

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE
HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA) Y *ALLIUM SATIVUM* (AJO) PARA SU
UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA**

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

C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODAL

(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)

DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

**DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO
GUTIÉRREZ**

SINODAL

(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. MARÍA ELENA DE LOS ANGELES HOFMANN SALCEDO

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO.

JUNIO 2023

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 29 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA) Y ALLIUM SATIVUM (AJO) PARA SU UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA.**

Propuesto por la C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ, 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
PRESIDENTE

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 29 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE *HIBISCUS SABDARIFFA* (FLOR DE JAMAICA) Y *ALLIUM SATIVUM* (AJO) PARA SU UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA.**

Propuesto por la C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ, 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"

DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 29 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA) Y ALLIUM SATIVUM (AJO) PARA SU UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA.**

Propuesto por la C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ, 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

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 29 de mayo de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA) Y ALLIUM SATIVUM (AJO) PARA SU UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA.**

Propuesto por la C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ, 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. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**EFFECTO ANTIMICROBIANO Y CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS ACUOSOS DE
HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA) Y ALLIUM SATIVUM (AJO) PARA
SU UTILIZACIÓN COMO IRRIGANTE EN ENDODONCIA**

PRESENTA



C.D. KARLA VERÓNICA CAMACHO CHÁVEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)



DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODALES

(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)



DR. JULIO CÉSAR GARCÍA BRIONES



DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO
GUTIÉRREZ



DRA. MARÍA ELENA DE LOS ANGELES HOFMANN SALCEDO

Tijuana, Baja California, 2 de Junio de 2023

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la doctora Gabriela Carrillo Vázquez por darme la oportunidad de formar parte del posgrado de endodoncia. Su sabiduría, dedicación y entusiasmo me han inspirado a alcanzar mis objetivos y a ser una mejor profesional.

Quiero agradecer a mi directora de tesis, la Dra. Dulce Magaña Mancillas, por su constante apoyo, guía y asesoramiento a lo largo de todo el proceso de desarrollo de esta investigación. Siempre estuvo dispuesta a resolver mis dudas y a brindarme su experiencia y conocimiento para que pudiera alcanzar mis objetivos. Además, quiero reconocer a mi sinodal, la doctora Eva Viviana Sarmiento Gutiérrez por proporcionarme las pautas iniciales para abordar este tema y por apoyarme durante la fase de experimentación y obtención de resultados. Su valiosa contribución ha sido fundamental en el desarrollo de este trabajo.

Agradezco de manera especial a mis sinodales, el Dr. Julio César García Briones y Dra. María Elena Hofmann, por su invaluable ayuda y asesoramiento en el desarrollo de esta tesis.

Les agradezco a todos por el tiempo, dedicación y esfuerzo que han puesto en esta tesis. Sus valiosas contribuciones, comentarios y sugerencias me han ayudado a superar los desafíos y dificultades que encontré en el camino.

A mis padres les doy las gracias por su apoyo emocional, físico y económico durante todo mi posgrado. Siempre han estado ahí para escucharme, animarme y ayudarme en todo lo que he necesitado. Les debo lo que soy y lo que he logrado hasta el momento.

A mis hermanos, quiero agradecerles por su apoyo y comprensión. A pesar de los obstáculos que han surgido en el camino, siempre han estado ahí para brindarme su cariño y apoyo incondicional.

A mi novio, le agradezco por ser gran motivación en la fase del propedéutico y durante el posgrado. Su cariño, paciencia y apoyo me han ayudado a mantenerme enfocada en mis metas y superar los desafíos que se me presentaron.

A mis compañeros de especialidad, quienes han sido parte fundamental en el desarrollo de mi carrera profesional. Cada uno de ellos ha dejado una huella en mi vida y he tenido el privilegio de vivir experiencias inolvidables a su lado. Sin su compañía, apoyo y colaboración, este trayecto de especialidad no hubiera sido el mismo.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

A CONACyT por la beca otorgada con el número (CVU): 1141332.

A la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme continuar mis estudios de posgrado siendo cimarrón.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES	II
CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. ENDODONCIA	3
2.2. MICROORGANISMOS PATOLÓGICOS EN ENDODONCIA	4
2.2.3. BACTERIAS	5
2.3. TIPOS DE INFECCIONES EN ENDODONCIA	5
2.3.1. INFECCIÓN INTRARRADICULAR.....	6
2.3.2. INFECCIÓN EXTRARRADICULAR.....	7
2.4. BIOFILM	7
2.5. FRACASO EN ENDODONCIA.....	9
2.6. ENTEROCOCCUS	10
2.7. ENTEROCOCCUS FAECALIS	10
2.7.1. MORFOLOGÍA BACTERIANA	11
2.7.2. PATOGENICIDAD	11
2.7.3. FACTORES DE VIRULENCIA.....	12

2.7.4. RESISTENCIA DE E. FAECALIS A MEDICAMENTOS	12
2.8. IRRIGACIÓN Y DESINFECCIÓN EN ENDODONCIA.....	14
2.8.1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS IRRIGANTES	15
2.8.2. PROPIEDADES DEL IRRIGANTE IDEAL.....	16
2.9. SOLUCIONES IRRIGANTES DE ENDODONCIA.....	17
2.9.1. HIPOCLORITO DE SODIO	17
2.9.2. EDTA	19
2.9.3. CLORHEXIDINA	21
3.1. ALTERNATIVAS HERBOLARIAS COMO IRRIGANTES DE CONDUCTOS RADICULARES.....	23
3.1.1. ANTECEDENTES DE LOS IRRIGANTES DE ORIGEN NATURAL	23
3.2. ALLIUM SATIVUM (AJO)	25
3.4. <i>HIBISCUS SABDARIFFA</i> (FLOR DE JAMAICA)	28
iii. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	32
IV. JUSTIFICACIÓN.....	33
V. HIPÓTESIS	34
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO	34
5.2. HIPÓTESIS NULA (H0).....	34
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)	34
VI. OBJETIVOS	35
6.1. OBJETIVO GENERAL	35
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
VII. VARIABLES	36
7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES.....	36

7.2. VARIABLES DEPENDIENTES	36
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES	37
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
8.1. TIPO DE ESTUDIO.....	38
8.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA	38
8.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA	38
8.1.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN ERITROCITOS.....	38
8.1.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN ERITROCITOS.....	39
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO	39
8.2.1. MÉTODO DE EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA	39
8.2.2. MÉTODO DE EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN ERITROCITOS.....	39
8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL	40
8.4. METODOLOGÍA.....	41
8.4.1. MACERACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS	41
8.4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.....	43
8.4.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO A TRAVÉS DE LA ACTIVIDAD HEMOLÍTICA	46
8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	51
IX. RESULTADOS	52
9.1. INHIBICIÓN DE MICROORGANISMOS POSTERIOR A INCUBACIÓN	52
9.1.1. ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO Y ESTADÍSTICO.....	58

X. DISCUSIÓN	64
XI. CONCLUSIONES	68
XII. RECOMENDACIONES	69
XIII. BIBLIOGRAFÍA	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filos bacterianos encontrados en infecciones endodónticas. 4

Figura 2. Microfotografía electrónica de barrido con biofilm en conducto radicular.....8

Figura 3. Túbulos dentinarios infectados..... 13

Figura 4. Erosión dentinaria del conducto radicular. 16

Figura 5. Efecto tóxico del uso de NaOCl en tejidos peri radicales.....18

Figura 6. Fotografía microscópica de conductos con mínimo barrillo dentinario después de la irrigación con EDTA..... 20

Figura 7. Formación de precipitado citotóxico.....22

Figura 8. Imagen de Allium sativum (ajo). 25

Figura 9. Radiografía periapical utilizando extracto de ajo y NaOCl.....27

Figura 10. Imagen de Hibiscus sabdariffa (flor de jamaica). 29

Figura 11. Pulverización de muestras..... 41

Figura 12. Extractos acuosos..... 42

Figura 13. Fabricación de pozos.....	43
Figura 14. Siembra en cajas Petri.....	44
Figura 15. Colocación de extractos acuosos.	44
Figura 16. Incubación de medios de cultivo.....	45
Figura 17. Medición de halos de inhibición.....	45
Figura 18. Muestra sanguínea.	46
Figura 19. Centrífuga.....	47
Figura 20. Sangre madre.....	48
Figura 21. Extractos acuosos con suspensión de glóbulos rojos... 	49
Figura 22. Incubación de muestras.....	49
Figura 23. Espectrofotómetro lector de absorbancia.	50
Figura 24. Fórmula.	50
Figura 25. Extractos acuosos en pozos (24H).....	52
Figura 26. Extractos acuosos en pozos (24 h).	53
Figura 27. Extractos acuosos en pozos (48 h).	53
Figura 28. Extractos acuosos en pozos (48 h).	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de la diferencia significativa y valores de p obtenidos entre las soluciones irrigantes y extractos en 24 h.	56
Tabla 2. Porcentaje de hemólisis.....	58
Tabla 3. Citotoxicidad de ajo.....	59
Tabla 4. Citotoxicidad de ajo.....	59
Tabla 5. Porcentaje de hemólisis.....	61
Tabla 6. Citotoxicidad de jamaica.....	61
Tabla 7. Citotoxicidad de jamaica.	62

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Halos de inhibición de extractos acuosos..... 57

Gráfica 2. Porcentaje de hemólisis en extracto de ajo..... 60

Gráfica 3. Porcentaje de hemólisis en extracto de jamaica..... 63

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Ajo
CHX	Clorhexidina
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
G	Gramos
°C	Grados centígrados
H	Horas
Hs	Hibiscus sabdarifa
J	Jamaica
Mm	Milímetros
MI	Mililitros
Mg	Miligramos
NaOCl	Hipoclorito de sodio
Nm	Nanómetros
P.A.	Periodontitis apical
rpm.	Revoluciones por minuto
S.S	Solución salina

LISTA DE ABREVIATURAS

μL	Microlitros
$^{\circ}$	Grados
%	Por ciento

I. RESUMEN

Introducción: Durante muchos años, el hipoclorito de sodio (NaOCl) y Clorhexidina (CHX) han sido los agentes irrigantes de elección en el tratamiento de conductos radiculares debido a sus propiedades antibacterianas. Sin embargo, su efecto citotóxico en los tejidos periapicales ha llevado a la búsqueda de alternativas más seguras y efectivas. En este contexto, se ha estudiado el potencial antimicrobiano de plantas medicinales como *Allium sativum* (ajo) e *Hibiscus sabdariffa* (flor de jamaica) como alternativas al uso de NaOCl y CHX. Estas plantas han mostrado poseer una actividad antibacteriana, por lo que representan una alternativa prometedora en el tratamiento de conductos radiculares. **Objetivo:** Evaluar el efecto antimicrobiano de extractos acuosos de plantas medicinales, específicamente *Allium sativum* e *Hibiscus sabdariffa*, en comparación con NaOCl y CHX, sobre el *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Asimismo, evaluar la citotoxicidad de los extractos acuosos. **Materiales y métodos:** Se utilizó el método de difusión agar en pozo para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de ajo y flor de jamaica en comparación con el NaOCl y CHX frente a la bacteria *E. faecalis*. Se prepararon placas Petri con medio agar Mueller Hinton y se realizaron pocillos de 6 mm de diámetro. Se sembró *E. faecalis* en las placas, posteriormente, se colocaron 10 microlitros (μL) de los extractos acuosos estudiados por triplicado en cada pocillo. Las placas se incubaron a 37 grados centígrados ($^{\circ}\text{C}$) durante 24 y 48 horas (h). Se realizó el mismo procedimiento con NaOCl al 5.25% y CHX al 2%. Para evaluar la citotoxicidad se utilizaron eritrocitos humanos con diferentes diluciones de los extractos acuosos de ajo y jamaica, los cuales se analizaron con el espectrofotómetro, permitiendo observar el porcentaje de hemólisis presente. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el análisis de varianza ANOVA bidireccional para determinar la eficacia antimicrobiana y ANOVA de una vía para la citotoxicidad de los extractos acuosos. **Resultados:** El extracto de ajo al 100% mostró una mayor actividad antimicrobiana contra la cepa de *E. faecalis* en comparación con el extracto de jamaica al 100%. No hubo diferencias significativas en la viabilidad de la cepa al comparar el extracto de ajo al 75% y al 60% con el extracto de jamaica al 100%. Además, se observó actividad antimicrobiana en

los extractos de ajo al 100% y 75%, en la cual no se observó diferencia significativa con los controles positivos utilizados (NaOCl al 5% y CHX al 2%). Se observó citotoxicidad nula en los extractos de jamaica al 40% y 20%, de igual manera ambos extractos (ajo y jamaica) presentaron citotoxicidad mínima en las diferentes concentraciones utilizadas (100%, 75%, 60%) en este estudio al compararlas con el control positivo (NaOCl al 5%). **Conclusión:** Los extractos acuosos de ajo y jamaica tienen propiedades antibacterianas contra *E. faecalis*. Además, se encontró que estos extractos presentan una citotoxicidad menor al ser evaluados sobre eritrocitos en comparación del NaOCl al 5%.

II. INTRODUCCIÓN

2.1. ENDODONCIA

El tratamiento de conductos radiculares tiene el objetivo de prevenir y controlar el proceso inflamatorio en los tejidos periapicales mediante la eliminación de la carga microbiana del conducto radicular infectado. Para lograr el éxito en este tratamiento, es fundamental la remoción completa de los microorganismos presentes. Sin embargo, existen reservorios de bacterias en áreas inaccesibles del sistema de conductos y en los túbulos dentinarios, lo que puede causar reinfección y continua inflamación en el ápice radicular, ocasionando una periodontitis apical (1)

La periodontitis apical (P.A) es una infección bacteriana del conducto radicular que se caracteriza por la inflamación crónica de todos los tejidos de soporte del diente a nivel del tercio apical. En este proceso de inflamación crónica intervienen aspectos histopatológicos importantes, como la presencia de macrófagos, células mononucleares, linfocitos y células plasmáticas, las cuales estimulan la colonización bacteriana endodóntica en el área periapical (2).

El factor etiológico de la periodontitis apical es bien conocido por la presencia de los microorganismos que se desarrollan en el espacio del tejido pulpar de cámaras pulpares necróticas. Se han realizado diferentes estudios en dientes que presentan variantes anatómicas complejas, en los cuales es difícil eliminar los microorganismos y completar la desinfección de manera efectiva (1)

2.2. MICROORGANISMOS PATOLÓGICOS EN ENDODONCIA

Las infecciones endodónticas son distintas a las infecciones orales comunes, ya que ocurren en un ambiente cerrado y confinado rodeado de tejido duro como el hueso. Estas infecciones están mayormente asociadas a la presencia de microorganismos. Estos microorganismos se encuentran en la región intra radicular cuando ingresan a través de una lesión cariosa o lesión traumática en un diente. Sin embargo, si no se controla el exceso de los microorganismos adecuadamente, eventualmente pueden salir del foramen apical hacia los tejidos peri radiculares, causando patología (3).

En la cavidad oral se han identificado 13 filos bacterianos distintos, entre los cuales se encuentra el filo bacteriano *firmicutes*, al que pertenece el *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Los otros filos bacterianos encontrados incluyen bacteroidetes, *actinobacteria*, *proteobacteria*, *spirochaetes*, *fusobacteria*, *synergistes*, SR1, TM7, *chloroflexi*, *deinococcus*, *acidobacteria* y *cianobacteria* (Figura 1) (3).

Bacterial phyla in endodontic infections	Common representatives species/phylotypes
Firmicutes	Dialister spp., Filifactor alocis, Parvimonas micra, Pseudoramibacter alactolyticus, Enterococcus faecalis, Eubacterium spp., Mogibacterium spp., Streptococcus spp., Lachnospiraceae spp., Veillonella parvula, Lactobacillus spp., Catonella morbi, Gemella morbillorum, Selenomonas spp., Peptostreptococcus spp.
Actinobacteria	Olsenella uli, Actinomyces spp., Propionibacterium acnes, Propionibacterium propionicum, Slackia exigua
Synergistes	Clone BA121, clone W090
Spirochaetes	Treponema denticola, Treponema socranskii, Treponema maltophilum, Treponema parvum
Fusobacteri	Fusobacterium nucleatum
Proteobacteria	Eikenella corrodens, Campylobacter rectus, Campylobacter gracilis
TM7	Clone I025
SR1	Clone X112
Bacteroidetes	Tannerella forsythia, Porphyromonas endodontalis, Porphyromonas gingivalis, Prevotella spp., clone X083

Figura 1 **.Filos bacterianos comúnmente encontrados en infecciones endodónticas.** Tabla informativa de los filos bacterianos, en el cual el *E. faecalis* pertenece a *firmicutes* (3).

Normalmente, la pulpa dental y la dentina están aisladas de microorganismos patógenos gracias al esmalte y cemento que las recubren en la superficie más externa. Sin embargo, cuando estas estructuras se ven comprometidas, el complejo dentino pulpar queda expuesto y puede desarrollar un cuadro patológico.

Dentro de estos organismos causantes de patologías podemos encontrar principalmente las bacterias, hongos y algunos virus, aunque la participación de estos últimos, aún está sujeta a estudio para determinar si influye directamente o no, en el desarrollo de la enfermedad. Mientras que los conductos radiculares infectados de dientes no endodonciados contienen generalmente una flora polimicrobiana en donde predomina organismos anaerobios, los cultivos de dientes infectados previamente endodonciados producen pocas especies o una sola. Donde la flora infectante es predominante gram positiva, no anaerobia y una de las especies que se aísla con frecuencia es *E. faecalis*, la cual es una bacteria resistente a tratamientos de desinfección del conducto (4).

