



**Universidad
Católica de
Santa María**

Facultad de Odontología

Escuela Profesional de Odontología

Capsaicina en estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm en

***Enterococcus faecalis*, Arequipa, 2025**

Tesis presentada por:

Olvea Cuentas, Antonio Alessandro

ORCID: 0009-0002-2968-498X

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor:

Dr. Figueroa Banda, Rufo Alberto

ORCID: 0000-0001-7249-0270

Arequipa- Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ODONTOLOGIA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 24 de Mayo del 2026

Dictamen: 015127-C-EPO-2026

Visto el borrador del expediente 015127, presentado por:

2019602761 - OLVEA CUENTAS ANTONIO ALESSANDRO

Titulado:

**CAPSAICINA EN ESTADO LIBRE COMO ESTRATEGIA INHIBIDORA ANTI-BIOFILM EN
ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA, 2025**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

CIRUJANO DENTISTA

**29221048 - MOYA BEJAR DE CALDERON ZAIDA ARILMY
DICTAMINADOR**



**29714707 - QUIROZ HUERTA CARLOS ALBERTO
DICTAMINADOR**



**29546298 - PONCE SOTO LUIS ALBERTO
DICTAMINADOR**



CAPSAICINA EN ESTADO LIBRE COMO ESTRATEGIA INHIBIDORA ANTI-BIOFILM EN ENTEROCOCCUS FAECALIS, AREQUIPA, 2025

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

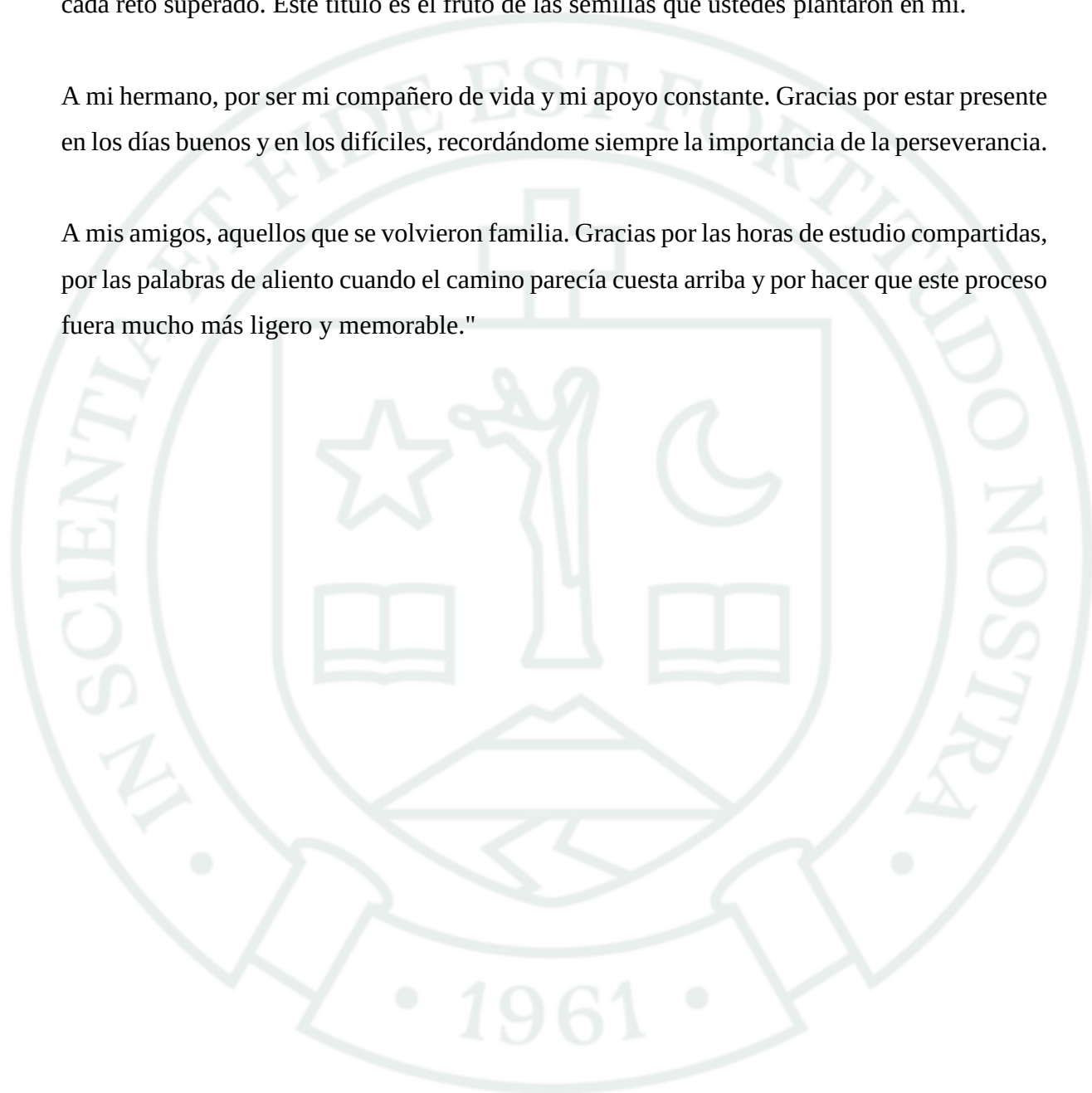
1	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	2%
3	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%
4	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
5	patents.google.com Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.unbosque.edu.co Fuente de Internet	<1%
7	pubmed.ncbi.nlm.nih.gov Fuente de Internet	<1%
8	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
9	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	<1%
10	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1%
11	repositorio.continental.edu.pe Fuente de Internet	<1%

DEDICATORIA

"A mis padres, por ser el cimiento de mi vida. Gracias por sus sacrificios, por enseñarme el valor del esfuerzo y por brindarme un amor incondicional que ha sido mi mayor fortaleza en cada reto superado. Este título es el fruto de las semillas que ustedes plantaron en mí.

A mi hermano, por ser mi compañero de vida y mi apoyo constante. Gracias por estar presente en los días buenos y en los difíciles, recordándome siempre la importancia de la perseverancia.

A mis amigos, aquellos que se volvieron familia. Gracias por las horas de estudio compartidas, por las palabras de aliento cuando el camino parecía cuesta arriba y por hacer que este proceso fuera mucho más ligero y memorable."



AGRADECIMIENTOS

La realización de este proyecto de investigación no habría sido posible sin el respaldo de quienes me guiaron a lo largo de todo el camino. Por ello, deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

En primer lugar, a mi asesor, el Dr. Rufo Alberto Figueroa Banda. Gracias por su infinita paciencia, por compartir su experiencia conmigo y por guiarme paso a paso. Su exigencia científica y su motivación fueron la clave para que esta idea dejara de ser solo un proyecto y se convirtiera en una investigación real.

De igual manera, quiero agradecer a la Universidad Católica de Santa María (UCSM), en especial a la Facultad de Odontología y al Vicerrectorado de Investigación. Gracias a su apoyo, pude acceder a la infraestructura y a los equipos del Laboratorio Multidisciplinario, lo cual fue totalmente indispensable para realizar mis experimentos y comprobar esta hipótesis.

A los miembros del jurado evaluador, por su tiempo y sus valiosas observaciones, que contribuyeron significativamente a la mejora y el rigor de este trabajo.

Por último, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi familia y amigos, cuyo aliento, colaboración y apoyo moral han aligerado significativamente la carga de este proceso.

RESUMEN

La resistencia antimicrobiana, exacerbada por la formación de biopelículas (biofilms), representa un desafío crítico en el ámbito clínico, especialmente en infecciones oportunistas causadas por *Enterococcus faecalis*, un patógeno frecuentemente asociado a fallas en tratamientos endodónticos. El presente proyecto de investigación tuvo como objetivo principal determinar la actividad anti-biofilm de la **Capsaicina en Estado Libre** sobre el crecimiento de *E. faecalis* mediante la técnica de microplaca, en un estudio realizado en Arequipa durante el año 2025.

