AA, Robaian A, Alhalabi F, Merdad KA, et al. Herbal Agents versus Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid on Removal of the Smear Layer—A Systematic Review of In Vitro Studies. Vol. 19, *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI; 2022.
  24. Mohammadi Z. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J*. 2008;58.
  25. Karobari MI, Adil AH, Assiry AA, Basheer SN, Noorani TY, Pawar AM, et al. Herbal Medications in Endodontics and Its Application—A Review of Literature. Vol. 15, *Materials*. MDPI; 2022.

26. Badole G, Bahadure R, Kubde T. Herbal Medicines in Endodontics: An Overview. *J Dent Oral Disord* [Internet]. 2016;2. Available from: [www.austinpublishinggroup.com](http://www.austinpublishinggroup.com)
27. Taheri JB, Azimi S, Rafieian N, Akhavan Zanjani H. Herbs in dentistry. Vol. 61, *International Dental Journal*. 2011. p. 287–96.
28. Mavani HAK, Tew IM, Wong L, Yew HZ, Mahyuddin A, Ghazali RA, et al. Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jul 2;17(14):1–12.
29. Nikhade P, Agrawal P, Mahapatra J, Suryawanshi T, Bhopatkar J, Umate L. Efficacy of Triple Antibiotic Paste and Bromelain Paste As Intracanal Medicament Against *Enterococcus faecalis*: An In-Vivo Study. *Cureus* [Internet]. 2023 Nov 1; Available from: <https://www.cureus.com/articles/192001-efficacy-of-triple-antibiotic-paste-and-bromelain-paste-as-intracanal-medicament-against-enterococcus-faecalis-an-in-vivo-study>
30. Varilla C, Marccone M, Paiva L, Baptista J. Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects. a summary. Vol. 10, *Foods*. MDPI; 2021.
31. Hikisz P, Bernasinska-Slomczewska J. Beneficial properties of bromelain. Vol. 13, *Nutrients*. MDPI; 2021.
32. Zharfan R, Purwono P, Mustika A. Actividad antimicrobiana de la piña (*Ananas comosus* merr) extracto contra multirresistente de *pseudomonas aeruginosa*: un estudio in vitro. *Indones J Trop Infectar Dis*. 2017 Dec;6.
33. Ketnawa S, Chaiwut P, Rawdkuen S. Extraction of bromelain from pineapple peels. *Food Science and Technology International*. 2011 Aug;17(4):395–402.

34. Arun C, Sivashanmugam P. Study on optimization of process parameters for enhancing the multi-hydrolytic enzyme activity in garbage enzyme produced from preconsumer organic waste. *Bioresour Technol.* 2017;226:200–10.
35. Hong JH, Kim MR, Lee BN, Oh WM, Min KS, Im YG, et al. Anti-inflammatory and mineralization effects of bromelain on lipopolysaccharide-induced inflammation of human dental pulp cells. *Medicina (Lithuania).* 2021 Jun 1;57(6).
36. Divya S, Sujatha S. Evaluation of antimicrobial effect of triphala versus conventional root canal irrigants in primary teeth - An in vivo study. *Res J Pharm Technol.* 2019 Feb 1;12(2):655–9.
37. Panchal V V., Dahake PT, Kale YJ, Dadpe M V., Kendre SB. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Sodium Hypochlorite, Triphala, Eucalyptus, and Carvacrol against *Enterococcus faecalis*: An In Vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2022 Sep 1;15(5):514–9.
38. Shakouie S, Eskandarinezhad M, Gasemi N, Milani AS, Samiei M, Golizadeh S. An In Vitro Comparison of the Antibacterial Efficacy of Triphala with Different Concentrations of Sodium Hypochlorite [Internet]. Vol. 9, *IEJ Iranian Endodontic Journal.* 2014. Available from: [www.SID.ir](http://www.SID.ir)
39. Alghamdi N, Das B, Hugar SI, Sarangi P, Garg G, Kamatchi Subramani S. Comparing the Biofilm Removal Capacity of NaOCl, Povidone-Iodine, Chlorhexidine, Curcumin, and Triphala as Endodontic Irrigants. *Cureus.* 2024 Jan 11;
40. Villela-Castrejón J, Antunes-Ricardo M, Gutiérrez-Urbe JA. Bioavailability and anti-inflammatory activity of phenolic acids found in spray-dried nejayote after its in vitro digestion. *J Funct Foods.* 2017 Dec 1;39:37–43.

41. Díaz-Montes E, Rodríguez-Romero VM, Arzola-Rodríguez SI. Effect of Primary By-Product (Nejayote) of the Nixtamalization on Fungal Growth. *Waste Biomass Valorization*. 2023 Apr 1;14(4):1157–68.
42. Rocha-Pizaña M del R, Chen WN, Lee JLL, Buitimea-Cantúa NE, González-Nimi E, Gutierrez-Uribe JA. Production of a potential collagenolytic protease by nejayote fermentation with *Aspergillus oryzae*. *Int J Food Sci Technol*. 2020 Oct 1;55(10):3289–96.
43. Contreras-Jácquez V, Valenzuela-Vázquez U, Grajales-Hernández DA, Mateos-Díaz JC, Arrellano-Plaza M, Jara-Marini ME, et al. Pilot-Scale Integrated Membrane System for the Separation and Concentration of Compounds of Industrial Interest from Tortilla Industry Wastewater (Nejayote). *Waste Biomass Valorization*. 2022 Jan 1;13(1):345–60.
44. Castañeda-Ruelas GM, Ibarra-Medina RK, Niño-Medina G, Mora-Rochín S, Montes-Ávila J, Cuevas-Rodríguez EO, et al. Phenolic extract from nejayote flour: Bioactive properties and its potential use as an antimicrobial agent of alginate-based edible coatings. *Cereal Chem*. 2021 Nov 1;98(6):1165–74.
45. Ramírez K, Quintero-Soto MF, Rochín-Medina JJ. Enhancement of the antioxidant and antimicrobial activities of maize wastewater by an eco-friendly process. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2020 Jun 1;14(3):1682–9.
46. Abdulrahman Ali A. Antimicrobial Effects of Crude Bromelain Extracted from Pineapple Fruit (*Ananas comosus* (Linn.) Merr.). *Adv Biochem*. 2015;3(1):1.