2.2.3. BACTERIAS

En la cavidad oral existen cerca de 700 especies de bacterias, en su mayoría *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Actinobacteria* y *Proteobacteria*. El microorganismo más común encontrado en infecciones endodónticas persistentes asintomáticas es el *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) (4).

2.3. TIPOS DE INFECCIONES EN ENDODONCIA

Las infecciones se clasifican según la localización como infección intrarradicular o extrarradicular. La infección intrarradicular es causada por microorganismos que colonizan el conducto radicular. Esta infección puede clasificarse en dos tipos: infección primaria e infección secundaria. La infección primaria se origina cuando los microorganismos invaden y colonizan el tejido necrótico dentro del conducto radicular. Por otro lado, la infección secundaria ocurre cuando los microorganismos que no

estaban presentes en la infección primaria son introducidos en el conducto radicular en algún momento posterior a la intervención del endodoncista. La infección persistente, es la que se presenta por microorganismos que fueron componentes de la infección primaria y secundaria, los cuales resistieron los procedimientos antimicrobianos que se llevan a cabo en el interior del conducto radicular, así como la persistencia a periodos de inanición en conductos radiculares tratados. La infección extrarradicular se caracteriza por la invasión microbiana de los tejidos perirradiculares inflamados, además de ser una secuela de infección intrarradicular. Las infecciones extrarradiculares pueden ser dependientes o independientes de la infección intrarradicular (4).

2.3.1. INFECCIÓN INTRARRADICULAR

La infección intrarradicular se clasifica en infección primaria y secundaria. La infección primaria se origina en el tejido necrótico de la pulpa y se presenta en dientes no tratados, siendo la principal causa de la periodontitis apical primaria. Los microorganismos involucrados ingresan a través de una lesión cariosa la cual ha culminado en la inflamación irreversible y posterior necrosis, o bien pueden ser los microorganismos que se aprovechan de las condiciones ambientales del conducto radicular después de la necrosis. Se caracteriza por la presencia de multi especies anaerobias, entre las cuales se detectan con mayor frecuencia los pertenecientes a bacterias gram negativas (*Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Pyramidobacter*, *Treponema*, *Campylobacter* y *Veillonella*) y gram positivas (*Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudoramibacter*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*) (4).

Las infecciones endodónticas secundarias son aquellas que persisten en el conducto radicular a pesar de los tratamientos antimicrobianos realizados. Estas infecciones se originan cuando los microorganismos ingresan al sistema de conductos radiculares durante procedimientos clínicos, como el tratamiento endodóntico, entre citas o incluso después de que el conducto radicular ha sido obturado. De este modo los

microorganismos que penetran, sobreviven y proliferan serán los responsables de la infección secundaria (4)

2.3.2. INFECCIÓN EXTRARRADICULAR

La forma más frecuente de infección extrarradicular es el absceso apical agudo, que se caracteriza por la inflamación purulenta en los tejidos perirradiculares en respuesta a una salida masiva de bacterias virulentas desde el conducto radicular. Sin embargo, existe otra forma de infección, la cual implica el establecimiento de los microorganismos en los tejidos perirradiculares, ya sea por adherencia en la superficie apical externa de la raíz en forma de biofilm o mediante la formación de colonias cohesivas actino micóticas dentro del cuerpo de la lesión inflamatoria.

La infección extrarradicular podría ser dependiente o independiente de la infección intrarradicular. Las bacterias implicadas en las infecciones independientes son *Actinomyces* y *Propionibacterium propionicum*, en una entidad patológica denominada actinomicosis apical. Esas bacterias forman colonias que pueden ser resistentes a la fagocitosis (4).

2.4. BIOFILM

El biofilm, también conocido como biopelícula, es una comunidad de organismos de una o varias especies que se encuentran adheridos a una superficie sólida mediante una matriz extracelular de polisacáridos. Este biofilm puede formarse en superficies inertes, tanto biológicas como sintéticas, y es una estructura altamente resistente a los agentes antimicrobianos (Figura 2). De hecho, se ha descubierto que los microorganismos que viven en el biofilm son hasta 1000 veces más resistentes a estos agentes (5).

En el campo de la endodoncia, se ha observado que el biofilm juega un papel importante en la resistencia bacteriana y en la persistencia de las infecciones endodónticas. Se ha identificado que *Enterococcus faecalis* es una de las especies

bacterianas que con mayor frecuencia se encuentran en el análisis de microbiota de conductos radiculares que presentan infecciones persistentes (5,6).

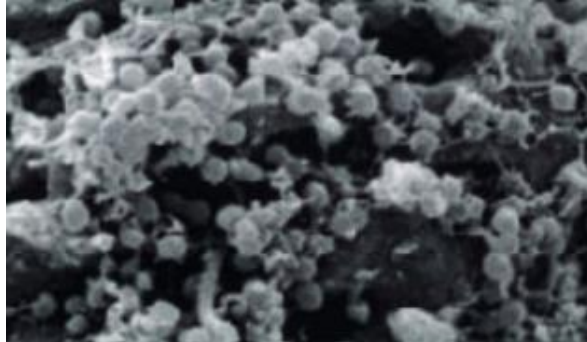


Figura 2 . **Microfotografía electrónica de barrido con biofilm presentes en conducto radicular.** Esta imagen muestra las organizaciones bacterianas principalmente cocos adheridos a dentina y algunas células invadiendo túbulos dentinarios en un aumento de 4000X (5)

El biofilm intrarradicular se aloja en zonas de difícil acceso en el sistema de conductos radiculares, mientras que las bacterias en suspensión se distribuyen por todo el sistema de conductos. La incompleta desinfección químico mecánica de los conductos radiculares puede mantener una capa infectada de biofilm que potencia el progreso de los microorganismos en el interior de los túbulos dentinarios, actuando como un reservorio de bacterias. Los biofilms son una de las causas más comunes de infecciones endodónticas persistentes(5).

Estudios científicos han demostrado que los biofilms bacterianos están presentes en un alto porcentaje de casos de periodontitis apicales con una prevalencia del 70 % en el tercio apical, 80 % en infecciones periapicales primarias y 70% en conductos previamente tratados. Además, se ha observado la presencia de biofilms en todos los conductos con un tamaño superior a 10 mm, mientras que los biofilms extra radiculares se observaron en apenas el 6 % de los casos. Estos biofilms intrarradicales pueden encontrarse en deltas apicales, conductos laterales e istmos Inter conductos, lo que dificulta su eliminación debido a su compleja organización celular y a la protección proporcionada por los túbulos dentinarios subyacentes a los biofilms densos (6).

Para erradicar el biofilm, es necesario realizar una eliminación mecánica directa mediante la instrumentación adecuada de los conductos radiculares, seguida de una irrigación profusa. Además, la eliminación indirecta del biofilm se logra mediante la alteración del hábitat y la creación de un entorno hostil para la supervivencia de los microorganismos (6).

2.5. FRACASO EN ENDODONCIA

Uno de los principales motivos del fracaso en los tratamientos de endodoncia es la persistencia de infecciones intraradiculares, también conocidas como periodontitis apicales persistentes o secundarias, después de un tratamiento endodóntico previo. Según estudios, se ha reportado una tasa de fracaso en retratamientos del 66%, lo que puede estar relacionado con la dificultad en la eliminación completa de bacterias (7).

Los dientes que han sido sometidos a tratamientos de conductos pueden experimentar fracasos debido a diversas razones, como la transportación apical (desviación de la lima en el ápice del conducto), obturaciones cortas o sobre extendidas, fractura radicular, restauraciones con sellado deficiente, o la presencia de conductos accesorios no obturados, entre otros factores (8). Es importante destacar que uno de los microorganismos de mayor relevancia en los fracasos endodónticos es *Enterococcus faecalis*, debido a su capacidad para desarrollar resistencia a los agentes antimicrobianos y a sus múltiples factores de virulencia que contribuyen a su capacidad de supervivencia. *E. faecalis* es conocido por ser un microorganismo agresivo y su erradicación puede resultar difícil en la práctica clínica odontológica, lo cual debe ser considerado en el enfoque de tratamiento de las infecciones endodónticas (9).

Es esencial abordar y solucionar adecuadamente estos problemas durante el tratamiento endodóntico, con el fin de minimizar la posibilidad de fracasos y asegurar un resultado exitoso y duradero.

2.6. ENTEROCOCCUS

Los enterococos gram positivos, son bacterias anaerobias facultativas que son inherentemente resistentes y pueden sobrevivir en una amplia gama de condiciones adversas, lo que les permite persistir en el medio ambiente durante periodos prolongados. Estas bacterias son conocidas por ser comensales en el tracto gastrointestinal y también desempeñan un papel importante en la maduración de alimentos y en el desarrollo de aromas característicos de varios tipos de quesos, aunque también puede contribuir al deterioro de ciertas carnes (10).

En el género *Enterococcus*, se han identificado un total de 33 especies. Sin embargo, en el contexto de infecciones en seres humanos, dos especies en particular han adquirido una creciente importancia como patógenos oportunistas causantes de infecciones nosocomiales (9). Estas especies son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. *E. faecalis* se ha encontrado en enfermedades dentales comunes como periodontitis, periimplantitis, caries y especialmente infecciones endodónticas secundarias, con una prevalencia que varía del 24% al 70%. Estas infecciones ocurren en conductos radiculares previamente obturados, donde *E. faecalis* puede formar biopelículas, lo que contribuye a su persistencia y resistencia a los tratamientos convencionales (10).

2.7. ENTEROCOCCUS FAECALIS

E. faecalis es una bacteria anaeróbica gram positiva conocida por ser un microorganismo oportunista que puede causar infecciones. Este microorganismo posee una amplia gama de mecanismos de supervivencia que le permiten sobrevivir

en condiciones desfavorables. Por ejemplo, puede crecer en ambientes con poco oxígeno, altos niveles de pH, temperaturas que varían entre 10 y 60 °C, ambientes pobres en nutrientes o con alta concentración de salinidad. Debido a su capacidad de sobrevivir en condiciones adversas, *E. faecalis* se considera uno de los principales implicados en el fracaso del tratamiento de enfermedades pulpares cuando está presente en el sistema de conductos (11).

2.7.1. MORFOLOGÍA BACTERIANA

Los *enterococcus* son bacterias que se presentan como células esféricas u ovoides, con un tamaño que varía de 0.6 a 2.0 micrómetros en el eje mayor y de 0.6 a 2.5 micrómetros en el eje menor. Son bacterias gram positivas que no forman endosporas. Por lo general, se organizan en pares o en cadenas cortas cuando se observan al microscopio. A diferencia de algunas otras bacterias, los *Enterococcus* no presentan movilidad, es decir, no tienen flagelos u otros apéndices que les permitan moverse activamente (9).

2.7.2. PATOGENICIDAD

La bacteria oportunista coloniza e infecta los túbulos dentinarios produciendo proteínas en situaciones adversas, como un ambiente con elevado pH. Se considera oportunista debido a que puede causar enfermedad en personas con una disminución en su inmunidad, y para ello cuenta con carbohidratos en su pared celular que le ayudan a adherirse al tejido. Su presencia en los túbulos dentinarios de los conductos radiculares a menudo se asocia a la formación de una periodontitis periapical crónica. Además, posee una gran capacidad de resistencia a los antimicrobianos y forma biopelículas en el fondo de los túbulos dentinarios, lo que la convierte en un microorganismo versátil que puede persistir en estos espacios durante largo tiempo (9)

Esta bacteria también es capaz de colonizar la mucosa humana a través de moléculas que actúan como adhesinas, lo que le permite migrar a otras regiones del cuerpo, como el sistema linfático o la circulación sanguínea. Además, se ha observado que la sustancia de agregación producida por esta bacteria induce su internalización en las células entéricas. Además, en la sangre, el ion superóxido ayuda a su supervivencia al evitar la fagocitosis(9)

2.7.3. FACTORES DE VIRULENCIA

Los estudios dedicados a determinar los factores de virulencia de *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) tienen como objetivo principal comprender los mecanismos de acción de esta bacteria en los diferentes tejidos del huésped (9).

E. faecalis cuenta con diversos factores de virulencia que, en conjunto, expresan su capacidad patogénica. Entre estos factores se encuentra una proteína de superficie extracelular que tiene un papel importante en la adhesión de la bacteria a las células del huésped. Además, *E. faecalis* produce una hemolisina que tiene propiedades hemolíticas en humanos, una gelatinasa que provee nutrientes a la bacteria y una hialuronidasa que actúa despolimerizando el mucopolisacárido del tejido conectivo, lo que facilita la diseminación de la bacteria. Estos son solo algunos ejemplos de los múltiples factores de virulencia que presenta *E. faecalis*. El estudio detallado de estos factores contribuye a una mejor comprensión del comportamiento patogénico de esta bacteria en el huésped (9).

2.7.4. RESISTENCIA DE E. FAECALIS A MEDICAMENTOS

En el campo de la odontología, la bacteria *E. faecalis* se caracteriza por su alta resistencia a los antibióticos. Para combatirla, se requiere una estrategia de sinergia entre la penicilina y un aminoglucósido como la gentamicina. Aunque la vancomicina o la ciprofloxacina podrían utilizarse, se ha demostrado que el *E. faecalis* ha desarrollado resistencia a estas moléculas.

En el tratamiento de *E. faecalis* en conductos radiculares, se utilizan diferentes soluciones. Una de las más comunes es el hipoclorito de sodio (NaOCl) a una concentración del 0.5 al 6%. Esta solución tiene una acción rápida y efectiva, ya que es capaz de eliminar bacterias, hongos, esporas y virus de manera eficaz. Otra opción adicional es el uso de clorhexidina (CHX) en concentraciones de 0.12% o 2%. Esta molécula catiónica, debido a sus propiedades antibacterianas, puede ser altamente efectiva en el combate contra microorganismos. Además, se utiliza una mezcla conocida como MTAD, que consiste en una solución con un pH de 2.15, resultado de la combinación de isómeros de una tetraciclina, ácido cítrico y un detergente. El MTAD es utilizado para remover el barrillo dentinario después de la aplicación de NaOCl (9)

El *E. faecalis* puede sobrevivir en nichos anatómicos del sistema de conductos radiculares y re infectar el conducto radicular obturado, como se muestra en la figura 3. (9).

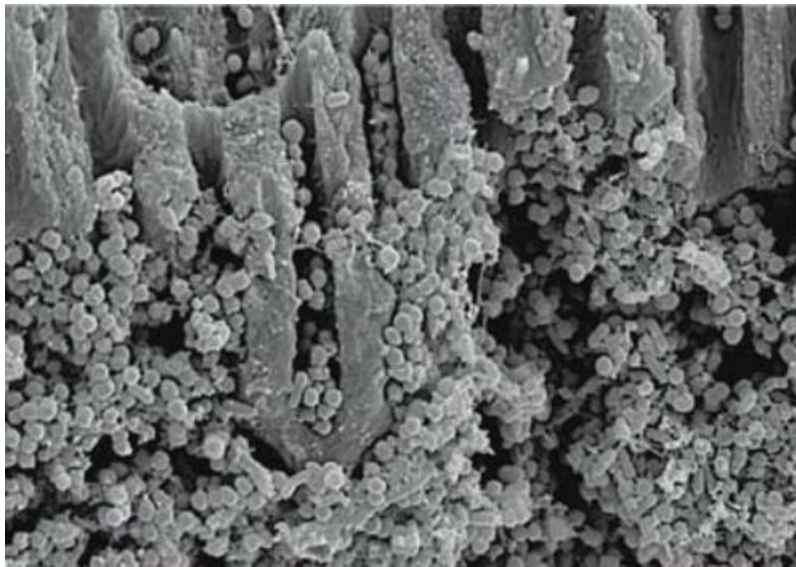


Figura 3 . **Túbulos dentinarios infectados.** Severa infección del conducto radicular en su mayoría Cocos dentro de los túbulos dentinarios, en microscopio electrónico de barrido (x3500 de magnificación) (4)

2.8. IRRIGACIÓN Y DESINFECCIÓN EN ENDODONCIA

La complejidad anatómica del sistema de conductos radiculares es una limitación importante durante el tratamiento endodóntico, ya que los microorganismos que se alojan en estas áreas complejas se consideran la principal causa de fracaso del tratamiento. Por lo tanto, se hacen esfuerzos para fortalecer la limpieza y desinfección de estos conductos (12).

La erradicación de los microorganismos presentes en el conducto radicular y la prevención de la reinfección son cruciales para el éxito del tratamiento endodóntico. Para lograr esto, se utilizan instrumentos rotatorios y se realiza una irrigación constante con soluciones irrigantes para remover el tejido necrótico inflamado, el biofilm microbiano y el barrillo dentinario del conducto radicular. Sin embargo, no existe una solución irrigante que cumpla con todas las funciones ideales requeridas en el conducto radicular, por lo que es necesario utilizar 2 o más soluciones irrigantes en una secuencia específica. Estos irrigantes son llevados al conducto radicular mediante jeringas y agujas de diferentes diámetros y características (13).