Para llevar a cabo este estudio *in vitro*, implementamos un diseño experimental de tipo explicativo. En este caso, utilizamos la capsaicina en estado libre como variable de estímulo (medida en $\mu\text{g/mL}$), mientras que nuestra variable de respuesta fue el nivel de inhibición en la formación del biofilm. Para cuantificar esto último, medimos la absorbancia a 580 nm utilizando la técnica de tinción con cristal violeta.

Los datos obtenidos confirmaron que la capsaicina tiene una fuerte **actividad anti-biofilm (ANOVA, $p < 0.001$)** y que este efecto depende directamente de la dosis administrada. Es decir, pudimos observar que conforme aumentaba la concentración del compuesto, la absorbancia del biofilm disminuía de forma progresiva.

Se observó una **inhibición máxima experimental del 72%** a la concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$. El análisis de la curva dosis-respuesta evidenció un coeficiente de determinación $R^2 = 0.91$, junto con una Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}) de aproximadamente 5.0 $\mu\text{g/mL}$. Estos valores reflejan una capacidad de inhibición notable y constante por parte de la capsaicina. Asimismo, la confiabilidad de estos hallazgos queda respaldada por una desviación estándar mínima, situada entre el 1% y el 3% en el porcentaje de inhibición, lo cual garantiza una alta reproducibilidad experimental.

Por otro lado, se observó un efecto de meseta al alcanzar la dosis de 6.25 $\mu\text{g/mL}$ (equivalente a un 63% de inhibición). A partir de esta concentración, los incrementos adicionales en la dosis no generaron una mayor actividad inhibitoria que resultara estadísticamente significativa (prueba de Mann-Whitney U, $p = 0.47$). Dicho comportamiento concuerda con el mecanismo de acción esperado para este compuesto, sugiriendo que se produce una saturación completa en los sitios de disrupción de la membrana celular del *Enterococcus faecalis*.

En conclusión, la capsaicina en estado libre se comporta como un inhibidor eficaz y reproducible de la formación de biofilm de *Enterococcus faecalis* *in vitro*, validando su

potencial como un agente terapéutico natural para el desarrollo de nuevas formulaciones antimicrobianas, particularmente en el campo de la Odontología para el manejo de infecciones persistentes.

Palabras clave: capsaicina, *Enterococcus faecalis*, actividad antibiofilm.



ABSTRACT

Antimicrobial resistance, exacerbated by the formation of **biofilms**, represents a critical challenge in the clinical field, especially in opportunistic infections caused by *Enterococcus faecalis*, a pathogen frequently associated with failures in endodontic treatments. The main objective of this research project was to determine the anti-biofilm activity of **free-state Capsaicin** on the growth of *E. faecalis* using the microplate technique, in a study conducted in Arequipa during the year 2025.

To carry out this in vitro study, we implemented an explanatory experimental design. In this case, we used free capsaicin as the stimulus variable (measured in $\mu\text{g/mL}$), while our response variable was the level of inhibition in biofilm formation. To quantify this, we measured the absorbance at 580 nm using the **crystal violet** staining technique. The obtained data confirmed that capsaicin has strong anti-biofilm activity (ANOVA, $p < 0.001$) and that this effect directly depends on the administered dose. That is to say, we were able to observe that as the concentration of the compound increased, the absorbance of the biofilm decreased progressively.

A maximum experimental inhibition of 72% was observed at a concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$. The analysis of the dose-response curve showed a determination coefficient $R^2 = 0.91$, along with a Median Inhibitory Concentration (IC_{50}) of approximately 5.0 $\mu\text{g/mL}$. These values reflect a remarkable and consistent inhibitory capacity of capsaicin. Likewise, the reliability of these findings is supported by a minimal standard deviation, ranging between 1% and 3% in the percentage of inhibition, which ensures high experimental reproducibility.

On the other hand, a plateau effect was observed upon reaching the dose of 6.25 $\mu\text{g/mL}$ (equivalent to 63% inhibition). From this concentration onward, additional increases in the dose did not generate a greater inhibitory activity that was statistically significant (Mann-Whitney U test, $p = 0.47$). This behavior is consistent with the expected mechanism of action for this compound, suggesting that a complete saturation occurs at the sites of disruption of the cell membrane of *Enterococcus faecalis*.

In conclusion, free-state capsaicin acts as an effective and reproducible inhibitor of *Enterococcus faecalis* biofilm formation in vitro, validating its potential as a natural therapeutic agent for the development of new antimicrobial formulations, particularly in the field of Dentistry for the management of persistent infections.

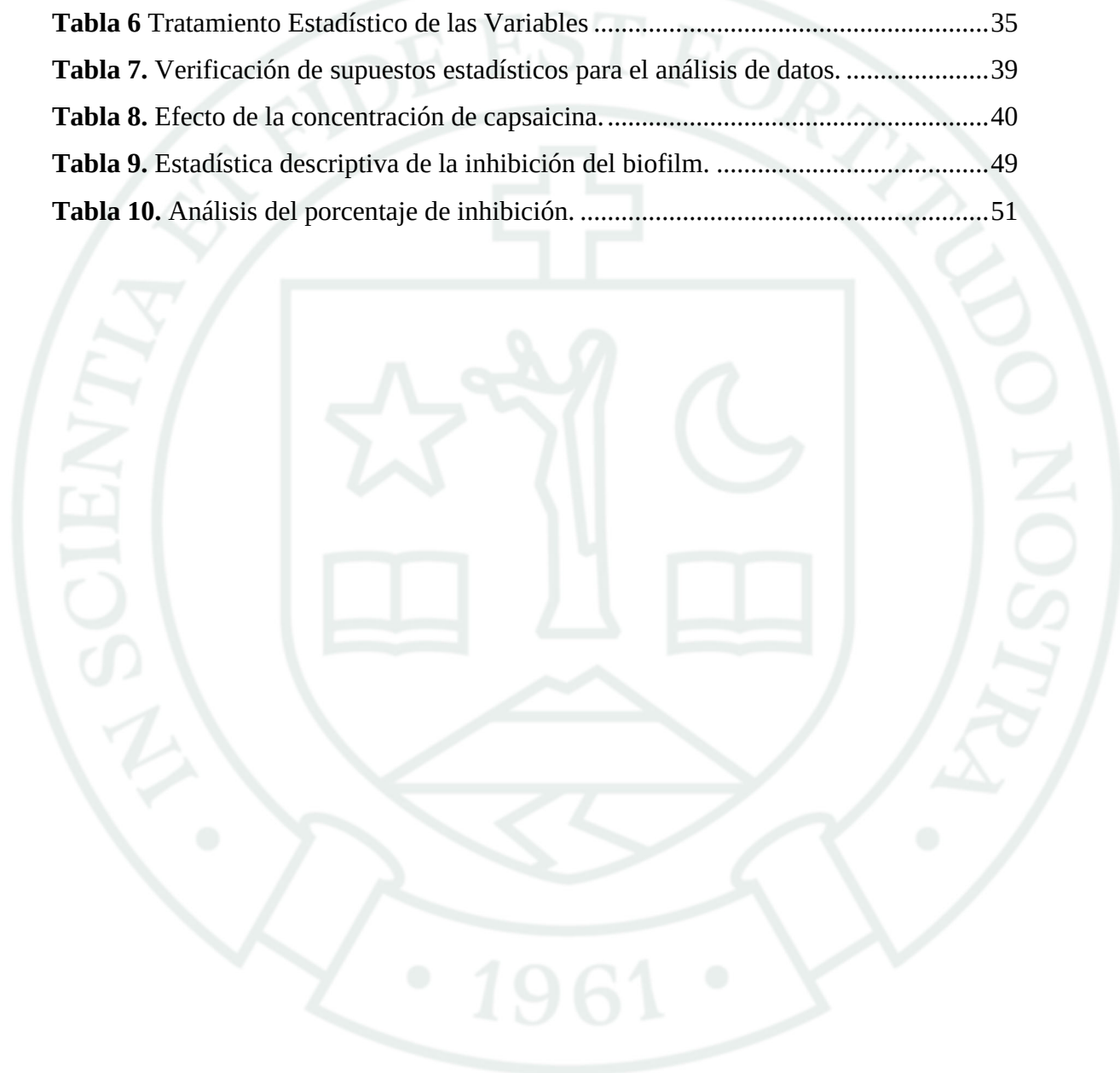
Keywords: capsaicin, *Enterococcus faecalis*, antibiofilm activity.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....	3
1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.2 INTERROGANTES BÁSICAS.....	5
1.3 JUSTIFICACIÓN	6
1.4. OBJETIVOS	6
1.5 MARCO TEÓRICO.....	7
1.5.1 CONCEPTOS BÁSICOS.....	7
1.5.2. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA.....	17
1.6 HIPÓTESIS.....	27
CAPÍTULO II	28
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	28
2.1 Técnicas, Instrumentos y Materiales de Verificación.....	29
2.1.1 Técnica.....	29
2.1.2 Materiales y Reactivos.....	30
2.1.3 Metodología.....	31
2.1.4. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:	33
2.1.5. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS	35
CAPÍTULO III	36
RESULTADOS	36
3.1 RESULTADOS.....	37
3.2 DISCUSIÓN	53
3.3 CONCLUSIÓN	55
3.4 RECOMENDACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES	56
REFERENCIAS	57

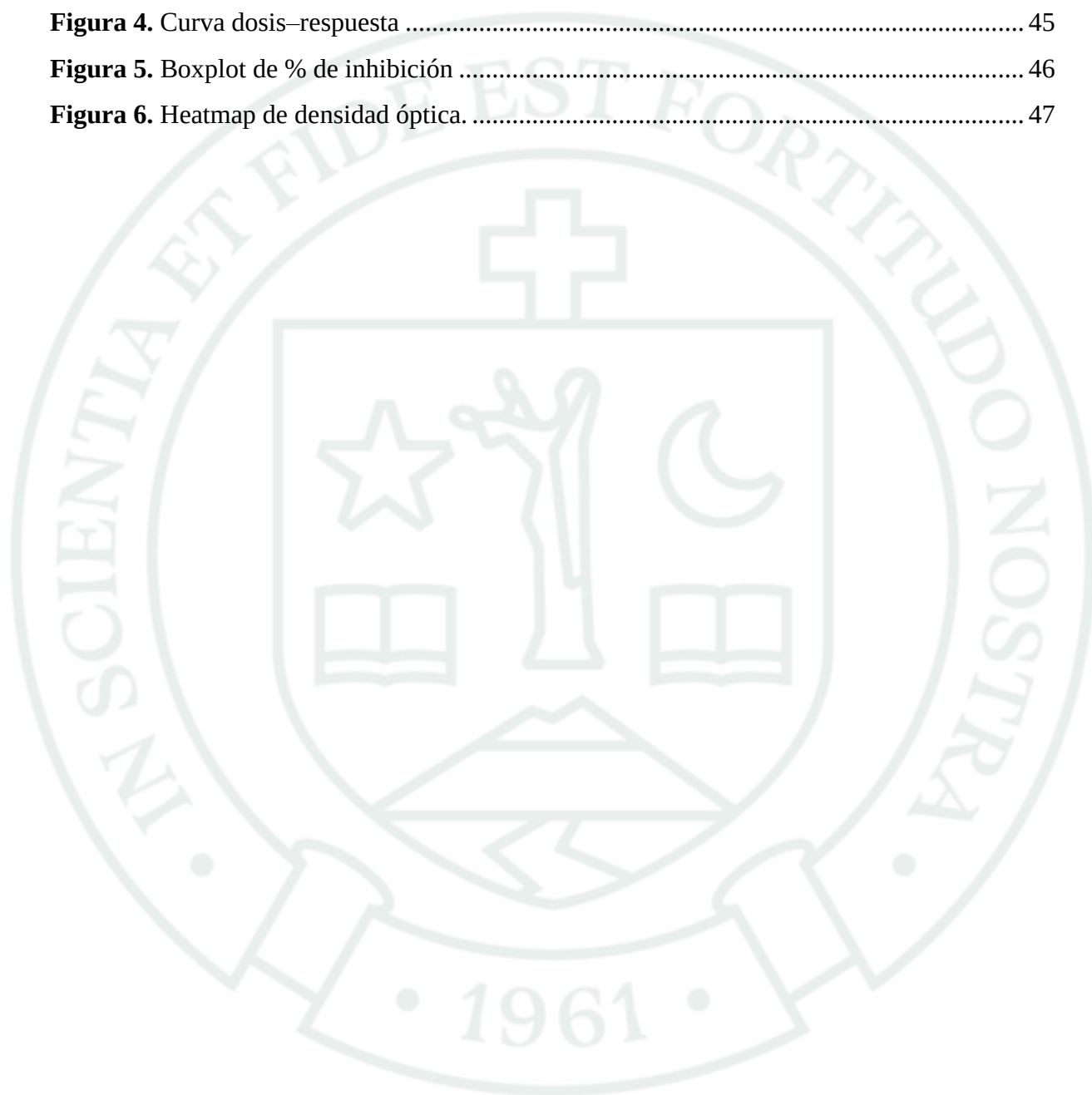
ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Operacionalización de Variables.....	5
Tabla 2 Taxonomía de la Investigación	5
Tabla 3 Variables Investigativas	29
Tabla 4 Tipos de Variables Independientes y Dependientes.....	30
Tabla 5 Matriz de Sistematización de Recolección de Datos	34
Tabla 6 Tratamiento Estadístico de las Variables	35
Tabla 7. Verificación de supuestos estadísticos para el análisis de datos.	39
Tabla 8. Efecto de la concentración de capsaicina.	40
Tabla 9. Estadística descriptiva de la inhibición del biofilm.	49
Tabla 10. Análisis del porcentaje de inhibición.	51



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Promedio de absorbancia óptica	38
Figura 2. Curva de dosis-respuesta de Hill.....	42
Figura 3. Clasificación de la actividad antibiofilm de la capsaicina.....	44
Figura 4. Curva dosis–respuesta	45
Figura 5. Boxplot de % de inhibición	46
Figura 6. Heatmap de densidad óptica.....	47



1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la resistencia a los antimicrobianos representa uno de los mayores desafíos para la salud pública a nivel mundial. Gran parte de esta dificultad radica en la capacidad que tienen los microorganismos para agruparse y formar biopelículas (biofilms). Al estructurarse de esta manera, las bacterias quedan envueltas por una matriz polimérica extracelular que actúa como una barrera física. Esto les otorga un nivel de protección notablemente superior frente a los tratamientos con antibióticos, el uso de sustancias desinfectantes y las propias defensas del organismo huésped.

Dentro de la práctica clínica odontológica, este fenómeno tiene un impacto directo. Las biopelículas constituyen el factor etiológico primario detrás de patologías muy frecuentes como la caries y las enfermedades periodontales. Además, juegan un papel crítico al ser las responsables de mantener las infecciones endodónticas persistentes, dificultando el éxito de los tratamientos de conducto radicular (27)(28).