La forma más eficiente para mejorar el transporte del fluido del irrigante ocurre mediante la activación ultrasónica o sónica, que se realiza utilizando puntas ultrasónicas en el caso del método ultrasónico, o puntas de polímero adaptadas al motor endodóntico en el caso del método sónico. Esto permite mover el irrigante a través del flujo por convección, lo que asegura su llegada a áreas donde existe presencia de biofilm, microorganismos muertos y tejido pulpar remanente. En áreas donde no es posible alcanzar un flujo activo del irrigante, las partículas se transportarán mediante difusión (13).

Debido a la complejidad anatómica de los conductos radiculares, se requiere el uso de múltiples soluciones irrigantes en secuencia, y la activación ultrasónica o sónica es una forma eficiente de asegurar la distribución del irrigante en el conducto radicular (12).

2.8.1. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS IRRIGANTES

Los irrigantes son una herramienta esencial en el tratamiento de conductos radiculares, ya que permiten la eliminación de microorganismos, tejido remanente y dentina del conducto radicular mediante el mecanismo de enjuague. Algunas de las ventajas de los irrigantes incluyen su capacidad para prevenir el empaquetamiento de tejido duro y blando en la porción apical y evitar la extrusión de material infectado en el área periapical (13,14).

El NaOCl es considerado el estándar de oro en irrigantes debido a su propiedad antibacteriana y bactericida, así como su capacidad para disolver tejido necrótico y vital. Sin embargo, su efectividad en la eliminación del barrillo dentinario es limitada, por lo que a menudo se combina con otros irrigantes como el ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) o el ácido cítrico para complementar su acción (13).

Sin embargo, también hay desventajas asociadas con el uso de irrigantes, uno de los mayores desafíos es la eliminación del barrillo dentinario, que puede ser impredecible y requerir el uso de agujas adecuadas que se introduzcan más allá del tercio coronal y medio. Además, se debe tener cuidado de no utilizar NaOCl después de utilizar quelantes, ya que puede ocasionar erosión dentinaria y debilitamiento del conducto radicular (Figura 4) (13)

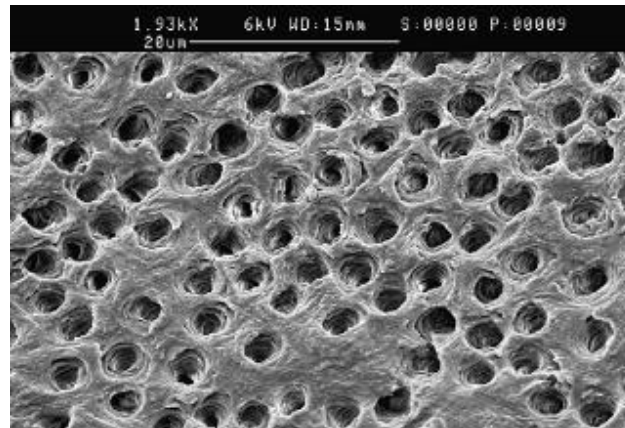


Figura 4 . **Erosión dentinaria del conducto radicular.** Imagen tomada del microscopio electrónico mostrando la erosión dentinaria ocasionada por el uso de NaOCl después de EDTA (13)

Otro desafío es la limpieza del tejido necrótico, barrillo dentinario y biofilm en áreas no instrumentadas, que depende del uso de químicos en los irrigantes. La alta concentración y exposición prolongada de NaOCl puede afectar la fuerza flexural de la dentina, causando su fractura. También es importante tener cuidado de no introducir accidentalmente NaOCl en los tejidos periapicales, ya que esto puede causar dolor y otras complicaciones (13,14).

2.8.2. PROPIEDADES DEL IRRIGANTE IDEAL

El irrigante ideal debe tener una serie de propiedades que lo hagan eficaz y seguro en el tratamiento de conductos. En primer lugar, debe tener una alta capacidad desinfectante, eliminando de manera efectiva los microorganismos presentes en el conducto radicular y previniendo su proliferación. Además, debe ser no irritante para los tejidos periapicales, evitando el dolor y la inflamación en esta zona (4).

Es importante que el irrigante sea estable en solución y tenga un efecto antimicrobiano prolongado, para garantizar su eficacia a lo largo del tratamiento. Así mismo, debe ser activo en presencia de sangre, suero y derivados proteicos de los tejidos, ya que en ocasiones estos pueden estar presentes en el conducto radicular (4)

La baja tensión superficial es otra propiedad importante del irrigante ideal, ya que este facilita su penetración en los conductos más estrechos y complejos. Por otro lado, no debe interferir en la reparación de los tejidos periapicales ni manchar la estructura de los dientes (4).

Es crucial que el irrigante elimine completamente el barrillo dentinario, que es una mezcla de tejido necrótico, bacterias y detritos, y desinfecte la dentina subyacente y sus túbulos. Además, debe ser no tóxico y no carcinógeno para las células tisulares que rodean al diente, y no tener efectos adversos en las propiedades físicas de la dentina expuesta ni en la capacidad de sellado de los materiales de obturación (4).

Finalmente, el irrigante ideal debe ser cómodo de aplicar y económico, para facilitar su uso en la práctica clínica. En resumen, el irrigante ideal debe tener una alta capacidad desinfectante, ser seguro y efectivo, y no interferir en la reparación de los tejidos periapicales ni en la calidad de los materiales de obturación utilizados (4).

2.9. SOLUCIONES IRRIGANTES DE ENDODONCIA

2.9.1. HIPOCLORITO DE SODIO

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es el irrigante comúnmente utilizado en endodoncia. Es considerado como el estándar de oro como irrigante de conductos radiculares por su capacidad antibacteriana y disolvente de tejidos. Este componente químico se ha estudiado bastante ya que además de sus ventajas antibacterianas tiene efectos citotóxicos desfavorables (4,15,16).

El NaOCl tiene un pH de 11-12 aproximado y cuando este contacta con proteínas tisulares, el nitrógeno, el formaldehído y acetaldehído se forman en poco tiempo y los enlaces peptídicos se rompen dando como resultado la disolución de las proteínas. Durante el proceso el hidrógeno en el grupo amino (-HN) se sustituye por cloro (-NCl)

formando así cloramina, que juega un papel importante en la eficacia antimicrobiana, tejido necrótico y pus se disuelve, y así el agente antimicrobiano puede limpiar las áreas infectadas, como consecuencia de estas propiedades el NaOCl es altamente tóxico en altas concentraciones y tiende a inducir la irritación de los tejidos al contacto (Figura 5) (4,15,16).



Figura 5 . **Efecto tóxico del uso de NaOCl en tejidos peri radiculares.** Vista con aumento de lesión necrótica en mucosa debido a la extrusión de irrigante (17)

Como se discutió el NaOCl tiene efectos tóxicos o secundarios en tejidos vitales resultando en hemólisis, ulceraciones en piel y necrosis. Algunos de las complicaciones relacionadas son las siguientes:

Inyección de NaOCl más allá del foramen apical: La inyección inadvertida de NaOCl más allá del foramen apical puede ocurrir en diferentes situaciones, como en dientes con un amplio foramen apical o cuando la constricción apical ha sido destruida durante el tratamiento endodóntico o debido a una reabsorción. Además, una aplicación excesiva de presión durante la irrigación o la inserción de la punta de la aguja de irrigación en el conducto radicular sin permitir una liberación lateral adecuada, pueden dar lugar al contacto de grandes volúmenes de irrigante con los tejidos periapicales. En caso de producirse esta situación, la notable capacidad de disolución de tejidos de tejidos del hipoclorito de sodio puede llevar a la necrosis tisular.

Reacciones alérgicas al NaOCl: La probabilidad de una reacción de hipersensibilidad a la solución de NaOCl es baja debido a que el sodio y cloro son elementos esenciales

en la fisiología del cuerpo humano. Es importante mencionar que se han reportado pocos casos de reacciones alérgicas.

Dolor postoperatorio: La extrusión de NaOCl puede desencadenar una reacción inflamatoria en los tejidos periapicales, lo cual puede resultar en dolor post operatorio. Este dolor suele manifestarse después de 24 horas (h) de finalizado el tratamiento. Es importante considerar este posible efecto secundario y tomar medidas adecuadas para controlar el dolor y garantizar la comodidad del paciente durante el proceso de recuperación (4,15,16).

Efecto adverso sobre las propiedades mecánicas de la dentina: el protocolo de irrigación que utiliza NaOCl impondría un efecto adverso dependiente del tiempo y concentración en las propiedades mecánicas de la dentina, como la micro dureza, elasticidad. Debido a que la aplicación de NaOCl forma una subsuperficie de dentina escasa en colágeno, llamada como capa fantasma. Resultando así en una disminución en la resistencia a la fractura y elasticidad a causa del aumento del tiempo de exposición y concentración (4,15,16).

2.9.2. EDTA

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es un compuesto incoloro e insoluble en agua que se utiliza como solución irrigante en endodoncia debido a su capacidad para quelar y eliminar la parte mineralizada del barrillo dentinario. Su acción como agente quelante se debe a su capacidad para unirse a iones metálicos (4).

El modo de acción del EDTA implica la exposición directa durante un periodo prolongado de tiempo, lo que permite la extracción de las proteínas superficiales bacterianas al combinarse con iones metálicos de la envoltura celular, lo que puede llevar en su caso a la destrucción de las bacterias. Es importante destacar que el EDTA es autolimitante, ya que forma un complejo estable con el calcio y, una vez que todos los iones disponibles están enlazados, se alcanza el equilibrio y no se produce mayor disolución (4,18).

En endodoncia, el EDTA se utiliza en combinación con un componente proteolítico, como el NaOCl, para eliminar eficazmente los componentes orgánicos del barrillo dentinario. Cuando se utiliza como líquido de irrigación en la preparación de los conductos radiculares, el EDTA tiene un efecto limitado si se utiliza solo. Normalmente, se utiliza en una concentración del 17% y puede eliminar el barrillo dentinario cuando se encuentra en contacto directo con la pared del conducto durante al menos un minuto (Figura 6). Sin embargo, si se deja en el conducto durante más tiempo o se utiliza NaOCl después del EDTA, se ha observado erosión de la dentina (18).

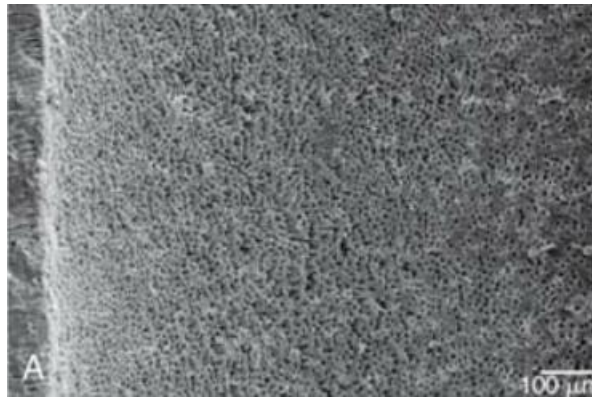


Figura 6 . **Fotografía microscópica de conductos con mínimo barrillo dentinario después de la irrigación con EDTA.** Esta fotografía muestra el tercio medio de conducto radicular con granulado denso de barrillo dentinario después de la irrigación con EDTA al 17% (4)

El efecto de los agentes quelantes en la negociación de los conductos calcificados estrechos y tortuosos para establecer la permeabilidad depende de la anchura de los conductos y de la cantidad de sustancia activa disponible. El proceso de desmineralización continúa hasta que todos los agentes quelantes han formado complejos con el calcio (4,18).

En resumen, el EDTA se utiliza como agente quelante en endodoncia para mejorar el desbridamiento químico mecánico en el tratamiento del conducto radicular al eliminar el barrillo dentinario. Su capacidad para unirse a iones metálicos y formar complejos estables con el calcio lo convierte en una herramienta valiosa en la preparación de los conductos radiculares. Sin embargo, su uso debe ser cuidadoso y controlado, ya que puede producir efectos no deseados si se deja en el conducto durante demasiado tiempo o se utiliza en concentraciones inadecuadas (4,18).

2.9.3. CLORHEXIDINA

La clorhexidina (CHX) ha sido objeto de numerosos estudios como irrigante endodóntico *in vivo* e *in vitro* debido a su amplio espectro antimicrobiano (4). Este agente se puede aplicar clínicamente durante todas las etapas de la preparación del conducto radicular para desinfectar el campo operatorio, eliminar tejidos necróticos, ensanchar los conductos y realizar la longitud de trabajo del conducto radicular. La CHX también se utiliza en la preparación químico mecánica previa a la permeabilidad, como medicamento intraconducto, solo o combinado con otras sustancias como hidróxido de calcio, en la desinfección de conos maestros de gutapercha, en el retratamiento y en la desinfección de la preparación protésica, entre otros (19–21).

La CHX puede presentarse en forma líquida o en gel y su pH oscila entre 5.5 - 7. Al ser soluble en agua, se puede eliminar fácilmente del conducto radicular con un lavado final de solución salina. La utilización de CHX en forma de gel permite que esta sustancia actúe lubricando las paredes del conducto radicular, reduciendo la fricción entre la lima y la superficie de la dentina, lo que facilita la instrumentación y disminuye los riesgos de fractura de instrumentos dentro del conducto. Además, la CHX mejora la eliminación de tejidos orgánicos, compensando su incapacidad para disolverlos (21).

Otra ventaja de la CHX es que reduce la formación de la capa de barrillo dentinario, ya que su viscosidad mantiene los detritus en suspensión, lo que disminuye la formación de la capa de barrillo dentinario. CHX se ha recomendado como alternativa a NaOCl en casos de ápices abiertos, reabsorción radicular y perforación radicular debido a su biocompatibilidad (20,21).

Es importante destacar que, aunque la CHX se considera el medicamento comúnmente recetado para combatir los microorganismos orales patógenos, tiene algunos efectos secundarios potenciales. Entre ellos se incluyen manchas en los dientes, alteración del sabor, aumento de la absorción de minerales en la formación de biopelículas y cálculos, así como irritación de la mucosa. A pesar de su utilidad como irrigante final, la CHX no puede ser el principal irrigante de endodoncia, ya que no es capaz de disolver tejido necrótico y su eficacia es menor contra bacterias gram negativas en comparación con las gram positivas. Además, la interacción entre la CHX y el NaOCl produce un precipitado insoluble y citotóxico de color café - anaranjado, conocido como paracloroanilina (PCA), que puede interferir con el sellado de la obturación radicular (Figura 7). Por lo tanto, es importante evitar la mezcla directa de estas dos sustancias y se recomienda utilizar un irrigante intermedio, como la solución salina, entre ambas (4,19–21).



Figura 7 . **Formación de precipitado citotóxico por la interacción entre NaOCl y CHX.** Esta imagen muestra detalladamente cambio de color café - anaranjado por contacto entre NaOCl al 5% y CHX al 2% (13)

3.1. ALTERNATIVAS HERBOLARIAS COMO IRRIGANTES DE CONDUCTOS RADICULARES

3.1.1. ANTECEDENTES DE LOS IRRIGANTES DE ORIGEN NATURAL

La aplicación de medicamentos a base de hierbas en la salud oral se relaciona con la medicina tradicional de la India y China (22). A lo largo de la historia, se ha mencionado que Hipócrates sugirió una combinación de alumbre, sal y vinagre como enjuague bucal. Actualmente, se prefieren los medicamentos a base de hierbas a los medicamentos convencionales debido a sus características naturales, menor costo, disponibilidad y amplio margen de seguridad. Además, muchos de los medicamentos modernos utilizados en odontología tienen efectos secundarios conocidos. Se ha encontrado que los medicamentos a base de hierbas son utilizados por alrededor del 80% de la población mundial para fines relacionados con la salud, principalmente por los ciudadanos de las comunidades rurales de los países en desarrollo (22,23).

En cuanto al mantenimiento de la salud oral, una gran cantidad de estudios se han centrado en las propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias de diferentes agentes naturales. Por lo tanto, se requiere el desarrollo de nuevos protocolos de tratamiento para manejar estos problemas de salud oral de manera segura (22,23).

La nueva tendencia es explorar entre las abundantes plantas medicinales disponibles en la naturaleza. Los componentes bioactivos (naturales) en los productos de hierbas pueden ser beneficiosos con efectos secundarios mínimos y máxima eficacia. Ya sea como productos de un solo ingrediente o en combinaciones, las hierbas han demostrado ser seguras y efectivas en el manejo de varios problemas y enfermedades orales. Los productos herbales son populares hoy en día en odontología debido a su alta actividad antimicrobiana, biocompatibilidad, antiinflamatorio y propiedades antioxidantes (24).

En el campo de la endodoncia, se ha encontrado que los extractos de plantas naturales podrían usarse como irrigantes endodónticos efectivos. *E. faecalis* es una bacteria comúnmente encontrada en conducto radicular infectado y en casos de tratamientos fallidos que necesitan retratamientos debido a que es una bacteria que sobrevive en entornos desfavorables, este puede sobrevivir en altas concentraciones de NaOCl el cual comúnmente se utiliza como irrigante intra conducto. Por lo tanto, es de gran importancia encontrar un agente de irrigación contra *E. faecalis* con alta capacidad de penetración de los túbulos dentinarios (25).