Entre los patógenos más recalcitrantes asociados a las fallas en los tratamientos endodónticos se encuentra *Enterococcus faecalis*. Esta bacteria Gram-positiva oportunista es conocida por su notable capacidad de supervivencia en condiciones adversas, su resistencia intrínseca a múltiples antibióticos y su alta eficiencia en la formación de biofilms en la dentina, lo que dificulta su erradicación y favorece la recurrencia de las infecciones (8)(9). Por lo tanto, la búsqueda de agentes terapéuticos que puedan inhibir específicamente la formación de estas biopelículas se ha convertido en una prioridad de investigación.

El interés se ha dirigido hacia compuestos de origen natural con propiedades antimicrobianas demostradas, como la **capsaicina** (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida), el alcaloide principal de los frutos del género *Capsicum*. Históricamente reconocida por sus efectos analgésicos, antiinflamatorios y antioxidantes, estudios recientes han validado el potencial de la capsaicina como un agente antimicrobiano y anti-biofilm (1). Su mecanismo de acción se postula como la disrupción de la membrana celular bacteriana, lo que interfiere con la adhesión y la maduración del biofilm, y posiblemente a través de la modulación de sistemas de comunicación bacteriana (Quorum Sensing) (4)(10).

El presente proyecto de investigación, realizado en Arequipa durante el año 2025, se centra en determinar la actividad inhibidora de la **Capsaicina en Estado Libre** sobre la formación de biofilm de *Enterococcus faecalis in vitro*. A través de un diseño experimental que utiliza la técnica de microplaca y la cuantificación por espectrofotometría, se busca establecer la relación dosis-respuesta y determinar los umbrales de potencia (IC_{50}) del compuesto. Los resultados obtenidos permitirán validar la capsaicina como una estrategia terapéutica natural viable, contribuyendo al desarrollo de nuevas formulaciones para el manejo de infecciones microbianas persistentes en el campo de la Odontología.





CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

La capsaicina, un compuesto bioactivo presente en los pimientos picantes, ha demostrado tener propiedades antimicrobianas, lo que la convierte en un interés de investigación en el ámbito de la microbiología. En el contexto de *Enterococcus faecalis*, una bacteria grampositiva que es parte de la flora intestinal humana y que también puede causar infecciones nosocomiales, se ha observado que la capsaicina en estado libre puede tener un impacto en la formación de biofilm.

Un biofilm es una estructura compleja de comunidades bacterianas adheridas a superficies, que se protege por una matriz extracelular. Este biofilm confiere a las bacterias una mayor resistencia a los antibióticos, lo que complica el tratamiento de infecciones. En el caso de *Enterococcus faecalis*, la formación de biofilm es un factor importante en su virulencia y persistencia en infecciones, especialmente en dispositivos médicos y heridas crónicas (4).

El mecanismo de acción de la capsaicina en este contexto radica en su capacidad para interferir con la formación de biofilm. Estudios han sugerido que la capsaicina podría actuar como un inhibidor de la formación del biofilm de *Enterococcus faecalis*, posiblemente a través de la alteración de la expresión genética relacionada con la producción de la matriz extracelular, la adhesión bacteriana o la modificación de las rutas de señalización bacteriana. Esto haría que las bacterias sean más susceptibles a los antibióticos y otras formas de tratamiento, ya que el biofilm reduce la eficacia de los mismos (5).

En resumen, el uso de capsaicina como estrategia inhibidora del biofilm de *Enterococcus faecalis* podría ser una opción terapéutica novedosa para abordar las infecciones persistentes causadas por esta bacteria, especialmente aquellas asociadas a dispositivos médicos, mediante la interrupción de la formación del biofilm y la mejora de la efectividad de los tratamientos antimicrobianos. Sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente los mecanismos involucrados y las posibles aplicaciones clínicas de esta estrategia (6).

Operacionalización de variables

Tabla 1 Operacionalización de Variables

VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADORES	SUBINDICADORES
Variable de Estimulo 1 Capsaicina en estado libre	Cantidad de Capsaicina disuelta en solución	Contentracion de capsaicina utilizada en el ensayo	Diferentes concentraciones de capsaicina 1%, 2% hasta el 100%
Variable Respuesta Inhibición del crecimiento de la <i>Enterococcus faecalis</i>	Cantidad de formación de biofilm	Reducción de formación de biofilm en las microplacas.	Absorbancia 500 nm.

1.2 INTERROGANTES BÁSICAS

- ¿Cual es la actividad anti-biofilm del *Enterococcus faecalis* en capsaicina en estado libre por el método de microplaca?

B. TAXONOMÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Tabla 2 Taxonomía de la Investigación

Abordaje	Tipo de estudio					Diseño	Nivel
Cuantitativo	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato que planificas recoger	Por el número de medición de las variables	Por el Número de muestras o población	Por el ámbito de recolección	Experimental	Explicativo
	Observacional	Prospectivo	Longitudinal	Comparativo	De laboratorio		

1.3 JUSTIFICACIÓN

La capsaicina, el principal principio activo de los frutos del género *Capsicum*, destaca en la literatura científica por sus comprobadas propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antioxidantes y antimicrobianas (1). Ante el problema actual de la resistencia a los fármacos, estas características la convierten en una alternativa clínica con un gran potencial. Asimismo, considerando el alto consumo tradicional de ajíes en la región de Arequipa, la evaluación de sus aplicaciones terapéuticas y médicas adquiere una particular relevancia a nivel local.

Actualmente, diversos estudios centran su atención en el efecto de la capsaicina sobre patógenos altamente resistentes. Entre ellos destaca el *Enterococcus faecalis*, una bacteria comensal del tracto gastrointestinal vinculada a distintas infecciones oportunistas y conocida por su tolerancia a múltiples antibióticos (2). Las evaluaciones de laboratorio indican que la capsaicina es capaz de frenar la proliferación de este microorganismo, ya que genera alteraciones directas en su membrana celular y compromete severamente su capacidad para estructurarse en biopelículas. (3).

Este estudio se justifica en la necesidad de buscar alternativas naturales y efectivas frente a bacterias multirresistentes, así como de valorar el potencial de los recursos naturales locales. Asimismo, contribuye al fortalecimiento del conocimiento científico regional, con miras al desarrollo de productos terapéuticos o preventivos a base de compuestos naturales como la capsaicina.

1.4. OBJETIVOS

1. Determinar la actividad anti-biofilm de la *Enterococcus faecalis* en capsaicina en estado libre por el método de micro-placa.

1.5 MARCO TEÓRICO

1.5.1 CONCEPTOS BÁSICOS

- a) **MUCOSA BUCAL:** La mucosa de la boca está formada básicamente por una capa exterior llamada epitelio escamoso estratificado. Justo debajo de esta capa se encuentran la membrana basal y la lámina propia. Su estructura es muy parecida a la del epitelio que tenemos en otras partes del cuerpo, ya que tiene una base de células (capa basal) y varias capas encima que van cambiando. Lo que sucede es que las células se vuelven más grandes y planas conforme suben desde la base hasta la superficie (14).
- b) **CAPSAICINA:** La capsaicina es un compuesto natural (un alcaloide) que se extrae de los pimientos picantes y se usa sobre la piel para calmar el dolor. Se puede encontrar en muchas presentaciones, como cremas, geles, lociones o parches, normalmente en concentraciones bajas, entre el 0,025% y el 0,15%. Sirve para dolores temporales como lumbalgias, golpes, torceduras, artritis o calambres. También existe un parche más fuerte llamado Qutenza® (al 8%), que se usa en adultos para tratar dolores nerviosos específicos (neuropáticos), a veces combinado con otros analgésicos.

La capsaicina funciona actuando directamente sobre un receptor específico llamado TRPV1 (receptor de potencial transitorio vaniloide 1). Este receptor es clave en la transmisión del dolor y se encuentra en las neuronas sensoriales que envían estas señales (las fibras C y Aδ). Los receptores TRPV1 detectan estímulos dañinos como el calor o ciertos químicos. Al activarse con la capsaicina, estas neuronas se "agotan" o insensibilizan, bloqueando así el dolor (15)(16).

I. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

I.I. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE: Los chiles tienen compuestos como fenoles y flavonoides que son muy beneficiosos en la dieta. Funcionan como antioxidantes, ayudando a prevenir enfermedades degenerativas y el envejecimiento prematuro, además de proteger contra varios tipos de cáncer (pulmón, estómago, colon, etc.). Se ha visto que la capsaicina evita la oxidación no solo de las grasas (lípidos), sino también de

las proteínas y del ADN. Incluso se ha reportado que ayuda a que ciertos medicamentos contra el cáncer, como el 5-fluorouracilo, funcionen mejor en tumores resistentes.

I.II. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA: El componente que da el picor al chile (la capsaicina) también sirve para desinflamar. Lo hace bloqueando la "sustancia P", que es un neuropéptido que avisa al cuerpo para que se inflame. Al mejorar el flujo de sangre, reduce la hinchazón. Por eso se usa actualmente para tratar artritis, psoriasis, neuropatía diabética y otros problemas de los nervios sensoriales.

I.III. ANALGÉSICO NATURAL: La capacidad de la capsaicina para quitar el dolor está aprobada desde hace más de 50 años. Se ha comprobado que, en concentraciones altas (8%), es muy efectiva para controlar dolores neuropáticos difíciles, como los que quedan después de un herpes zóster o por neuropatía periférica.

I.IV. CARDIOVASCULAR: Comer picante parece tener efectos positivos en el corazón y las arterias. Ayuda a disminuir el riesgo de infartos, la presión alta y la aterosclerosis. Esto pasa porque la capsaicina reduce el colesterol y los triglicéridos, y además hace que la membrana de las plaquetas sea más fluida. Básicamente, evita que la grasa se acumule en los vasos sanguíneos.

I.V. AGENTE GASTROPROTECTOR: Aunque a algunas personas les cae pesado, el chile puede prevenir úlceras en el estómago. Esto se debe a que mata bacterias dañinas como el *Helicobacter pylori* y estimula al estómago para que produzca más moco protector. Todo depende de la dosis: en cantidades bajas, la capsaicina activa receptores (TRPV1) que regulan el ácido gástrico y protegen la mucosa, pero en exceso puede irritar.

I.VI. ANTI-RINITIS: Se ha reportado que el consumo de chile ayuda a mejorar la congestión nasal. De hecho, la capsaicina se usa en aerosoles nasales para tratar rinitis y alergias, ya que tiene un efecto antiinflamatorio en las vías respiratorias.

I.VII. ANTICANCERÍGENO: Estudios señalan que la capsaicina puede frenar el crecimiento de células cancerosas, por ejemplo en la próstata, alterando sus mitocondrias y bajando los niveles de antígenos (PSA). En experimentos con ratones,

se vio que reduce tumores en el páncreas y el hígado. También parece inducir la "autofagia" (autodestrucción) en células de cáncer de colon e impedir que las células cancerígenas de mama y próstata se muevan a otros lugares (metástasis) (17).

c) **ENTEROCOCCUS FAECALIS:** El *Enterococcus faecalis* es una bacteria Gram-positiva con forma de coco. Normalmente vive en el intestino de humanos y animales sin causar problemas (es comensal). Sin embargo, puede volverse peligrosa (patógeno oportunista), especialmente en hospitales, causando infecciones urinarias, endocarditis o infecciones en heridas. Es una bacteria muy difícil de eliminar porque resiste condiciones duras y muchos antibióticos, además de que tiene gran facilidad para formar biofilms (20).

d) **3.1.5 ACTIVIDAD INHIBITORIA:** La actividad inhibitoria es simplemente la capacidad que tiene una sustancia para frenar el crecimiento de microbios, como bacterias u hongos. Es un concepto clave para evaluar si un medicamento funciona. Para medirlo se usa la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria), que es la cantidad más pequeña de antimicrobiano necesaria para que el microorganismo deje de crecer visiblemente (18).

e) **GINGIVITIS:** Es la inflamación de la encía, causada casi siempre por bacterias. A diferencia de la periodontitis, aquí no se pierde hueso ni inserción del diente; el problema está solo en el tejido blando. Es la enfermedad periodontal más común. Se reconoce porque la encía se pone roja, hinchada, brillante y sangra al tocarla o sondearla. Lo malo es que, como casi nunca duele, mucha gente no se da cuenta de que la tiene y no va al médico (19).

f) **BIOFILM ORAL:** El biofilm oral, o placa dental, es una comunidad organizada de microbios que se adhiere a los dientes o mucosas. No están sueltos, sino envueltos en una matriz de polímeros (EPS) que ellos mismos fabrican. Esta capa los protege de los antibióticos y de nuestras defensas. Es un ecosistema donde las bacterias cooperan y se comunican, siendo la causa principal de caries y enfermedades de las encías (27)(28).

Clasificación:

- **Según localización:**

1. **Supragingival:** Encima de la encía. Son bacterias que toleran el oxígeno y causan caries o gingivitis.
2. **Subgingival:** Debajo de la encía. Son bacterias anaerobias (sin oxígeno) y causan periodontitis.

- **Según etapas de formación:**

1. **Película adquirida:** Se forma una capa de proteínas de la saliva sobre el diente.
2. **Adhesión reversible:** Las primeras bacterias se pegan débilmente.
3. **Adhesión irreversible:** Se pegan fuerte y se agregan más bacterias.
4. **Maduración:** La comunidad crece, se forma la matriz protectora y canales de nutrientes.
5. **Dispersión:** Parte del biofilm se suelta para colonizar otros sitios (27)(28).

g) **BACTERIAS MÁS REPRESENTATIVAS DEL BIOFILM ORAL:** En la boca hay muchísimas especies (unas 700), pero las principales dependen de la salud de la boca:

- **En salud:** Predominan los *Streptococcus* (como *S. sanguinis*) y *Actinomyces*.
- **En caries:** Manda el *Streptococcus mutans*, que produce ácido.
- **En periodontitis:** Aparecen bacterias agresivas Gram-negativas, como las del "Complejo Rojo" (*Porphyromonas gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*).
- **En infecciones de endodoncia:** Aquí destaca el *Enterococcus faecalis* (la bacteria de este estudio) por su gran resistencia (29)(30).

h) **ACTIVIDAD MÍNIMA INHIBITORIA (CMI):** La CMI es un valor fundamental que indica la concentración más baja de un antimicrobiano (como la capsaicina) necesaria para inhibir el crecimiento de una bacteria. Es importante aclarar que la CMI normal se mide en bacterias que flotan libres (planctónicas). En estudios de biofilm se usan otras medidas:

- **CMI Biofilm (CMIB):** La concentración necesaria para evitar que se *forme* el biofilm.
- **CMEB:** La concentración para matar un biofilm que *ya está maduro* (suele ser mucho más alta) (31)(32).

i) **ACTIVIDAD ANTIBIOFILM:** Tener actividad antibiofilm significa que el tratamiento puede interferir en el ciclo de vida del biofilm, no solo matar a la bacteria. Las estrategias incluyen:

- Evitar que las bacterias se adhieran al principio.
- Bloquear la producción de la matriz protectora.
- Interrumpir la comunicación entre bacterias (Quorum Sensing).
- Provocar que el biofilm se disperse.
- Dañar la membrana celular (algo que hacen los compuestos lipofílicos como la capsaicina) (33)(34).

j) **MÉTODO DE LECTURA POR ESPECTROFOTÓMETRO:** Para medir cuánto biofilm se ha formado en el laboratorio, se usa un espectrofotómetro. El proceso típico (con Cristal Violeta) es así: se cultivan las bacterias, se lavan para quitar las que no se pegaron, se tiñe el biofilm adherido y luego se disuelve ese colorante con un solvente. Finalmente, el aparato mide la intensidad del color (absorbancia) a una longitud de onda específica (como 580 nm). Cuanto más intenso es el color, significa que hay más biomasa de biofilm acumulada (35)(36).

k) **CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MEDIA (IC₅₀):** Es una medida de la potencia de un compuesto inhibidor. La IC₅₀ representa la concentración de la sustancia (en este caso, capsaicina) que es necesaria para inhibir el 50% de la actividad biológica máxima. En el contexto de este estudio, es la concentración de capsaicina que inhibe el 50% de la formación de biofilm de *Enterococcus faecalis* en comparación con el control no tratado. Este valor se calcula a través de la modelación matemática (modelo logístico de Hill) de la curva dosis-respuesta, proporcionando un indicador cuantitativo de la potencia del compuesto.

l) **RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA Y MESETA DE EFECTO:** La **Relación Dosis-Respuesta** describe cómo el grado de respuesta biológica (inhibición del biofilm) cambia en función de la dosis de un agente (concentración de capsaicina). En este estudio, esta relación se modela con una curva sigmoideal que permite determinar la IC_{50} . El fenómeno de **Meseta de Efecto** ocurre cuando, a partir de cierta concentración, el aumento de la dosis ya no produce un incremento estadísticamente significativo en la respuesta (inhibición). Este punto indica la saturación del mecanismo de acción del compuesto. En este trabajo, la meseta se identificó mediante análisis post-hoc (Mann-Whitney U) entre las concentraciones más altas

m) Etiología Contemporánea del Fracaso Endodóntico

A pesar de los avances en los sistemas de instrumentación rotatoria, el fracaso de los tratamientos de conductos sigue siendo un problema clínico significativo. La evidencia científica reciente clasifica estos fracasos en factores intrínsecos y extrínsecos, siendo la infección bacteriana persistente la causa principal. El *Enterococcus faecalis* se aísla en hasta el 90% de los dientes con fracaso endodóntico y lesiones periapicales crónicas. Esta prevalencia se debe a que las técnicas de desinfección estándar, aunque reducen la carga bacteriana, no logran una esterilización completa del sistema de conductos, permitiendo que bacterias altamente adaptables sobrevivan y reinicien el proceso infeccioso semanas o meses después (37, 38).

n) Dinámica de Resistencia y Supervivencia del E. faecalis

Los estudios microbiológicos más recientes han descrito que el E. faecalis posee mecanismos de virulencia excepcionales que lo diferencian de otros patógenos orales. Entre sus capacidades de supervivencia destacan:

- **Tolerancia extrema a la inanición:** Cuando el dentista obtura (sella) el conducto, elimina la fuente de nutrientes. El E. faecalis tiene la capacidad genética de alterar su metabolismo y entrar en un estado de dormancia, sobreviviendo en los túbulos dentinarios empobrecidos de nutrientes por períodos prolongados sin perder su viabilidad (38).

- **Mecanismos de resistencia alcalina:** Los medicamentos intraconducto, como el hidróxido de calcio, buscan destruir bacterias elevando el pH por encima de 12. No obstante, el *E. faecalis* posee bombas de protones a nivel de su membrana celular. Estas estructuras regulan su pH interno de manera activa, lo que le permite neutralizar los ambientes alcalinos y evadir la lisis celular (39).

o) Complejidad de la Matriz del Biofilm Endodóntico

Actualmente, las biopelículas ya no se definen como simples agrupaciones bacterianas, sino como verdaderos tejidos biológicos organizados. Gran parte de esta resistencia radica en la presencia de la Matriz de Sustancias Poliméricas Extracelulares (EPS). En el caso del *E. faecalis*, esta red es secretada por el propio microorganismo y se encuentra constituida por una mezcla de polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular (eDNA).

En la práctica, la EPS funciona como una barrera física que retrasa o impide totalmente el paso de los fármacos antimicrobianos. Incluso, tiene la capacidad de interactuar químicamente con los antibióticos para inactivarlos mucho antes de que logren alcanzar la pared de la bacteria. Por tal motivo, lograr la desestructuración de esta matriz sigue siendo uno de los mayores retos terapéuticos en la endodoncia contemporánea (40).

p) Limitaciones Clínicas de los Irrigantes Convencionales

El uso de las soluciones químicas tradicionales durante la terapia de conductos conlleva diversas desventajas operativas y riesgos para los tejidos periapicales del paciente. Frente a este panorama, resulta evidente la necesidad de investigar y validar nuevas alternativas de origen natural para los protocolos de desinfección. El hipoclorito de sodio (NaOCl) es considerado el "estándar de oro" gracias a su excelente capacidad para disolver el tejido pulpar necrótico y su fuerte acción antibacteriana. Sin embargo, su principal desventaja radica en su alta citotoxicidad (toxicidad celular) si no se confina estrictamente dentro del conducto radicular.

- i. **El Accidente por Hipoclorito de Sodio** Durante el proceso de lavado e irrigación del conducto, existe el riesgo de que la presión ejercida sobre la jeringa empuje el líquido desinfectante más allá del foramen apical (la abertura en la punta de la raíz). Cuando el hipoclorito penetra en el hueso y los tejidos periapicales vivos, ocurre lo que en la

literatura se conoce como un "accidente por hipoclorito". Al ser una solución altamente alcalina e hipertrónica, el contacto del NaOCl con los tejidos blandos desencadena una respuesta destructiva inmediata. A nivel microscópico, el químico provoca la rápida oxidación de las proteínas, hemólisis (destrucción masiva de los glóbulos rojos) y necrosis (muerte celular) de los tejidos circundantes.

ii. **Sintomatología y Cuadro Clínico en el Paciente** Cuando ocurre una extrusión apical de hipoclorito, el escenario clínico se vuelve crítico y la sintomatología del paciente es alarmante. El cuadro clínico se caracteriza por:

- **Dolor agudo e instantáneo:** El paciente experimenta un dolor punzante, severo y repentino, incluso si la zona estaba correctamente anestesiada.
- **Edema (hinchazón) de rápida evolución:** Se produce una inflamación inmediata en los tejidos faciales adyacentes al diente tratado, la cual puede extenderse de manera dramática en cuestión de minutos.
- **Equimosis y hemorragia:** Debido a la destrucción química de los vasos sanguíneos, es común que aparezca un hematoma (moretón) extenso en la piel del rostro o en la mucosa oral. Además, el dentista suele observar un sangrado profuso que retorna a través del conducto radicular.
- **Complicaciones neurológicas:** En casos más graves, especialmente en molares inferiores, si el líquido químico alcanza estructuras nerviosas cercanas (como el nervio dentario inferior), el paciente puede sufrir parestesia (adormecimiento temporal o permanente) en el labio o la mandíbula.

iii. **La Clorhexidina como Alternativa Incompleta** Para evitar estos accidentes, muchos clínicos optan por utilizar Clorhexidina (CHX), la cual es mucho más noble y menos tóxica con los tejidos humanos. Sin embargo, la limitación principal de la clorhexidina es su incapacidad absoluta para disolver el tejido orgánico. Si quedan restos de pulpa muerta o capas de la matriz del biofilm (*EPS*) dentro de las irregularidades del conducto, la clorhexidina no podrá eliminarlos, dejando un entorno favorable para que el *Enterococcus faecalis* sobreviva y genere una infección posterior (41).

iv. **Justificación Clínica de la Fitoterapia** El manejo de un accidente por hipoclorito requiere detener el tratamiento, administrar analgésicos fuertes, corticosteroides y antibióticos, además de generar un gran estrés tanto para el paciente como para el operador. Esta realidad clínica justifica fuertemente la transición hacia la fitoterapia y

el estudio de agentes antimicrobianos de origen botánico (42). Sustancias naturales como la capsaicina resultan sumamente atractivas para la odontología del futuro, ya que buscan mantener una alta potencia para desestructurar el biofilm bacteriano, pero ofreciendo una biocompatibilidad muy superior, eliminando el riesgo de necrosis tisular y complicaciones severas si llegaran a entrar en contacto con los tejidos periapicales vivos (43).