Las principales ventajas de los irrigantes a base de hierbas son su seguridad, fácil disponibilidad, el aumento de la vida útil, la eficacia en costo y la falta de resistencia microbiana hasta el momento. Los estudios in vitro realizados hasta ahora han demostrado que las hierbas pueden tener un papel prometedor como irrigantes del conducto radicular. Sin embargo, se requieren más ensayos clínicos e investigaciones para ser considerados como alternativas efectivas a los irrigantes sintéticos del conducto radicular (26).

La gran diversidad de plantas existentes en el mundo, alrededor de 500 000 especies, presenta un gran potencial para la búsqueda de nuevos compuestos bioactivos. A pesar de ello, solo el 1 % de estas plantas ha sido objeto de investigación fitoquímica, lo que sugiere un amplio campo para la investigación y el descubrimiento de nuevas terapias y preventivos (26).

Se ha demostrado que los extractos de plantas, aceites esenciales y fitoquímicos purificados pueden tener un gran potencial como agentes terapéuticos para enfermedades orales. En particular, se ha investigado el potencial de estos compuestos para inhibir la formación de biopelículas, que son comunidades de microorganismos que se adhieren a superficies orales y pueden causar caries, gingivitis y otras enfermedades (26,27).

Se ha encontrado que diversos compuestos bioactivos presentes en extractos de plantas, como flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, fenoles y triterpenoides, pueden inhibir la formación de biopelículas. Además, se ha observado que ciertas plantas, como el ajo, cúrcuma, el té verde, papaya, clavo poseen propiedades antimicrobianas que pueden ser beneficiosas para la salud oral (28–30)

3.2. ALLIUM SATIVUM (AJO)

Allium sativum (ajo), también conocido como ajo, es una planta perteneciente a la familia de las liliáceas, que ha sido ampliamente estudiada debido a sus propiedades terapéuticas. Desde la antigüedad, se ha utilizado como una droga con propiedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas y anti virales. (Figura 8)



Figura 8 . **Imagen de *Allium sativum* (ajo).** Esta imagen muestra el ajo en su forma natural, después de extraerlos de la tierra (31).

En el estudio realizado por David Ntep *et al.* en 2021 evaluaron la capacidad antibacteriana del extracto acuoso de ajo en tres patógenos periodontales comunes: *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Los resultados obtenidos mediante los métodos de maceración y difusión demostraron la actividad antibacteriana del ajo contra estos microorganismos. Estos hallazgos sugieren que el uso del extracto de ajo como agente antibacteriano puede ser una alternativa potencialmente eficaz y segura para el tratamiento de la enfermedad periodontal. Sin embargo, se necesitan más estudios para determinar las concentraciones óptimas para su uso clínico. (32)

El extracto acuoso de ajo puede ser utilizado para tratar enfermedades periodontales, utilizando el método de maceración y evaluando su actividad antibacteriana mediante métodos de sensibilidad como la difusión en disco y pozos. Estudios han demostrado que el extracto de ajo tiene efectos antibacterianos contra una amplia variedad de bacterias, incluyendo *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus vulgaris*

En un estudio realizado por Octavia A. *et al.* en 2019 analizaron cepas clínicas de *E. faecalis* obtenidas de dientes temporales no vitales. Mediante el uso de métodos de análisis de viabilidad y proliferación celular, que permiten evaluar el efecto citotóxico y la proliferación celular, se comprobó que el extracto de ajo redujo la viabilidad de *E. faecalis*. Este hallazgo sugiere que el ajo podría ser un agente efectivo contra esta bacteria en endodoncia (33).

La actividad antibacteriana del extracto de ajo reside en el compuesto alicina, que es producido a través de la actividad enzimática de alinasa después de triturar o picar los dientes de ajo. La alicina inhibe la síntesis de ARN y la síntesis de proteínas y ADN de forma parcial, y también afecta la síntesis de lípidos, perturbando así otras partes de las células (33).

El extracto de ajo tiene un gran potencial como irrigante de conducto radicular a base de hierbas debido a que es capaz de desinfectar el conducto, y no es citotóxico en tejidos periapicales si se extiende el material más allá del ápice radicular. Además, los extractos de hierbas como el ajo pueden ser una alternativa al NaOCl en el futuro (33,34).

En 2019, Elheeny *et al.* llevaron a cabo un estudio clínico en dientes temporales infectados, en el que se comparó el uso de un extracto de ajo en etanol como irrigante en el grupo experimental y el NaOCl al 2.5% en el grupo control. Los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa entre estos dos grupos en un periodo de seguimiento de 12 meses (Figura 9). Sin embargo, se necesitan más investigaciones para determinar su seguridad a largo plazo (34)

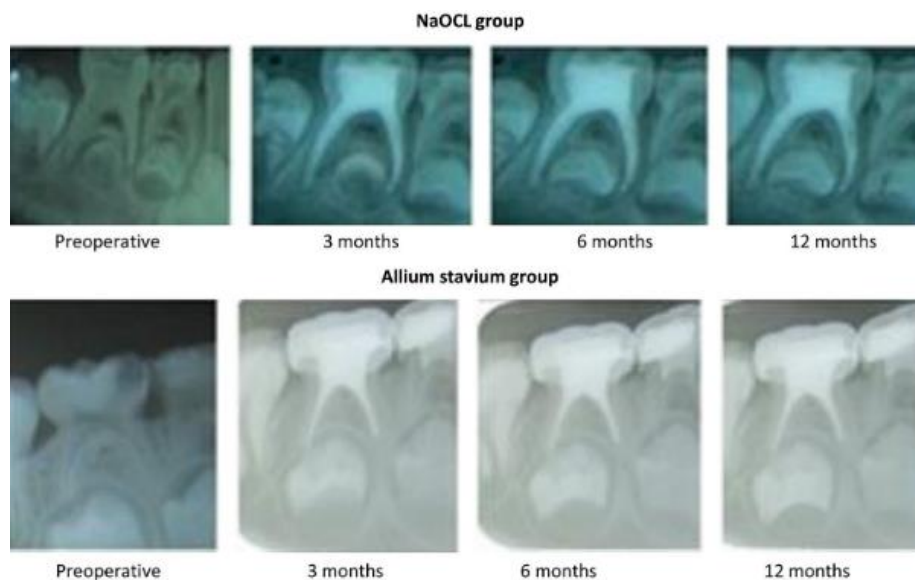


Figura 9 . **Radiografía periapical de pulpectomía utilizando extracto de ajo y NaOCl.** Esta imagen radiográfica muestra la comparación en periodos de 3,6 y 12 meses respectivamente entre el irrigante de extracto de ajo y NaOCl utilizados en un tratamiento de conductos del diente temporal segundo molar inferior derecho (34)

Es importante tener en cuenta que la alicina, el compuesto inestable formado por la acción enzimática de la alinasa, se inactiva a temperaturas superiores a 65 °C, lo que puede limitar su aplicación en algunos casos.

También se han realizado estudios para evaluar la penetración tubular dentinaria del extracto de ajo, y se ha demostrado que puede exhibir una penetración similar a la del NaOCl al 5.25%, y evitar la formación de biopelículas de *E. faecalis* dentro de los conductos radiculares (35,36).

En un estudio *in vitro* llevado a cabo por Pranitha *et al.* en 2018, se evaluó la capacidad del extracto de ajo con etanol para la remoción de barrillo dentinario. Los resultados demostraron que la combinación de ajo con EDTA al 17% removió mejor el barrillo dentinario en comparación con el extracto de ajo solo. Sin embargo, no se encontró una diferencia significativa entre la eficacia de esta combinación y la del NaOCl con EDTA al 17%. Estos hallazgos sugieren que el extracto de ajo con etanol puede ser una alternativa efectiva al NaOCl en la remoción del barrillo dentinario, especialmente cuando se combina con EDTA (35)

Ourvind *et al.* llevaron a cabo un estudio *in vitro* en el que analizaron la penetración intratubular del extracto de ajo en dientes extraídos en el año 2015. El estudio demostró que el ajo al 70% tuvo una penetración intratubular similar al NaOCl al 5.25%. sin embargo, estudios futuros deben buscar formas de enmascarar el fuerte olor del extracto de ajo para su uso clínico (36)

En conclusión, el extracto del ajo es una opción prometedora para su uso como irrigante de conducto radicular debido a sus propiedades antibacterianas y su bajo efecto citotóxico en tejidos periapicales. Sin embargo, es importante tener en cuenta sus limitaciones y continuar investigando su efectividad y seguridad en futuros estudios (35,36).

3.4. HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA)

Hibiscus sabdariffa (Hs) es un arbusto tropical de la familia *Malvaceae*, originario de África. Entre los principales países productores se encuentran China, Tailandia, México, Egipto, Senegal y Tanzania. En México, esta planta se conoce como "flor de jamaica" o simplemente jamaica.

II. INTRODUCCIÓN

Los cálices rojos son la parte de la planta de interés comercial y son ricos en ácidos orgánicos minerales, antocianinas y otros compuestos fenólicos. (Figura 10) Se pueden aplicar varios métodos de extracción para obtener extractos de hibisco. Las condiciones de extracción utilizadas, como el tipo de disolvente, la concentración, el tiempo y la temperatura, pueden afectar potencialmente el perfil polifenólico de los extractos, lo que dificulta la comparación entre estudios. Tradicionalmente, el hibisco fresco se congela o se seca al sol para su conservación y se utiliza en la producción de tintes naturales, extractos de sabor y bebidas. Los cálices secos se consumen en todo el mundo en infusiones calientes y bebidas frías. Además de su uso como bebida en la industria alimentaria, la jamaica también se utiliza en alimentos para animales, cosméticos y productos farmacéuticos. La planta contiene proteínas, grasas, carbohidratos, ácidos, minerales, vitaminas, así como muchos tipos de compuestos fenólicos. Los polisacáridos mucilaginosos y las pectinas también forman parte de su composición (37–41).



Figura 10 . **Imagen de *Hibiscus sabdariffa* (flor de jamaica).** Esta imagen muestra el color característico rojo de los cálices de la jamaica en su estado natural (42)

Los compuestos fenólicos han llamado la atención debido a sus efectos beneficiosos en la salud y el bienestar humano. Los compuestos fenólicos encontrados en esta planta incluyen ácido cítrico, ácido hidroxícitrico, ácido hibiscus, ácido protocatecuico y flavonoides como la quercetina, gosipetina y glucósidos. Los antocianos detectados en grandes cantidades en los cálices son responsables del color rojo brillante. Se les han atribuido propiedades farmacológicas, entre las más significativas se encuentra su acción cardioprotectora, acción antihipertensiva, eficacia contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad e hiperlipedemia. Además, se han destacado propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, hepatoprotectoras y antitumorales. La actividad antibacteriana exhibida por Hs en estudios previos podría atribuirse a la presencia de compuestos fenólicos específicos y la posible existencia de efectos sinérgicos con otros compuestos no fenólicos presentes en los extractos de Hs (38,39,43,44)

A pesar de que se han realizado estudios previos sobre los efectos medicinales de la planta conocida como jamaica, también llamada *Hibiscus sabdariffa* se ha observado su eficacia como agente antibacteriano en el campo de la odontología. Durante el desarrollo de nuevos agentes como productos de cuidado oral, sus efectos tóxicos en las células orales deben evaluarse, razón por la cual se realizaron estudios en ensayos de letalidad con camarones de salmuera, demostrando que el extracto de jamaica es seguro para las células orales, indicando que es más seguro que el CHX para el cuidado oral con menor citotoxicidad. También se informa que la planta es antiséptica, astringente y solvente. Se utiliza como remedio popular en el tratamiento de abscesos, afecciones biliares, cáncer, tos, debilidad, dispepsia, fiebre, resacas, enfermedades cardíacas, hipertensión y neurosis (38,43,45–47).

Hs muestra la presencia de flavonoides, conocidos por su actividad antiviral, antiinflamatoria, antioxidante, citotóxica y también utilizados en el tratamiento de la hipertensión y la diabetes. También se encuentran taninos en la planta, y estos disminuyen la proliferación bacteriana al bloquear enzimas clave en el metabolismo microbiano, desempeñando un papel importante como antioxidante. *Hs* tiene muchos contenidos medicinales importantes llamados fitoquímicos, y estos son responsables de la inhibición bacteriana. Solo unos pocos investigadores han probado la eficacia de esta planta como agente antibacteriano (47,48).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La correcta desinfección de los conductos radiculares es esencial para reducir la presencia de microorganismos patógenos y erradicar la microbiota que compromete la salud bucodental. Sin embargo, algunos microorganismos, como el *E. faecalis*, poseen una resistencia mayor, son capaces de sobrevivir y colonizar el interior de los conductos radiculares, lo que representa un desafío para los métodos de desinfección convencionales.

El uso de irrigantes que desestabilicen la flora microbiana es una de las medidas químicas más importantes para la desinfección, existen diferentes irrigantes en el mercado como opción. Aunque el hipoclorito de sodio es el estándar de oro, su uso presenta una desventaja debido a su efecto citotóxico en los tejidos periapicales. Por esta razón, se han investigado métodos alternativos que puedan ofrecer características antibacterianas, antifúngicas, y bactericidas, al mismo tiempo que presenten menor toxicidad y daño a los tejidos periapicales.

Por lo que nos planteamos las siguientes preguntas, ¿Los extractos acuosos de ajo y jamaica, al ser empleados como un agente irrigante de conductos radiculares exhiben un efecto antibacteriano superior al hipoclorito de sodio y a la CHX frente a *E. faecalis*?
¿Los extractos acuosos de ajo y jamaica presentan efecto citotóxico superior al NaOCl al 5% en eritrocitos humanos?

IV. JUSTIFICACIÓN

Uno de los microorganismos más resistentes y más comúnmente encontrado dentro de los conductos radiculares, es el *E. faecalis*, el cual está presente hasta en el 80-90 % de los casos de tratamientos endodónticos fallidos. Esta bacteria ha demostrado una alta resistencia a los antibacterianos convencionales. Actualmente los irrigantes utilizados en endodoncia tienen propiedades antibacterianas efectivas sin embargo pueden ser citotóxicos en tejidos periapicales y células del sistema inmunológico. Por lo tanto, la búsqueda de un irrigante no citotóxico es crucial para garantizar el éxito a largo plazo de los tratamientos endodónticos.

Recientemente en odontología se han estudiado las propiedades de agentes de origen natural los cuales pueden emplearse para la desinfección de conductos radiculares tales como té de árbol, cúrcuma, orégano, romero, entre otros. Estos agentes naturales han demostrado poseer efectos antimicrobianos significativos. Sin embargo, existe una escasez de estudios que investiguen los extractos acuosos de ajo y jamaica, así como su uso como irrigantes en los conductos radiculares.

El presente estudio evalúa el efecto antibacteriano de dos soluciones de origen herbolario, el extracto acuoso de ajo y de jamaica sobre el microorganismo *E. faecalis*, el cual se encuentra frecuentemente en infecciones del sistema de conductos y tejidos periapicales, especialmente en casos de retratamiento endodóntico. Además, se busca evaluar el efecto citotóxico del extracto acuoso de ajo y de jamaica sobre eritrocitos humanos.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los extractos acuosos de ajo y jamaica exhiben un efecto antibacteriano sobre *E. faecalis*. Además, los extractos acuosos de jamaica y ajo exhiben un efecto citotóxico inferior al NaOCl al 5% sobre eritrocitos.

5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)

No se encuentra diferencia estadísticamente significativa del efecto antibacteriano entre los extractos acuosos ajo, jamaica hipoclorito de sodio al 5% y clorhexidina al 2% frente a *E. faecalis*. Asimismo, no se encuentra diferencia estadísticamente significativa en la citotoxicidad entre extractos acuosos de jamaica y ajo en comparación con el NaOCl al 5% en la hemólisis de eritrocitos.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)

Se encuentra diferencia estadísticamente significativa del efecto antibacteriano entre los extractos acuosos ajo, jamaica, hipoclorito de sodio al 5% y clorhexidina al 2% sobre *E. faecalis*. Asimismo, se encuentra diferencia estadísticamente significativa en la citotoxicidad entre extractos acuosos de jamaica y ajo en comparación con el NaOCl al 5% en eritrocitos humanos.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuosos de ajo y jamaica sobre *E. faecalis* mediante el método de cultivo de difusión agar en pozos. Evaluar el efecto citotóxico de estos extractos acuosos en células eritrocitarias humanas.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar la efectividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuosos de ajo y jamaica sobre *E. faecalis* en medios de cultivo, para su uso como irrigante en endodoncia.
2. Comparar el crecimiento bacteriano entre los irrigantes: hipoclorito de sodio 5%, clorhexidina al 2% y extractos acuosos en 24, 48 hrs.
3. Evaluar los halos de inhibición formados por el contacto de los extractos acuosos de ajo y jamaica a concentraciones de 60%,75% 100% sobre *E. faecalis*.
4. Medir los halos de inhibición formados por contacto de los extractos acuosos de ajo y jamaica a concentraciones de 60%,75% 100% sobre *E. faecalis*.
5. Evaluar el efecto citotóxico de los extractos acuosos de ajo y jamaica en eritrocitos humanos mediante la medición de su capacidad hemolítica en diferentes concentraciones.
6. Evaluar la actividad hemolítica del NaOCl al 5% en eritrocitos humanos.
7. Analizar y comparar la actividad hemolítica en eritrocitos humanos de los extractos acuosos en diferentes concentraciones y NaOCl al 5%.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Método de evaluación de inhibición antibacteriana:

Soluciones irrigantes como el extracto acuoso de ajo y extracto acuoso de jamaica en diferentes concentraciones (100%,75%, 60%, 40%, 20%).