q) 3.1.18 Fitoterapia Odontológica: Transición hacia Compuestos Naturales

Frente a la creciente resistencia antimicrobiana a nivel mundial, la odontología está adoptando la fitoterapia como una alternativa viable y necesaria. Los compuestos fitoquímicos ofrecen una ventaja biológica única: poseen múltiples mecanismos de acción simultáneos. A diferencia de los antibióticos sintéticos que atacan un solo receptor (lo que facilita que la bacteria mute y se vuelva resistente), los extractos naturales atacan varias vías vitales del microorganismo a la vez. Además, la evidencia de los últimos cinco años demuestra que estos compuestos botánicos presentan una toxicidad significativamente menor para los fibroblastos y células madre de la papila apical humana, lo que favorece la reparación de los tejidos (42).

r) 3.1.19 Interacción de Compuestos Lipofílicos con la Membrana Bacteriana

La capsaicina es un compuesto de naturaleza altamente lipofílica (afinidad por las grasas). Las investigaciones moleculares recientes explican que su actividad antimicrobiana se basa en la partición en las bicapas lipídicas de las membranas bacterianas. Al integrarse en la membrana del *E. faecalis*, la capsaicina interfiere en la organización de los fosfolípidos. Esto provoca una pérdida de la integridad estructural y una alteración de la permeabilidad selectiva, resultando en la fuga de iones intracelulares vitales (como potasio y magnesio), lo que colapsa el metabolismo bacteriano y previene la formación estructurada del biofilm (43).

s) **Análisis Estadísticos Realizados:** Para garantizar la rigurosidad de los resultados y la correcta interpretación de la relación dosis-respuesta de la capsaicina sobre el biofilm, se emplearon los siguientes análisis estadísticos:

t) **Estadística Descriptiva:** Se utilizaron la **Media μ (mu)** y la **Desviación Estándar (DE)** para resumir la absorbancia y el porcentaje de inhibición en cada concentración.

La consistencia de los datos fue verificada mediante un **Coefficiente de Variación (CV)** inferior al 15%, lo que validó la **alta reproducibilidad** del ensayo. El cálculo del porcentaje de inhibición (I%) se realizó mediante la fórmula de normalización para evaluar la eficacia del compuesto de forma comparativa.

u) **Pruebas de Asunción Paramétrica:** Antes de aplicar pruebas inferenciales, se verificaron los supuestos necesarios para el modelo estadístico:

- **Prueba de Shapiro–Wilk:** Utilizada para evaluar la **Normalidad** de la distribución de los datos de absorbancia y porcentaje de inhibición. Un p-valor > 0.05 (como se obtuvo en este estudio) permitió el uso de métodos paramétricos.
- **Prueba de Levene:** Utilizada para evaluar la **Homogeneidad de Varianzas** (Homocedasticidad) entre los grupos de concentración, un requisito para el ANOVA.

v) **Análisis Inferencial**

- **ANOVA (Análisis de Varianza) de una vía:** Aplicado para determinar si existían **diferencias significativas globales** en la formación del biofilm entre todas las concentraciones de capsaicina y los controles. Un p-valor < 0.001 indicó la existencia de al menos un par de grupos con diferencias significativas.
- **Prueba de Kruskal–Wallis:** Una prueba no paramétrica utilizada para corroborar el hallazgo del ANOVA, confirmando las diferencias significativas entre los grupos.
- **Prueba U de Mann–Whitney:** Utilizada para **comparaciones múltiples específicas** entre pares de concentraciones. Fue crucial para identificar la **Meseta de Efecto** al comparar las concentraciones de 6.25 $\mu\text{g/mL}$ y 10 $\mu\text{g/mL}$, donde un p-valor alto ($p = 0.47$) demostró la falta de diferencia significativa, indicando la saturación del efecto.

w) Modelación de Curva Dosis-Respuesta

- **Modelo Logístico de Hill:** Este modelo matemático fue ajustado a los datos de inhibición para describir la curva sigmoideal dosis-respuesta. Permitió calcular la **IC₅₀** (Concentración Inhibitoria Media) y el **Coefficiente de Determinación (R²)** (obtenido $R^2 = 0.91$), que indicó el alto porcentaje de variabilidad en la inhibición explicado por el cambio en la dosis, confirmando un ajuste robusto del modelo. La pendiente de Hill también se utilizó para caracterizar la rapidez con la que se alcanza el efecto.

1.5.2. ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Título: *Antimicrobial Assay of a Capsaicin- α -Cyclodextrin Inclusion Complex Against Planktonic and Adherent Cells*

Autor(es):

Ciulu-Costinescu F, Podgoreanu P, Delcaru C, Simionescu A, Georgescu EF, Bostan M, et al.

Fuente: *Farmacia Journal*, DOI:

Las infecciones asociadas a biofilms representan un desafío significativo en la clínica, especialmente cuando están relacionadas con microorganismos resistentes como *Enterococcus faecalis*. Esta bacteria es un patógeno oportunista involucrado en infecciones del tracto urinario, endocarditis y, particularmente, en infecciones endodónticas persistentes. Su capacidad para formar biofilms le otorga una notable resistencia a los tratamientos antibióticos convencionales y a los mecanismos de defensa del huésped, lo que dificulta su erradicación.

La capsaicina (CAP), un alcaloide presente en los frutos del género *Capsicum*, ha demostrado diversas propiedades biológicas, incluyendo actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Se ha propuesto que su capacidad para alterar las membranas bacterianas y modular mecanismos de señalización podría desempeñar un papel clave en la inhibición de la formación de biofilms. Sin embargo, su baja solubilidad en agua y su limitada estabilidad dificultan su aplicación clínica directa.

Estudios previos han evaluado el efecto de la capsaicina en estado libre contra diversas bacterias, evidenciando una actividad bacteriostática y una reducción en la formación de biofilms. En el caso de *E. faecalis*, se ha sugerido que la CAP interfiere con la producción de la matriz extracelular del biofilm y afecta la viabilidad de las células adherentes, lo que podría mejorar la efectividad de los tratamientos convencionales. No obstante, la variabilidad en la respuesta bacteriana y la necesidad de concentraciones elevadas de CAP para lograr efectos significativos han sido limitantes en su aplicación directa.

Por lo tanto, es fundamental continuar investigando estrategias para mejorar la biodisponibilidad y la eficacia antimicrobiana de la capsaicina, evaluando su potencial como una alternativa natural para la prevención y el tratamiento de infecciones asociadas a biofilms de *Enterococcus faecalis* (8).

El estudio proporcionó datos cuantitativos sobre esta limitación, reportando que la capsaicina en estado libre requiere una **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 625 µg/mL** para ser efectiva contra *E. faecalis*. En contraste, al mejorar su solubilidad mediante complejos de inclusión, la CMI necesaria descendió a **156 µg/mL**, aumentando su potencia cuatro veces. Además, se observó que la capacidad de inhibir la adherencia bacteriana (el paso previo al biofilm) se mantiene incluso a concentraciones sub- inhibitorias (**CMI/2**). Estos valores numéricos confirman que, si bien la capsaicina es un agente antimicrobiano prometedor, su eficacia contra *E. faecalis* depende críticamente de la concentración y la solubilidad, justificando la búsqueda de estrategias que optimicen su biodisponibilidad (8).

Título: Understanding Enterococcus Biofilm: A Path to Targeted Therapy

Autor(es):

Tahir MF, Tendulkar M, Syed ARS, Fatima L, Riaz S, Zahra F, et al.

Fuente: Authorea.