Controles positivos: NaOCl al 5% y Clorhexidina al 2%.

Tiempo de incubación: 24 y 48 h.

Método de evaluación citotóxica en eritrocitos:

Soluciones irrigantes como el extracto acuoso de ajo y extracto acuoso de jamaica en diferentes concentraciones (100%,75%, 60%, 40%, 20%).

Control positivo: NaOCl al 5%.

Control negativo: Solución salina.

7.2. VARIABLES DEPENDIENTES

1. Inhibición de crecimiento bacteriano de los extractos acuosos estudiados en medios de cultivo.

2. Actividad sobre eritrocitos.

7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluó la efectividad antimicrobiana de los extractos acuosos de jamaica y ajo en diferentes concentraciones sobre la bacteria *E. faecalis*. Esto se llevó a cabo midiendo los halos de inhibición utilizando una regla calibradora vernier en placas Petri con medio de cultivo agar Mueller Hinton, durante un período de 24 y 48 h. Se realizó un análisis estadístico con el programa de GraphPad Prism Software (versión 9 para Windows, San Diego, California USA) por medio de comparación múltiple Sidak, mediante el análisis de varianza ANOVA bidireccional.

Asimismo, se evaluó el efecto citotóxico de los extractos acuosos de jamaica y ajo sobre la suspensión de eritrocitos mediante la medición de la absorbancia a 600 nm en un lector multipozo. Con el fin de lograrlo, se llevaron a cabo diversas diluciones con el objetivo de obtener una variedad de concentraciones de los extractos acuosos y se utilizó el programa GraphPad Prism Software (versión 9 para Windows, San Diego, California USA) por medio de comparación múltiple Tukey, mediante el análisis de varianza ANOVA de una vía, para determinar si existían diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de los extractos acuosos sobre la suspensión de eritrocitos.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental *in vitro*.

8.1.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA

- Soluciones de extractos acuosos de ajo (100%, 75%, 60%, 40%, 20%).
- Soluciones de extractos acuosos de jamaica (100%, 75%, 60%, 40%, 20%).
- Cepa bacteriana *E. faecalis*.

8.1.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA

- Soluciones de extractos acuosos de ajo (40%, 20%).
- Soluciones de extractos acuosos de jamaica (60%, 40%, 20%).

8.1.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN

ERITROCITOS

- Soluciones de extractos acuosos de ajo (75%, 60%, 40%, 20%).
- Soluciones de extractos acuosos de jamaica (100%, 75%, 60%, 40%, 20%).
- Eritrocitos humanos al 0.4% obtenidos de paciente sin antecedentes sistémicos y con buen estado de salud.

8.1.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN EN LA EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN

ERITROCITOS

- Eritrocitos humanos al 0.4% obtenidos de paciente con antecedentes sistémicos y un estado de salud comprometido.

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

8.2.1. MÉTODO DE EVALUACIÓN DE INHIBICIÓN ANTIBACTERIANA

Grupo 1: Cajas Petri que contienen cultivos de la bacteria *E. faecalis*, expuestos a soluciones de extracto acuoso de ajo en diferentes concentraciones (100%, 75%, 60%).

Grupo 2: Cajas Petri que contienen cultivos de la bacteria *E. faecalis*, expuestos a soluciones de extracto acuoso de jamaica en diferentes concentraciones (100%, 75%).

Grupo control positivo 1: NaOCl al 5%

Grupo control positivo 2: CHX al 2%

8.2.2. MÉTODO DE EVALUACIÓN CITOTÓXICA EN ERITROCITOS

Grupo 1: Muestra de cultivo de eritrocitos al 0.4% expuestos a diferentes concentraciones de extracto acuoso de ajo (75%, 60%, 40% y 20%).

Grupo 2: Muestra de cultivo de eritrocitos al 0.4% expuestos a diferentes concentraciones de extracto acuoso de jamaica (100%, 75%, 60%, 40% y 20%).

Grupo control positivo: NaOCl al 5%

Grupo control negativo: Solución salina

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Para la elaboración de extractos, se utilizó agua tridestilada (HYCEL, Reactivos químicos), mortero de porcelana con pistilo, flores o cálices secos de jamaica (bolsa 100g empaquetada), dientes de ajo (en bolsa de malla) balanza analítica (Ohaus Pioneer), hojas de papel de pesaje blanco, frascos de vidrio con tapadera metálica (354 mililitros (ml)), aluminio (Reynolds), micropipeta (VWR de 2-20 μ L, 100-1000 μ L)

Para la experimentación del efecto antimicrobiano, se utilizaron guantes de látex estériles (Ambiderm), toallitas germicidas (Super Sani- Cloth), desinfectante en aerosol (Lysol), bolsas plásticas (ziploc), indumentaria de protección personal, alcohol al 70 % (fabricado en laboratorio con agua destilada y alcohol) para desinfección de área de trabajo, cajas Petri con medio de cultivo agar Mueller Hinton (Laboratorio Microbiología Médica), medio de cultivo con cepa bacteriana *E. faecalis* ATCC 19433 (Laboratorio Microbiología Médica), hisopos estériles (McKESSON), pipeta Pasteur de vidrio estéril, fuego para área estéril (alcohol sólido, FUEGO), plumón negro marcador permanente (sharpie), incubadora (HHD), regla calibradora vernier, micropipeta (VWR de 2-20 μ L, 100-1000 μ L) NaOCl al 5% (botella de hipoclorito de sodio, contenido líquido de 930 g Clorox, (The Clorox company), Clorhexidina al 2% (Concepsis, Ultradent), extractos acuosos de ajo y jamaica.

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 μL , 100-1000 μL) y el lector de absorbancia el fotómetro de mesa multiparamétrico y medidor de pH (H183399 HANNA), extractos acuosos de ajo y jamaica al 60 %, 75% y 100% cada uno, NaOCl al 5% (botella de hipoclorito de sodio, contenido líquido de 930 g Clorox, Tijuana, México)

8.4. METODOLOGÍA

8.4.1. MACERACIÓN DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS

Para la medición y preparación de muestras se seleccionaron como herbolaria las flores secas de jamaica y dientes de ajo. Cada muestra fue pesada con precisión utilizando una balanza analítica.

A continuación, se procedió a pulverizar cada muestra utilizando un mortero de porcelana con pistilo. Se tuvo el cuidado de lograr una consistencia finamente molida de las muestras, para su adecuada extracción (Figura 11).



Figura 11 **Pulverización de muestras.** En la imagen (A) se observa pulverización de jamaica y en la imagen (B) la pulverización de ajo, ambos con agua tridestilada.

Para la preparación de el extracto de jamaica, se utilizaron 8 gramos (g) de flor de jamaica. Se agregaron 50 ml de agua tridestilada en un recipiente y se sometió a una temperatura de 100 °C, para permitir la infusión de la flor de jamaica en el agua

caliente. Después de alcanzar la temperatura deseada, se dejó reposar y enfriar gradualmente. Una vez que el líquido estuvo frío, se transfirió a frasco de vidrio transparente con tapa (Figura 12). Para preservar los componentes del extracto y protegerlos de la luz solar, se cubrió el frasco con aluminio. Finalmente se almacenó el frasco en el refrigerador a una temperatura constante de 8 °C.

En la elaboración del extracto de ajo, se trituraron 25 g de dientes de ajo utilizando un mortero y pistilo. A cada muestra pulverizada se le añadieron 50 ml de agua tridestilada, realizando una meticulosa mezcla para obtener una suspensión homogénea.

Una vez obtenido el extracto, este se transfirió a frasco de vidrio transparente con tapa (Figura 12). Para protegerlo de la luz solar y preservar la integridad de sus componentes, se cubrió el frasco con aluminio. Por último, el frasco de extracto de ajo se almacenó en el refrigerador a una temperatura constante de 8 °C.



Figura 12 . **Extractos acuosos.** Extracto acuoso de ajo (A). Extracto acuoso de jamaica (B).

Después de la preparación de los extractos acuosos, se almacenaron en el refrigerador durante 24 h. Este tiempo permitió la extracción de los compuestos presentes en las muestras.

8.4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para la preparación del área estéril se utilizó solución de alcohol al 70% en aerosol. Una vez estéril, se encendió una fuente de calor y se colocaron los materiales necesarios dentro de la zona estéril.

Para la preparación de las cajas Petri y los pozos, se abrieron las cajas Petri que contenían medio Mueller Hinton. 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 acuosos en triplicado (Figura 13).



Figura 13 . **Fabricación de pozos.** Fabricación de pozos en medios de cultivo con pipeta Pasteur.

En la preparación de la inoculación, se abrió el tubo de cultivo en caldo que contenía la cepa *E. faecalis* ATCC 19433. Se utilizó un hisopo estéril para tomar una muestra del cultivo sumergiéndose en el tubo.

En cuanto a la siembra en las cajas Petri, se abrió la primera caja Petri y se realizó la siembra utilizando la técnica de extensión o hisopado en una sola dirección,

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

asegurando la confluencia de *E. faecalis*. Posteriormente, se giró la caja en un ángulo de 60 grados (°) dos veces más, lo que permitió realizar tres estriaciones para obtener una distribución uniforme de la muestra. Después de la siembra, se dejó secar durante aproximadamente 15 minutos antes de agregar los extractos acuosos y soluciones irrigantes que se estaban estudiando (Figura 14).



Figura 14 . **Siembra en cajas Petri** . Siembra de *E. faecalis* con la técnica de hisopado. En la colocación de los extractos y soluciones, se emplearon micropipetas de 10-20 μL , para depositar 10 μL de los extractos acuosos de ajo y jamaica, así como soluciones de NaOCl al 5% y CHX al 2% en cada pozo por triplicado (Figura 15).

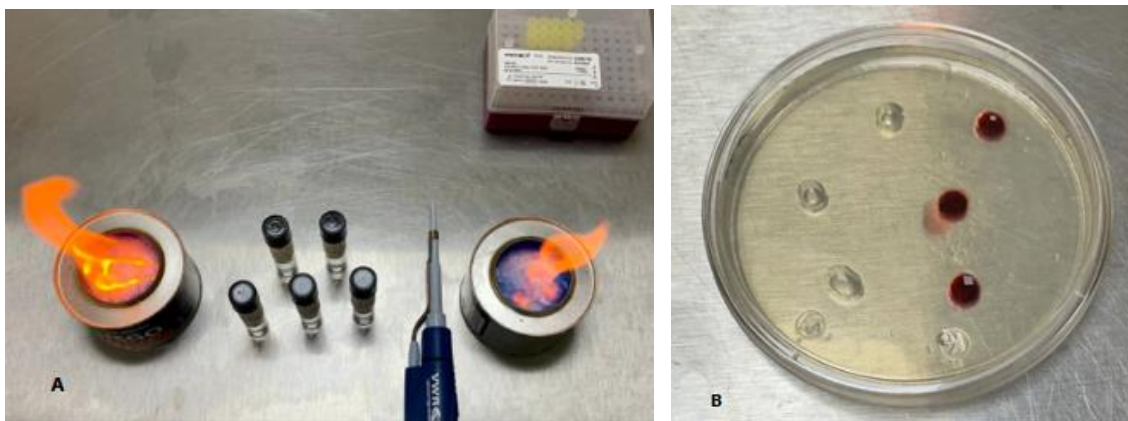


Figura 15 . **Colocación de extractos acuosos**. La figura (A) muestra el área estéril de trabajo. La figura (B) muestra los extractos en el medio de cultivo por triplicado.

Las cajas Petri se incubaron a 37 °C durante 24 y 48 h (Figura 16).



Figura 16 . **Incubación de medios de cultivo.** La figura representa la colocación de cajas Petri en incubadora.

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 sobre una superficie oscura, para facilitar la observación. Utilizando una regla calibradora vernier, se midió el diámetro del halo de inhibición formado al cabo de 24 y 48 h respectivamente (Figura 17).



Figura 17 . **Medición de halos de inhibición.** Transcurridas las 24 y 48 h se midieron con regla calibradora vernier los halos de inhibición.

8.4.3. EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO A TRAVÉS DE LA ACTIVIDAD HEMOLÍTICA

Se seleccionó a una paciente femenina de 27 años de edad que no presentaba antecedentes sistémicos patológicos y se encontraba en buen estado de salud. Se desinfectó el área de punción con alcohol etílico al 70%.

Después se procedió a la extracción de la muestra sanguínea. Para facilitar la punción venosa, se aplicó un torniquete venoso en el brazo de la paciente. Utilizando una jeringa hipodérmica, se realizó la punción y se extrajeron 5 ml de muestra sanguínea.

La muestra sanguínea se colocó en tubos de tapón morado con anticoagulante EDTA (BD VACUTAINER con EDTA K2) para garantizar su conservación y facilitar su uso posterior en la experimentación (Figura 18).



Figura 18 . **Muestra sanguínea.** Muestra sanguínea obtenida depositada en un tubo con EDTA.

La preparación de la solución de eritrocitos se llevó a cabo añadiendo solución salina a los glóbulos rojos para su posterior procesamiento. A continuación, se realizaron centrifugaciones a 3400 revoluciones por minuto (rpm) durante 10 minutos con el fin de separarlos del suero. Posteriormente, fueron almacenados a baja temperatura para conservación y uso posterior.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Se eliminaron los sobrenadantes y se dejaron los botones de los glóbulos rojos separados. Luego, se realizaron cinco lavados con solución salina, seguidos de centrifugaciones en las mismas condiciones entre cada lavado (Figura 19).



Figura 19 . **Centrífuga.** Esta figura muestra la colocación de las muestras sanguíneas en tubos Eppendorf en la centrífuga (Eppendorf, Centrifuge 5418).

Para sacar la solución madre de glóbulos rojos se eliminó el sobrenadante y una vez quedando el botón de glóbulo rojo, se toma con una pipeta plástica para obtener el botón y se suspende los eritrocitos en un tubo de precipitado de vidrio quedando una concentración de 0.4% de eritrocitos en un volumen total de 10 ml de solución salina hasta obtener un color rojo vibrante (Figura 20).



Figura 20 . **Sangre madre.** En la figura (A) muestra la preparación de la sangre madre con la re suspensión de solución salina. En la figura (B) muestra el resultado rojo vibrante obtenido de la sangre madre.

Para evaluar la actividad hemolítica, se diluyó una suspensión de eritrocitos y se agregó a los extractos en suspensión, en solución salina. Para el extracto de jamaica, se realizaron diluciones en concentraciones del 100%, 75%, 60%, 40% y 20%. Por otro lado, para el extracto de ajo se realizaron diluciones en concentraciones del 75%, 60%, 40% y 20% (Figura 21).

Además, se incluyeron controles para comparar resultados. La solución salina se utilizó como control negativo y NaOCl al 5% como control positivo.

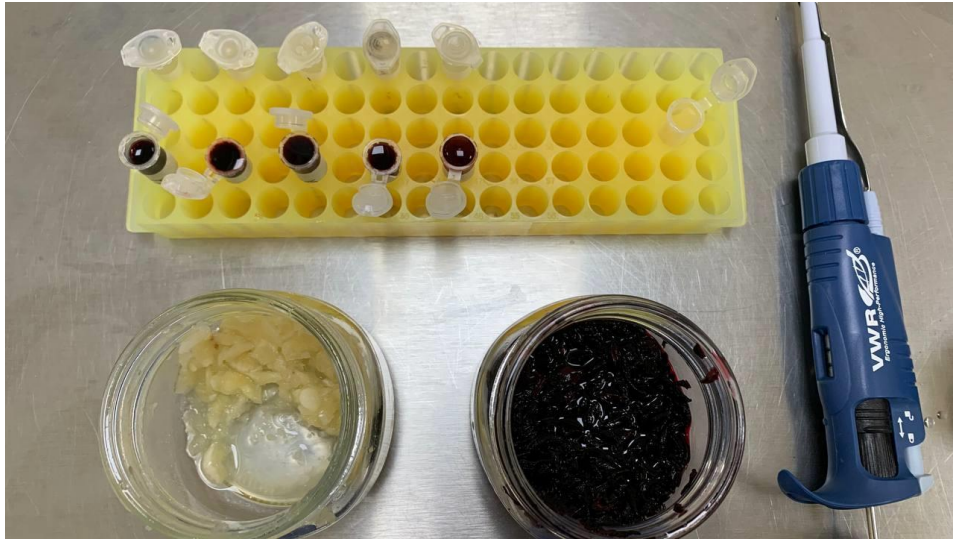


Figura 21 . **Extractos acuosos con suspensión de glóbulos rojos.** Fotografía de las muestras de los extractos de ajo y jamaica en diferentes concentraciones dentro de tubos Eppendorf con suspensión de glóbulos rojos.

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 3 h (Figura 22). Posterior a la incubación las muestras fueron centrifugadas por 5 minutos a una velocidad de 3400 rpm.



Figura 22 . **Incubación de muestras.** Se colocaron las muestras de extractos de ajo y jamaica con suspensión de glóbulos rojos en incubadora.

Para medir el rendimiento de la hemoglobina en el sobrenadante, se utilizó un espectrofotómetro. Se registró la absorbancia a una longitud de onda de 600nm utilizando un lector de absorbancia modelo H183399 HANNA (Figura 23).



Figura 23 -. **Espectrofotómetro lector de absorbancia.** Fotografía del espectrofotómetro utilizado, modelo H183399 HANNA.

Una vez registrado los resultados de absorbancia en el espectrofotómetro se utilizó la fórmula que se muestra en la figura 24, para medir el porcentaje de hemólisis presente en las muestras.

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

Figura 24 . **Fórmula.** Fórmula para estimar el porcentaje de hemólisis

8.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo empleando el programa de GraphPad Prism Software (versión 9 para Windows, San Diego, California USA, 2023) por medio de comparación múltiple Sidak, mediante el análisis de varianza ANOVA bidireccional (ANOVA, por sus siglas en inglés) para la experimentación antibacteriana y se utilizó comparación múltiple Tukey, ANOVA de una vía para la experimentación citotóxica. La diferencia fue considerada como significativa a $p < 0.05$.

IX. RESULTADOS

9.1. INHIBICIÓN DE MICROORGANISMOS POSTERIOR A INCUBACIÓN

En este estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de dos extractos, uno de ajo y otro de jamaica, utilizando la prueba de difusión agar. Se utilizó *E. faecalis* como cepa modelo para las pruebas microbiológicas. Se obtuvieron 50 ml de cada extracto, y se observaron características físicas distintas para cada uno. El extracto de ajo presentó un color amarillo y un olor fuerte característico, mientras que el extracto de jamaica presentaba un color rojo oscuro y un olor agradable.

Se realizaron pruebas de difusión de agar utilizando diferentes concentraciones de los extractos acuosos de ajo y jamaica. Los resultados obtenidos se expresaron en forma de halos de inhibición, los cuales fueron medidos en milímetros (mm) tras un período de incubación de 24 h (Figura 25 y 26). Para el extracto de ajo, se obtuvo una media de 23.33 mm para el 100% de concentración, 9.3 mm para el 75% y 6 mm para el 60%. En el caso del extracto de jamaica, la media fue de 11.33 mm para el 100% y 6.33 mm para el 75%. Además, se evaluaron la CHX al 2%, con una media de 28.67 mm, y el NaOCl al 5% con una media de 20.67 mm.

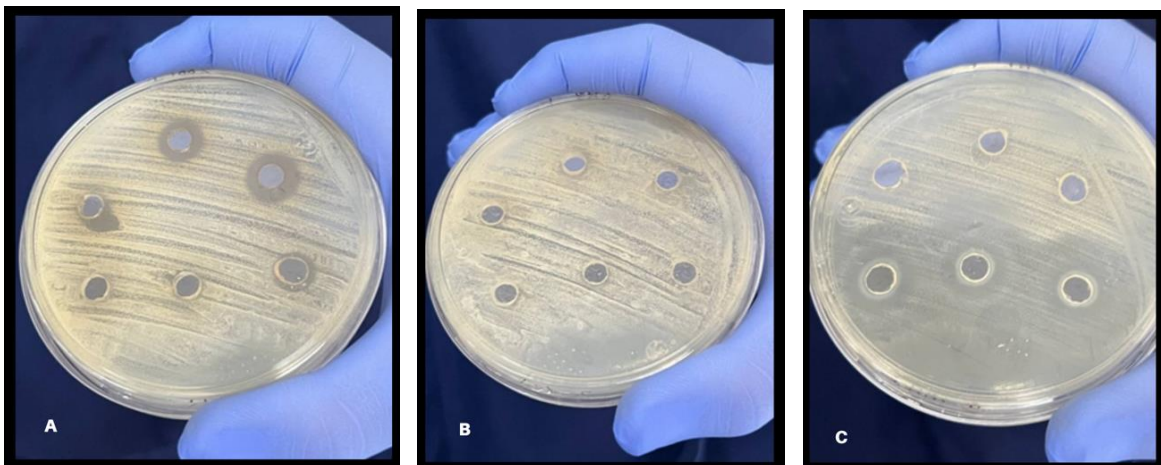


Figura 25 . **Extractos acuosos en pozos (24H).** En la imagen (A) se muestra en la porción por triplicado superior jamaica (j) al 100%, en la porción inferior j al 75%. en la imagen (B) se muestra en la porción superior j al 60% y en la inferior j 40%. En la imagen (C) se muestra la porción superior j 20% y en la inferior A 100%.

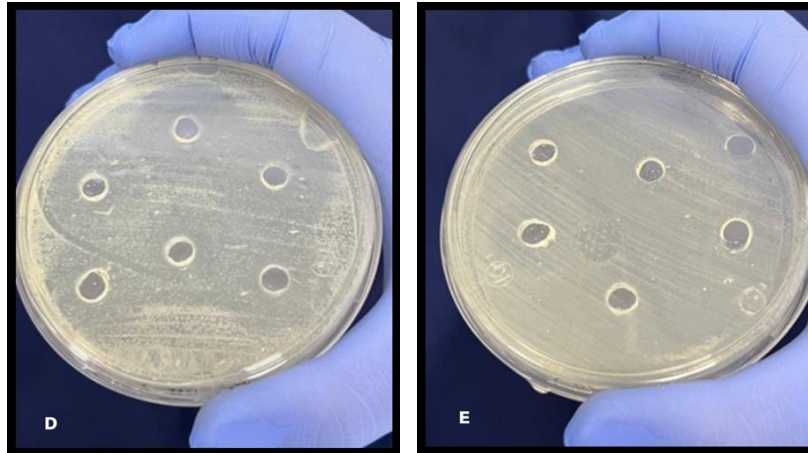


Figura 26 . **Extractos acuosos en pozos (24 h)**. En la imagen (D) en la porción superior se observa Ajo (A) 75% y en la inferior A 60%. en la imagen (E) en la porción superior A 40% y en la inferior A 20%.

Se realizaron pruebas de difusión de agar utilizando diferentes concentraciones de los extractos acuosos de ajo y jamaica. Los resultados obtenidos se expresaron en forma de halos de inhibición, los cuales fueron medidos en milímetros (mm) tras un período de incubación de 48 h (Figura 27 y 28). Para el extracto de ajo, se obtuvo una media de 23.00 mm para el 100% de concentración, 9.33 mm para el 75% y 6 mm para el 60%. En el caso del extracto de jamaica, la media fue de 10.33 mm para el 100% y 6 mm para el 75%. Además, se evaluaron la CHX al 2%, con una media de 28.33 mm, y el NaOCl al 5% con una media de 21.67 mm.

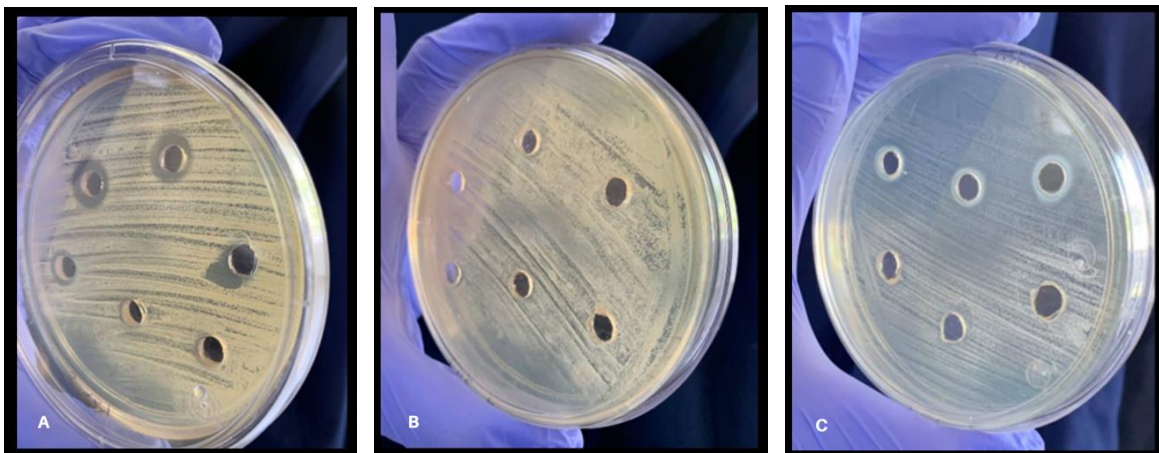


Figura 27 . **Extractos acuosos en pozos (48 h)**. En la imagen (A) se muestra EN LA porción por triplicado superior j al 100%, en la porción inferior j al 75%. en la imagen (B) se muestra en la porción superior j al 60% y en la inferior j 40%. En la imagen (C) se muestra la porción superior j 20% y en la inferior A 100%.

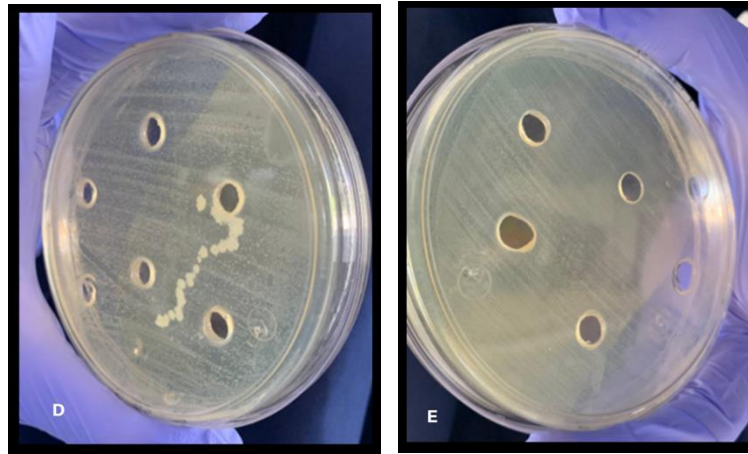


Figura 28 . **Extractos acuosos en pozos (48 h)**. En la imagen (D) en la porción superior se observa A 75% y en la inferior A 60%. en la imagen (E) en la porción superior A 40% y en la inferior A 20%.

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el método de comparación múltiple Sidak para evaluar las diferencias entre los grupos. Los resultados, obtenidos después de 24 h de incubación (Gráfica 1), revelaron lo siguiente:

Se encontró diferencia significativa entre el extracto de jamaica al 100 % y la CHX al 100 % ($p < 0.0001$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 75% y de jamaica al 100% ($p > 0.9999$) con un nivel de significancia del 0.05%.

Por otro lado, se encontró una diferencia significativa entre el extracto de ajo al 75% y la CHX al 2% ($p < 0.0001$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 100% y la CHX al 2% ($p = 0.9983$) con un nivel de significancia del 0.05%.

En cuanto a la comparación entre el extracto de jamaica al 100% y el NaOCl al 5%, se encontró una diferencia significativa ($p = 0.0279$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 60% y de jamaica al 100% ($p = 0.6705$) con un nivel de significancia del 0.05%.

Asimismo, se encontró una diferencia significativa entre el extracto de ajo al 100% y de jamaica al 100% ($p= 0.0018$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 75% y de jamaica al 75% ($p= 0.9983$) con un nivel de significancia del 0.05%.

En la comparación entre el extracto de ajo al 60% y NaOCl al 5%, se encontró una diferencia significativa ($p= 0.0001$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 100% y el NaOCl al 5% ($p= 0.9997$) con un nivel de significancia del 0.05%.

Se encontró una diferencia significativa entre el extracto de ajo al 100% y de jamaica al 75% ($p <0.0001$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 60% y de jamaica al 75% ($p >0.9999$) con un nivel de significancia del 0.05%.

En cuanto a la comparación entre el extracto de ajo al 75% y el extracto de ajo al 100%, se encontró una diferencia significativa ($p= 0.0002$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de jamaica al 75 % y de jamaica al 100% ($p= 0.7659$) con un nivel de significancia del 0.05%.

Además, se encontró una diferencia significativa entre el extracto de ajo al 75% y el NaOCl al 5% ($p= 0.0037$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el NaOCl al 5% y la CHX al 2% ($p= 0.5697$) con un nivel de significancia del 0.05%.

La comparación entre la jamaica al 75% y CHX al 2% mostraron una diferencia significativa ($p <0.0001$), al igual que el ajo al 60% y la CHX al 2%. Asimismo, se observó una diferencia significativa ($p= 0.0002$) entre el extracto de Jamaica al 75% y el NaOCl al 5% con un nivel de significancia del 0.05%.

Finalmente, se encontró una diferencia significativa entre el extracto de ajo al 60% y del extracto de ajo al 100% ($p <0.0001$). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre el extracto de ajo al 60% y el extracto de ajo al 75% ($p= 0.9936$) con un nivel de significancia del 0.05% (Tabla 1).

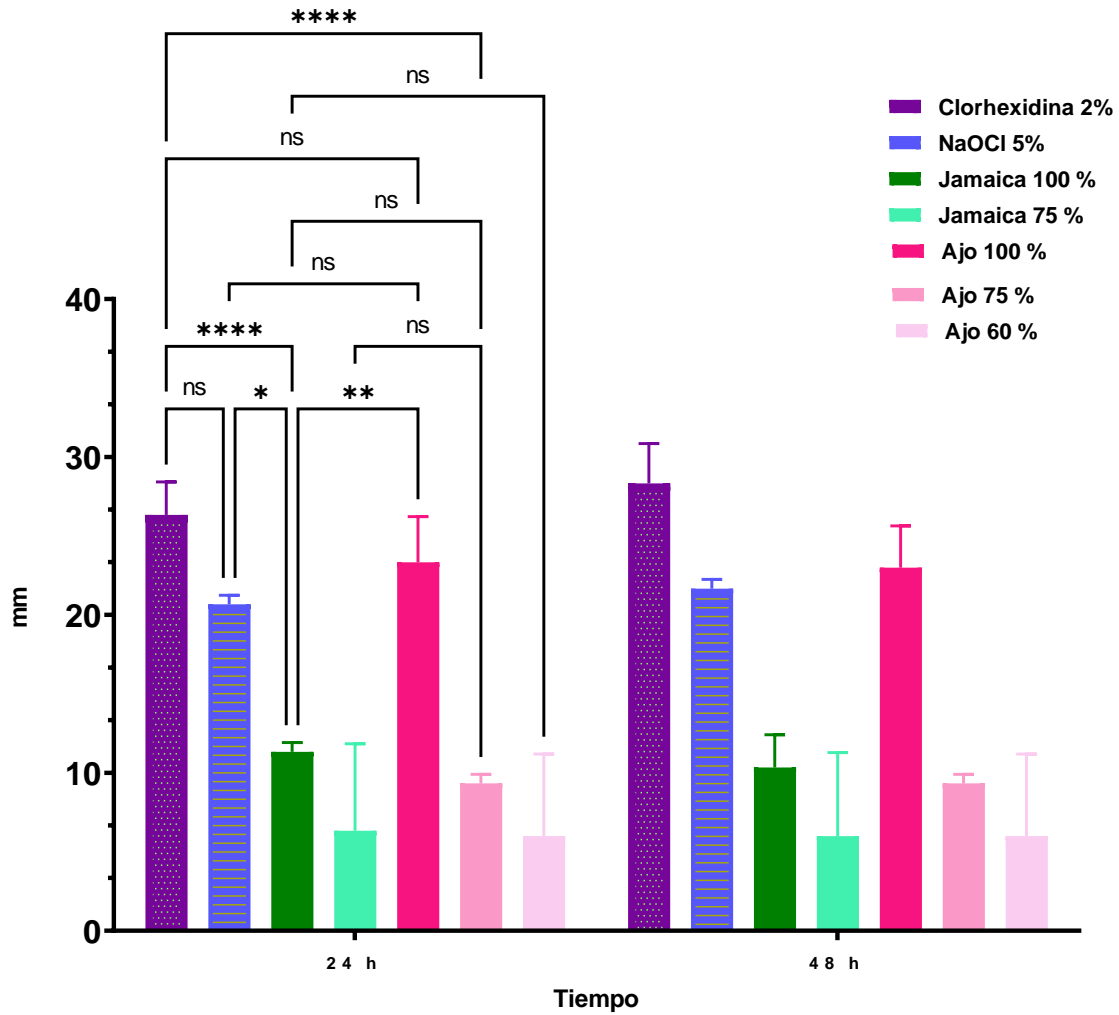
Los resultados de las pruebas antimicrobianas a las 24 y 48 h en las que se evaluaron las diferentes concentraciones de los extractos acuosos sobre la bacteria *E. faecalis*

fueron consistentes y similares entre sí. Debido a esta consistencia, se decidió no detallar específicamente los resultados de las pruebas a las 48 h en la redacción de los hallazgos obtenidos en el estudio. Sin embargo, se observan resultados de 48 h en gráfica 1.

24 h	Diferencia E. Significativa	Resumen	Valor de P
NaOCI 5% vs. CHX al 2%	No	ns	0.5697
J 100% vs. CHX 2%	Si	****	<0.0001
J 75% vs. CHX 2%	Si	****	<0.0001
A 100% vs. CHX 2%	No	ns	0.9983
A 75% vs. CHX 2%	Si	****	<0.0001
A 60% vs. CHX 2%	Si	****	<0.0001
J 100% vs. NaOCI 5%	Si	*	0.0279
J 75% vs. NaOCI 5%	Si	***	0.0002
A 100% vs. NaOCI 5%	No	ns	0.9997
A 75% vs. NaOCI 5%	Si	**	0.0037
A 60% vs. NaOCI 5%	Si	***	0.0001
J 75% vs. J 100%	No	ns	0.7659
A 100% vs. J 100%	Si	**	0.0018
A 75% vs. J 100%	No	ns	>0.9999
A 60% vs. J 100%	No	ns	0.6705
A 100% vs. J 75%	Si	****	<0.0001
A 75% vs. J 75%	No	ns	0.9983
A 60% vs. J 75%	No	ns	>0.9999
A 75% vs. A 100%	Si	***	0.0002
A 60% vs. A 100%	Si	****	<0.0001
A 60% vs. A 75%	No	ns	0.9936

Tabla 1 . Comparación de la diferencia significativa y valores de p obtenidos entre las soluciones irrigantes y extractos en 24 h. Esta tabla ilustrativa se realizó utilizando el programa ANOVA de 2 vías con el método de comparación múltiple SIDAK con nivel de significancia de 0.05%

Halos de Inhibición



Gráfica 1 **.Halos de inhibición de extractos acuosos.** Se observa resultados obtenidos en las 24 y 48 h respectivamente, expresados en milímetros, donde no existe diferencia estadísticamente significativa en la comparación entre a 100% y los controles positivos.

9.1.1. ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO Y ESTADÍSTICO

Se llevaron a cabo pruebas de citotoxicidad con el propósito de evaluar el efecto de los extractos acuosos en la viabilidad de los eritrocitos. Después de medir la absorbancia, se recopilaron los datos para realizar un análisis de varianza ANOVA utilizando el método comparativo Tukey, a fin de comparar las diferencias entre los diversos grupos. Mediante una fórmula específica, se determinó el porcentaje de hemólisis presente, lo cual permitió evaluar la citotoxicidad inherente a los extractos acuosos bajo investigación. Los resultados obtenidos fueron expresados en términos de porcentaje de hemólisis y se presentan en las tablas y gráficas más adelante.

Para el extracto de ajo, se obtuvieron los siguientes resultados de las medias: el extracto al 75% de concentración mostró una hemólisis del 53.88 %. Similarmente, el extracto al 60% presentó una hemólisis del 53.88%. Por otro lado, los extractos al 40% y 20% de concentración exhibieron una hemólisis del 25.12% y 8.48%, respectivamente. Además, se evaluaron la Solución salina (SS) con una media de 0.000 %, y el hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5% con una media de 99.80 % (Tabla 2).

Ajo 20%	Ajo 40%	Ajo 60%	Ajo 75%	NaOCl 5%	Solución salina
8.48%	25.12%	52.98%	53.88%	99.80%	0.000%

Tabla 2 . Porcentaje de hemólisis. La tabla muestra las medias obtenidas de ajo comparadas con sus controles positivo y negativo.

En la tabla 3 de citotoxicidad revela una diferencia significativa en todas las comparaciones entre los diferentes porcentajes de extractos de ajo (A) y el control positivo NaOCl al 5%. Esta diferencia significativa se refleja en el valor p obtenido, que es menor a 0.0001 en todos los casos.

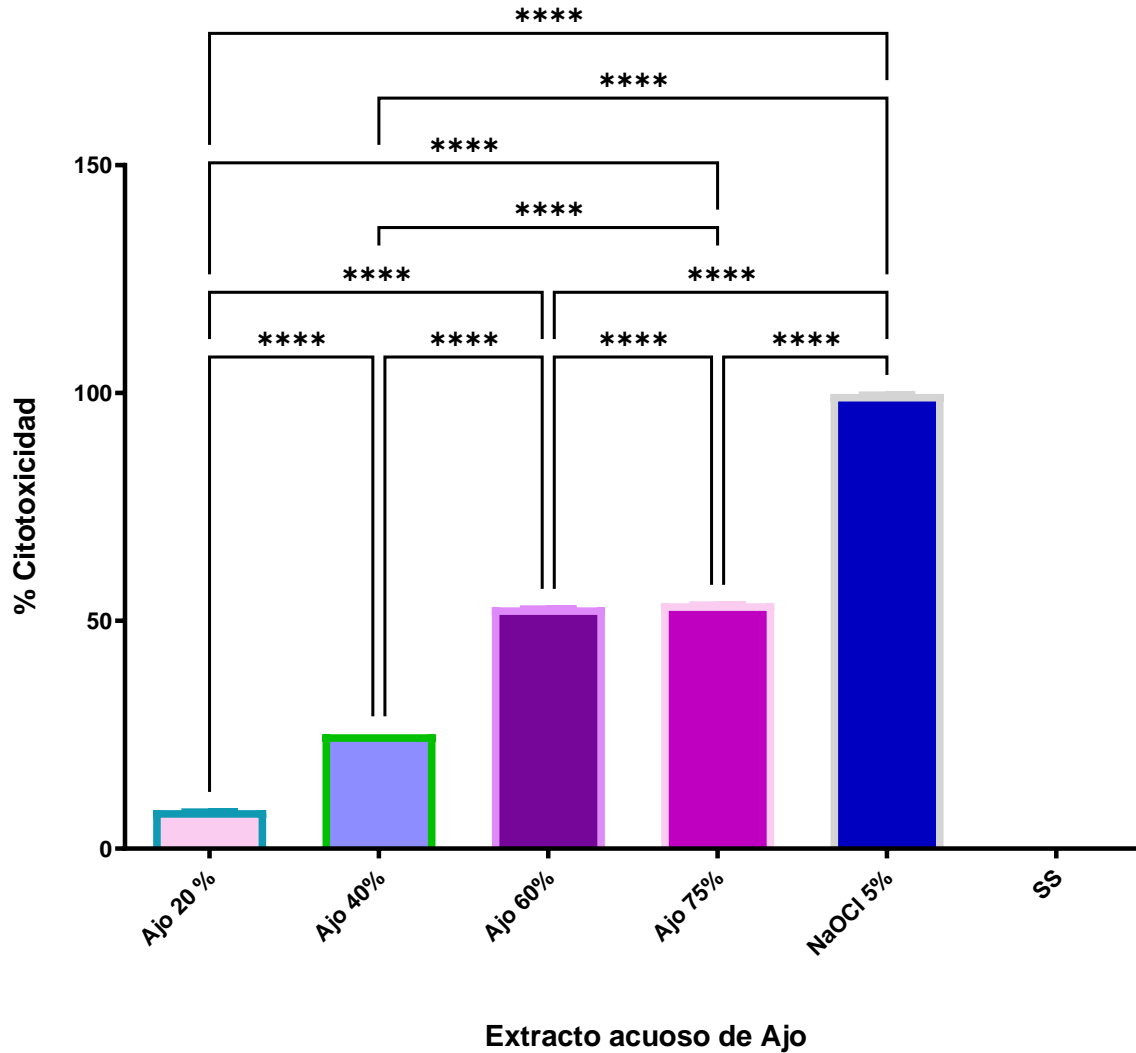
% Citotoxicidad (A)	Diferencia E. Significativa	Resumen	Valor de P
A 20% vs. NaOCl 5%	Si	****	<0.0001
A 40% vs. NaOCl 5%	Si	****	<0.0001
A 60% vs. NaOCl 5%	Si	****	<0.0001
A 75% vs. NaOCl 5%	Si	****	<0.0001

Tabla 3 **.Citotoxicidad de ajo.** La tabla muestra la citotoxicidad presente en el ajo a comparación de NaOCl al 5%, de acuerdo a los resultados de ANOVA de 1 vía con método de comparación múltiple Tukey, nivel de significancia 0.05%.

La tabla 4 muestra la evaluación de los porcentajes de toxicidad del extracto de A en diferentes concentraciones (20 %,40% ,60% y 75%) en comparación con el control negativo de solución salina (S.S.) (Gráfica 2). En todos los casos se observó una diferencia estadísticamente significativa (<0.0001).

% Citotoxicidad (A)	Diferencia E. Significativa	Resumen	Valor de P
A 20% vs. S.S.	Si	****	<0.0001
A 40% vs. S.S	Si	****	<0.0001
A 60% vs. S.S	Si	****	<0.0001
A 75% vs. S.S	Si	****	<0.0001

Tabla 4 **Citotoxicidad de ajo.** La tabla muestra la citotoxicidad presente en el ajo a comparación de S.S, de acuerdo a los resultados de ANOVA de 1 vía con método de comparación múltiple TUKEY, nivel de significancia 0.05%.



Gráfica 2 . **Porcentaje de hemólisis en extracto de ajo.** Se observa las diferentes concentraciones (75%,60%, 40%, 20%) con citotoxicidad menor comparado con el control positivo.

En relación al extracto de jamaica, se obtuvieron los siguientes resultados en las medias: el extracto con una concentración del 100% mostró una hemólisis del 26.00%, mientras que el extracto con una concentración del 75% presentó una hemólisis del 43.37%. Por otro lado, los extractos al 40% y 20% no exhibieron porcentaje de hemólisis. Además, se llevaron a cabo evaluaciones de la Solución salina (SS), que reflejó una media de 0.000 %, indicando la ausencia de hemólisis. Por otro lado, el hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5% presentó una media de 99.80 %. Los resultados de las medias se encuentran expresados en la tabla 5.

Jamaica 20%	Jamaica 40%	Jamaica 60%	Jamaica 75%	Jamaica 100%	NaOCI 5%	Solución salina
0.000%	0.000%	22.02%	43.37%	26.00	99.80%	0.000%

Tabla 5 . Porcentaje de hemólisis. La tabla muestra las medias obtenidas de Jamaica comparadas con sus controles positivo y negativo.

La tabla 6 muestra que en todos los casos se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$) en la evaluación de citotoxicidad.

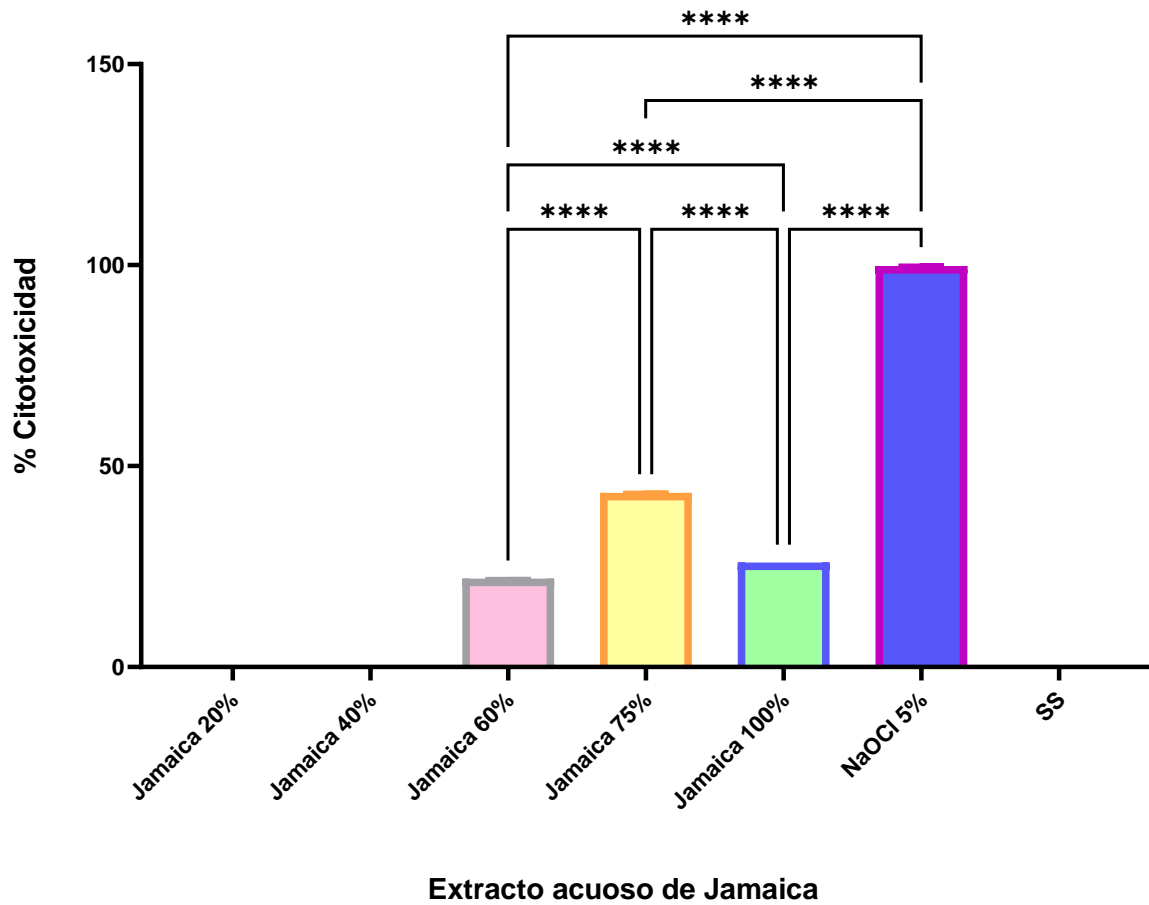
% Citotoxicidad (J)	Diferencia E. Significativa	Resumen	Valor de P
J 20% vs. NaOCI 5%	Si	****	<0.0001
J 40% vs. NaOCI 5%	Si	****	<0.0001
J 60% vs. NaOCI 5%	Si	****	<0.0001
J 75% vs. NaOCI 5%	Si	****	<0.0001
J 100% vs. NaOCI 5%	Si	****	<0.0001

Tabla 6 . Citotoxicidad de Jamaica. La tabla muestra la citotoxicidad presente en la Jamaica a comparación de NaOCI al 5% de acuerdo a los resultados de ANOVA de 1 vía con método de comparación múltiple de TUKEY, nivel de significancia 0.05%.

En la tabla 7 comparativa, se evaluó la citotoxicidad del extracto de jamaica en diferentes concentraciones en relación al control negativo, la solución salina (S.S). Los resultados mostraron que no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en términos de citotoxicidad entre las concentraciones del extracto de jamaica al 20% (J 20%) y al 40% (J 40%), con valores de p superiores a 0.9999 para ambos (Gráfica 3). Sin embargo, a partir de la concentración del 60% (j 60%) en adelante, se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

% Citotoxicidad (J)	Diferencia E. Significativa	Resumen	Valor de P
J 20% vs. S.S	No	ns	>0.9999
J 40% vs. S.S	No	ns	>0.9999
J 60% vs. S.S	Si	****	<0.0001
J 75% vs. S.S	Si	****	<0.0001
J 100% vs. S.S	Si	****	<0.0001

Tabla 7 . Citotoxicidad de Jamaica. Se puede observar que no existe diferencia significativa entre el control negativo y la j al 40%, 20%.



Gráfica 3 **.Porcentaje de hemólisis en extracto de Jamaica.** Se observa las concentraciones de 40% y 20% las cuales no presentan diferencia significativa comparado con el grupo control negativo.

X. DISCUSIÓN

En este estudio comparativo, se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de ajo y jamaica en diferentes concentraciones con el objetivo de determinar su potencial como irrigantes de conductos en la endodoncia, específicamente contra la bacteria *E. faecalis*, una de las más relevantes en esta área.

Al comparar el extracto de ajo al 100% con el NaOCl al 5 %, no presentaron una diferencia significativa en la viabilidad de la cepa de *E. faecalis*, lo que sugiere una actividad antimicrobiana similar entre ambos. Sin embargo, al comparar el extracto de ajo al 100% con el extracto de jamaica al 100%, se observó un incremento significativo en la viabilidad de la cepa de *E. faecalis*. Esto indica que el extracto de ajo al 100% posee una actividad antimicrobiana más efectiva que el extracto de jamaica al 100%.

Además, no se encontraron diferencias significativas en la viabilidad de la cepa de *E. faecalis* al comparar el extracto de ajo al 75% con el extracto de jamaica al 100%, ni al comparar el extracto de ajo al 60% con el extracto de jamaica al 100%. Estos resultados sugieren que ambos extractos exhiben una actividad antimicrobiana similar y no presentan diferencias estadísticamente significativas.

Al comparar el extracto de ajo al 100% con la CHX al 2%, no se encontró una diferencia significativa en la viabilidad de la cepa de *E. faecalis*, lo que sugiere una actividad antimicrobiana similar entre ambos agentes. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar la concentración de los agentes antimicrobianos al evaluar su eficacia contra *E. faecalis*.

Estudios previos respaldan los resultados obtenidos en este estudio. Por ejemplo, Baena- Santillán *et al.* encontraron en su investigación con la utilización las bacterias *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Capnocytophaga gingivalis* y *Staphylococcus aureus*, que el ácido hibiscus (extracto con acetona a base de cálices de flor de jamaica), mediante el método de concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima, presentó una actividad antimicrobiana de 3 y 5

mg/ml respectivamente y demostró en su estudio en el cual aplicó extracto de jamaica vía oral a ratones, que las concentraciones de 10mg/kg hasta 5000 mg/kg presentaron mínima toxicidad, lo cual sugiere su uso en terapias naturales. En este estudio encontramos actividad antimicrobiana sobre la cepa *E. faecalis* en extracto acuoso de ajo al 100% y 75%, así como citotoxicidad mínima e incluso nula en extracto acuoso de jamaica al 40% y 20%, la cual fue medida su porcentaje de hemólisis en eritrocitos humanos. Asimismo, Abass *et al.* encontraron que el extracto de jamaica presentó actividad antimicrobiana comparable a la CHX al 0.2% en concentraciones de 100 mg/ml contra *E. faecalis* con valor de p: 0.340, sin embargo, en este estudio obtuvimos una diferencia significativa menor entre CHX al 2% y jamaica al 100% con valor de p <0.0001, esto debido probablemente a la concentración de CHX utilizada (45,46).

Elheeny *et al.* encontraron que el extracto acuoso de ajo, utilizado al 25 % como irrigante en molares temporales en un estudio *in vivo*, no mostró diferencias significativas en comparación con el NaOCl al 2.5% en un seguimiento de 12 meses, lo que sugiere su potencial como irrigante de conductos radiculares en dientes temporales. Lo cual concuerda con este estudio, ya que encontramos que el extracto de ajo al 100% no mostró diferencia significativa en comparación con el NaOCl al 5%. En cuanto al mecanismo de acción, se ha observado que el extracto de ajo permea la membrana bacteriana de manera similar a la CHX, lo cual indica un posible mecanismo de acción similar en la inhibición de *E. faecalis* (34).

Estos resultados son respaldados por estudios adicionales, como el realizado por Dn B *et al.*, quienes encontraron que el extracto acuoso de ajo mostró halos de inhibición significativos contra bacterias periodontales tales como 6 de las especies de *Porphyromonas gingivalis* (32).

En relación a la viscosidad del extracto de ajo, Pranitha Prabhakaran *et al.* encontraron que esta característica podría limitar su difusión a través de los túbulos dentinarios en comparación con NaOCl. Sin embargo, el uso del extracto de ajo como irrigante no afectó la estructura de los túbulos dentinarios ni la fuerza de unión de la dentina con el cemento sellador del conducto, según se observó en microscopía electrónica de

barrido. Estos hallazgos sugieren que el extracto de ajo puede ser utilizado como irrigante sin causar efectos adversos en la estructura dental (35).

En resumen, los resultados obtenidos en este estudio comparativo indican que el extracto de ajo y jamaica al 100% son opciones prometedoras como irrigantes de conductos radiculares debido a su actividad antimicrobiana contra *E. faecalis*. No obstante, se requiere de más investigación para confirmar estos resultados y explorar otros aspectos relacionados, como la seguridad y estabilidad de estos agentes en diferentes formulaciones.

Además, es importante mencionar que el uso de extractos naturales como alternativa a los irrigantes de uso común tiene ventajas adicionales. Estos extractos son más accesibles en términos de precio y su obtención es relativamente sencilla. Al utilizar medios acuosos para extraer las propiedades antibacterianas de plantas como el ajo y la jamaica, se busca evitar efectos adversos y tóxicos asociados con el uso de agentes químicos como el NaOCl y CHX.

Estos hallazgos resaltan la importancia de explorar y evaluar extractos naturales en su forma acuosa como posibles alternativas a los irrigantes de uso común en la endodoncia. Si se logra encontrar extractos con actividad antimicrobiana efectiva y sin efectos adversos, se podrían obtener beneficios tanto para los pacientes como para los profesionales de la salud dental. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones 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.

En cuanto a las recomendaciones para futuros estudios incluyen evaluar la efectividad de los extractos en diferentes modelos *in vitro* y en tratamientos endodónticos clínicos. Además, es necesario investigar su efecto en la dentina para comprender su capacidad de penetración y eliminación de microorganismos, analizar la interacción de los extractos con medicamentos o cementos endodónticos y realizar investigaciones exhaustivas sobre posibles efectos secundarios e irritación. Es importante valorar y verificar que no exista pigmentación dental después de la aplicación de los extractos.

Además, se sugiere que el extracto de ajo pueda ser utilizado como un sustituto de enjuague bucal antimicrobiano comercial y como irrigante endodóntico, con el fin de evitar efectos adversos asociados con el uso de la CHX y el NaOCl, asimismo debería de considerarse una alternativa para eliminar el olor tan fuerte y característico del ajo.

Es importante tener en cuenta que, al obtener una solución acuosa a partir del ajo, el método de extracción debe considerar evitar el uso de altas temperaturas. Esto se debe a que las altas temperaturas pueden ocasionar daño al compuesto alicina presente en el ajo, así como desactivar otros compuestos importantes. Estudios previos, como el realizado por Chavan, han demostrado que la alicina es un compuesto inestable que se descompone a temperaturas superiores a los 65 °C. Para preservar los compuestos valiosos del ajo, se recomienda conservarlo en el refrigerador a una temperatura alrededor de 8 °C. De esta manera, se asegura una mejor estabilidad y duración del extracto. Se estima que el tiempo de vida del extracto de ajo refrigerado es de aproximadamente una semana.

Por lo tanto, futuros estudios deben enfocarse en desarrollar método de extracción que preserven la estabilidad de la alicina presente en el extracto de ajo, con el objetivo de obtener un efecto antibacteriano óptimo y duradero. Esto puede implicar el uso de técnicas de extracción a temperaturas más bajas o el desarrollo de formulaciones que protejan a la alicina de la degradación durante el almacenamiento y uso clínico.

Considerando estas recomendaciones, se podrán obtener avances significativos en el uso de extractos acuosos de ajo y jamaica como alternativas seguras y efectivas en la endodoncia, contribuyendo así al desarrollo de terapias más naturales y menos agresivas para el tratamiento de infecciones dentales.

XI. CONCLUSIONES

Se lograron evaluar diferentes concentraciones de extractos acuosos, obtenidos del ajo y la jamaica, utilizando la técnica de difusión agar con la cepa *E. faecalis*. También se llevaron a cabo pruebas de citotoxicidad. Los resultados mostraron que tanto el ajo como la jamaica presentaron actividad antibacteriana en comparación con el NaOCl al 5% y CHX al 2%.

En el caso del extracto de ajo al 100%, no se observó una diferencia significativa en comparación con el NaOCl al 5% y la CHX. Lo que indica una excelente acción antibacteriana. Sin embargo, el extracto de jamaica en concentraciones del 75% y 100% mostró una diferencia significativa menor en comparación con el extracto de ajo al 100%, el NaOCl al 5% y CHX al 2%.

Es importante destacar que todos los extractos de ajo y jamaica mostraron cierto grado de citotoxicidad en comparación con la solución salina. Sin embargo, su citotoxicidad fue menor que la del NaOCl, que presentó un valor de $p < 0.0001$ y una media de 99.80%.

En base a estos resultados, se acepta la hipótesis de trabajo de que los extractos acuosos de ajo y jamaica exhiben un efecto antibacteriano sobre *E. faecalis*. Además, se demostró que los extractos acuosos de jamaica y ajo tienen un efecto citotóxico inferior al NaOCl al 5% en eritrocitos.

Estos hallazgos sugieren que los extractos acuosos de ajo y jamaica podrían ser considerados como alternativas potenciales al NaOCl en el tratamiento endodóntico, ya que presentan actividad antibacteriana sin generar una citotoxicidad tan significativa. Sin embargo, se recomienda llevar a cabo más investigaciones para evaluar su eficacia y seguridad en modelos *in vitro* y condiciones clínicas intraorales.

XII. RECOMENDACIONES

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

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Minty M, Lê S, Canceill T, Thomas C, Azalbert V, Loubieres P, et al. Low-Diversity Microbiota in Apical Periodontitis and High Blood Pressure Are Signatures of the Severity of Apical Lesions in Humans. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 1;24(2).
2. Santhosh T, Priscilla Antony SD, Muralidharan NP. Comparison of the Antimicrobial Efficiency of Neem Leaf Extract and 17% Edta with 3% Sodium Hypochlorite against *E. faecalis*, *C. albicans* – An in vitro Study. *J Pharm Res Int.* 2020 Aug 26;127–36.
3. Singh H. Microbiology of Endodontic Infections. *Journal of Dental and Oral Health [Internet].* 2016 Sep 12;2(5). Available from: www.scientonline.org
4. Berman LH, Hargreaves KM. Cohen's Pathways of the Pulp - Louis H. Berman, Kenneth M. Hargreaves - 12th Edition (2020) 992 pp., ISBN: 9780323673044 [Internet]. Available from: <http://ebooks.elsevier.com>
5. Zambrano de la Peña S, Salcedo-Moncada D, Petkova- Gueorguieva M, Ventocilla Huasupoma M. Biofilm en Endodoncia: una revisión. *Odontología Sanmarquina.* 2017 Jan 29;19(2):45.
6. booksmedicosorg. Endodoncia TÉCNICAS CLÍNICAS Y BASES CIENTÍFICAS.
7. Zhang C, Hou BX, Zhao HY, Sun Z. Microbial diversity in failed endodontic root-filled teeth. *Chin Med J (Engl).* 2012;125(6):1163–8.
8. Flanagan D. IMPLANT PLACEMENT IN FAILED ENDODONTIC SITES: A REVIEW.
9. Reyes Salazar NN, Sánchez Ormeño JG, Salas Izquierdo ME, Salvatierra Paucar AA, Diaz Iturrizaga ND, Ramos Perfecto D. *Enterococcus faecalis*: patógeno de relevancia clínica en tratamiento endodónticos fallidos. *Kiru*

[Internet]. 2020 Sep 30;17(3):169–74. Available from: <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/1988>

10. Anderson AC, Jonas D, Huber I, Karygianni L, Wölber J, Hellwig E, et al. Enterococcus faecalis from food, clinical specimens, and oral sites: Prevalence of virulence factors in association with biofilm formation. *Front Microbiol.* 2016 Jan 11;6(JAN).
11. Alghamdi F, Shakir M. The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus.* 2020 Mar 13;
12. Versiani MA, Basrani B, Sousa-Neto MD. The Root Canal Anatomy in Permanent Dentition.
13. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in Endodontics. Vol. 54, *Dental Clinics of North America.* 2010. p. 291–312.
14. Gernhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. Vol. 37, *International Endodontic Journal.* 2004.
15. Cai C, Chen X, Li Y, Jiang Q. Advances in the Role of Sodium Hypochlorite Irrigant in Chemical Preparation of Root Canal Treatment. Vol. 2023, *BioMed Research International.* Hindawi Limited; 2023.
16. Mohammadi Zahed. Sodium hypochlorite in endodontics: an update review. *Int Dent J.* 2008;329–41.
17. Farook SA, Shah V, Lenouvel D, Sheikh O, Sadiq Z, Cascarini L. Guidelines for management of sodium hypochlorite extrusion injuries. *Br Dent J.* 2014 Dec 19;217(12):679–84.
18. De-Deus G, Paciornik S, Mauricio MHP. Evaluation of the effect of EDTA, EDTAC and citric acid on the microhardness of root dentine. *Int Endod J.* 2006 May;39(5):401–7.

19. Jaju S, Jaju PP. Newer root canal irrigants in horizon: A review. *International Journal of Dentistry*. 2011.
20. Pałka Ł, Nowakowska-Toporowska A, Dalewski B. Is Chlorhexidine in Dentistry an Ally or a Foe? A Narrative Review. Vol. 10, *Healthcare (Switzerland)*. MDPI; 2022.
21. Gomes BPFA, Vianna ME, Zaia AA, Almeida JFA, Souza-Filho FJ, Ferraz CCR. Chlorhexidine in endodontics. *Braz Dent J*. 2013 Mar;24(2):89–102.
22. Moghadam ET, Yazdanian M, Tahmasebi E, Tebyanian H, Ranjbar R, Yazdanian A, et al. Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: In vitro, in vivo and clinical studies. Vol. 889, *European Journal of Pharmacology*. Elsevier B.V.; 2020.
23. Jain P, Ranjan M. Role of herbs in root canal irrigation-A review [Internet]. Vol. 9, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. Available from: www.iosrjournals.org
24. Shiny Mounica, Ramesh Babu Mandava, Disha Saraswathi D, Vajja Santhi, Swetha B, Bhavana Gandhi. Antimicrobial Efficacy of Herbs in Endodontics. *J Adv Oral Res*. 2015;6(1).
25. Almadi EM, Almohaimede AA. Natural products in endodontics. Vol. 39, *Saudi Medical Journal*. Saudi Arabian Armed Forces Hospital; 2018. p. 124–30.
26. Palombo EA. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. Vol. 2011, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2011.
27. Ray RR, Pattnaik S. Contribution of phytoextracts in challenging the biofilms of pathogenic bacteria. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2023 Mar 1;48.
28. Batiha GES, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK. *Syzygium aromaticum* L. (myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical

- constituents, pharmacological and toxicological activities. Vol. 10, Biomolecules. MDPI AG; 2020.
29. Nassan MA, Mohamed EH, Abdelhafez S, Ismail TA. Effect of clove and cinnamon extracts on experimental model of acute hematogenous pyelonephritis in albino rats: Immunopathological and antimicrobial study. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2015 Mar 1;28(1):60–8.
 30. Vinay Dwivedi, Richa Shrivastava, Showket Hussain, Chaiti Ganguly, Mausumi Bharadwaj. Comparative Anticancer Potential of Clove (*Syzygium aromaticum*) - an Indian Spice- Against Cancer Cell Lines of Various Anatomical Origin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention RESEARCH COMMUNICATION*. 2011;12.
 31. Ho Dinh Hai. Imagen bulbo de ajo. 2015 Oct 27 [cited 2023 May 16]; Available from: <http://theworldwidevegetables.weebly.com/allium-sativum-garlic.html>
 32. Dn B, Da B, Nz B, Staphane J, Hortense G, Mb C. In Vitro Evaluation of the Efficacy of an Aqueous Extract of *Allium Sativum* as an Antibacterial Agent on Three Major Periodontal Pathogen. 2021; Available from: www.pubtexto.com
 33. Octavia A, Budiardjo SB, Indiarti IS, Fauziah E, Suharsini M, Sutadi H, et al. Garlic extract efficacy against the viability of enterococcus faecalis (In vitro). *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019 Apr 1;11:194–7.
 34. Elheeny AAH. *Allium sativum* extract as an irrigant in pulpectomy of primary molars: A 12-month short-term evaluation. *Clin Exp Dent Res*. 2019 Aug 1;5(4):420–6.
 35. Pranitha Prabhakaran, Annapoorna Ballagere Mariswamy. A scanning electron microscope evaluation of efficacy of sodium Hypochlorite and *Allium sativum* in smear layer removal in root canals with the use of modified evacuationsystem: An ex vivo study. *Journal of Conservative Dentistry*. 2018;401–7.
 36. Ourvind J.S. Birring, Iluminada L Vilorio, Phides Nunez. Antimicrobial efficacy of *Allium sativum* extract against *Enterococcus faecalis* biofilm and its

- penetration into the root dentin: An in vitro study. *Indian Journal of Dental Research*. 2015 May;477–82.
37. Ramirez-Rodrigues MM, Plaza ML, Azeredo A, Balaban MO, Marshall MR. Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *J Food Sci*. 2011;76(3):C428–35.
 38. Sulistyani H, Fujita M, Miyakawa H, Nakazawa F. Effect of roselle calyx extract on in vitro viability and biofilm formation ability of oral pathogenic bacteria. *Asian Pac J Trop Med*. 2016 Feb 1;9(2):119–24.
 39. Jung E, Kim Y, Joo N. Physicochemical properties and antimicrobial activity of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J Sci Food Agric*. 2013 Dec 1;93(15):3769–76.
 40. Tolulope M. Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa* [Internet]. Vol. 1, *Journal of Medicinal Plants Research*. 2007. Available from: <http://www.academicjournals.org/JMPR>
 41. Borrás-Linares I, Fernández-Arroyo S, Arráez-Roman D, Palmeros-Suárez PA, Del Val-Díaz R, Andrade-González I, et al. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Ind Crops Prod*. 2015 Jul 1;69:385–394.
 42. Navidad Migdalia. Imagen flor de jamaica. [cited 2023 May 16]; Available from: <https://alimentos-autoctonos.fabro.com.mx/flor-de-jamaica.html>
 43. Gómez-Aldapa CA, Rangel-Vargas E, Refugio Torres-Vitela MA, Villarruel-López A, Acevedo-Sandoval OA, Gordillo-Martínez AJ, et al. Antibacterial Activities of *Hibiscus sabdariffa* Extracts and Chemical Sanitizers Directly on Green Leaves Contaminated with Foodborne Pathogens. *J Food Prot*. 2018 Feb 1;81(2):209–17.
 44. Mungole Arvind, Chaturvedi Alka. HIBISCUS SABDARIFFA L A RICH SOURCE OF SECONDARY METABOLITES. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2011;6(1).

45. Abass AA, Al-Magsoosi MJN, Kadhim WA, Mustafa R, Ibrahim SA, Aljdaimi AI, et al. Antimicrobial effect of Red Roselle (*Hibiscus Sabdariffa*) against different types of oral bacteria. *J Med Life*. 2022;15(1):89–97.
46. Baena-Santillán ES, Piloni-Martini J, Rangel-Vargas E, Gómez-Aldapa CA, Sánchez-Gutiérrez M, Madrigal-Santillán EO, et al. Comparison of the Antibacterial Activity and Effect on Membrane Permeability of Hibiscus Acid and a Commercial Chlorhexidine Mouthrinse Against Pathogenic Oral Bacteria and Determination of Hibiscus Acid Toxicity. *J Med Food*. 2022 Mar 1;25(3):324–8.
47. Sulistyani H, Fujita M, Miyakawa H, Nakazawa F. Effect of roselle calyx extract on in vitro viability and biofilm formation ability of oral pathogenic bacteria. *Asian Pac J Trop Med*. 2016 Feb 1;9(2):119–24.
48. Khan M. Nutritional and Health Importance of *Hibiscus Sabdariffa*: A Review and Indication for Research Needs. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*. 2017 May 31;6(5).