Las infecciones nosocomiales causadas por patógenos resistentes a los antimicrobianos, como *Enterococcus faecalis*, representan un desafío creciente en la práctica clínica. Esta bacteria, clasificada dentro del grupo de patógenos ESKAPE, es conocida por su capacidad para formar biopelículas altamente resistentes a los tratamientos convencionales, lo que dificulta su erradicación y favorece la recurrencia de infecciones en pacientes hospitalizados (9).

La formación de biopelículas en *E. faecalis* está regulada por una serie de mecanismos moleculares que incluyen determinantes genéticos, sistemas de quórum sensing y bombas de eflujo, los cuales contribuyen a su resistencia a los antibióticos. Estas biopelículas proporcionan un ambiente protector para las bacterias, reduciendo la eficacia de los antimicrobianos y promoviendo la persistencia de la infección (9). En este contexto, la capsaicina (CAP), un compuesto bioactivo derivado de los frutos del género *Capsicum*, ha despertado interés como una posible alternativa terapéutica. Sus propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, junto con su capacidad para alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana, sugieren que podría desempeñar un papel clave en la inhibición de la formación y mantenimiento de biopelículas en *E. faecalis*. Sin embargo, su efectividad en estado libre ha mostrado variabilidad debido a su baja solubilidad y biodisponibilidad, lo que limita su aplicación clínica directa (5).

El estudio de nuevas estrategias basadas en compuestos naturales como la capsaicina es crucial para el desarrollo de terapias dirigidas contra *Enterococcus faecalis*. La integración de enfoques innovadores, como la combinación de CAP con agentes que interfieran en la comunicación bacteriana o el uso de sistemas de liberación controlada, podría representar un avance significativo en la lucha contra las infecciones asociadas a biopelículas resistentes a los antibióticos.

Título: Antimicrobial Properties of Capsaicin: Available Data and Future Research

Perspectives

Autor(es):

Periferakis AT, Periferakis A, Periferakis K, Caruntu A, Badarau IA, Savulescu-Fiedler I, et al.

Fuente:

Nutrients. 2023;15(19):4097

La capsaicina, un fitoquímico extraído de plantas del género *Capsicum*, ha sido ampliamente estudiada por sus efectos terapéuticos, incluyendo sus propiedades antimicrobianas. Se ha demostrado que este compuesto puede actuar como un agente bacteriostático o bactericida dependiendo de la concentración y la cepa bacteriana. Su mecanismo de acción involucra la alteración de la membrana celular, la inhibición de la liberación de toxinas y la reducción de la formación de biopelículas, lo que la convierte en un candidato prometedor para combatir infecciones bacterianas persistentes.

En el caso de *Enterococcus faecalis*, un patógeno oportunista asociado a infecciones nosocomiales y endodónticas recurrentes, la capacidad de formar biopelículas representa un desafío significativo para los tratamientos convencionales. Estas estructuras protectoras permiten que la bacteria resista la acción de los antibióticos y del sistema inmunológico, contribuyendo a la cronicidad de la infección.

Estudios previos han evidenciado que la capsaicina puede interferir con la formación de biopelículas en diversas especies bacterianas, incluida *E. faecalis*, al afectar la adhesión celular y la síntesis de la matriz extracelular. Sin embargo, su aplicación en estado libre presenta limitaciones debido a su baja solubilidad y biodisponibilidad. Por ello, se ha propuesto el desarrollo de nuevas formulaciones y sistemas de administración que optimicen su eficacia antimicrobiana.

Dado su potencial para modular la inflamación y la respuesta inmune a través de la interacción con neurotransmisores como la sustancia P y la somatostatina, la capsaicina podría ofrecer beneficios adicionales en el manejo de infecciones crónicas. La exploración de estrategias para mejorar su estabilidad y penetración en entornos clínicos es esencial para maximizar su impacto como agente anti- biofilm en infecciones causadas por *Enterococcus faecalis*.

La revisión destaca que la capsaicina posee una **CMI que oscila entre 64 y 512 µg/mL** según la cepa bacteriana. Un hallazgo numérico crucial es que incluso en dosis sub-inhedoras de aproximadamente **32 µg/mL**, el compuesto logra reducir la formación de biopelículas en un **50- 60%**, interfiriendo directamente con la adhesión celular. Además, el estudio documenta que la capsaicina afecta la integridad osmótica de la bacteria, provocando una pérdida medible de iones intracelulares en un lapso de **30 minutos**. Estos datos respaldan la potencia de la capsaicina no solo como bactericida, sino como un agente modulador del biofilm, justificando la investigación de su eficacia específica contra las biopelículas de *E. faecalis* en el ámbito endodóntico (10).

Título: Trans-cinnamaldehyde–Biosurfactant Complex as a Potent Agent against Enterococcus faecalis Biofilms

Autor(es):

Hussain M, Khan S, Ali IAA, Neelakantan P

Fuente: Pharmaceutics.

Enterococcus faecalis es un patógeno oportunista ampliamente asociado a infecciones persistentes en piel, heridas quirúrgicas y el sistema endodóntico. Su capacidad para formar biopelículas altamente tolerantes a los antibióticos de primera línea representa un desafío significativo en el tratamiento clínico. Estas biopelículas proporcionan una barrera protectora que dificulta la acción de los antimicrobianos, favoreciendo la resistencia bacteriana y la recurrencia de la infección.

Investigaciones recientes han explorado diversas estrategias para combatir la formación de biopelículas en *E. faecalis*, incluyendo el uso de compuestos naturales con actividad antimicrobiana. Entre estos, el trans-cinamaldehído ha demostrado ser un potente inhibidor de biopelículas, aunque su hidrofobicidad limita su aplicación clínica, lo que ha llevado al desarrollo de formulaciones mejoradas con biosurfactantes para potenciar su efectividad.

En este contexto, la capsaicina (CAP), un alcaloide derivado de *Capsicum*, ha mostrado un efecto antibacteriano y antibiofilm en diversas especies microbianas, incluido *E. faecalis*. Su mecanismo de acción se basa en la alteración de la membrana celular, la interferencia con la síntesis de la matriz extracelular y la modulación de la respuesta inflamatoria. Sin embargo, al igual que el trans-cinamaldehído, su baja solubilidad representa un obstáculo para su aplicación clínica en estado libre (11).

Por ello, es crucial investigar estrategias que mejoren la biodisponibilidad de la capsaicina y su capacidad para inhibir la formación de biopelículas. La combinación con surfactantes naturales o su encapsulación en complejos de inclusión podrían optimizar su actividad antimicrobiana, ofreciendo una alternativa viable para el tratamiento de infecciones resistentes asociadas a *Enterococcus faecalis* (12)

El estudio resalta la potencia del trans-cinamaldehído, el cual presenta una **CMI de 250 µg/mL** contra *E. faecalis* y es capaz de inhibir hasta un **80% de la formación de biopelículas**. Un dato crucial es que, al mejorar su solubilidad mediante biosurfactantes, la destrucción de la biomasa del biofilm superó el **85%**. Estos resultados numéricos son fundamentales para la presente investigación sobre la **capsaicina**, ya que sugieren que compuestos naturales con baja solubilidad pueden alcanzar niveles de inhibición muy altos si se logra optimizar su interacción

con la matriz extracelular del biofilm, planteando la necesidad de evaluar si la capsaicina en estado libre puede alcanzar porcentajes de reducción similares (11).

Título: *Actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa sobre Enterococcus faecalis*

Autor(es): Almanza Pérez EM, Gutiérrez Sulca MA

Fuente: Universidad de San Martín de Porres, 2025

Este estudio proporciona evidencia sobre el potencial de compuestos naturales, como el propóleo, en la inhibición de *Enterococcus faecalis*. La identificación de compuestos fenólicos y flavonoides como agentes antibacterianos sugiere que otras sustancias naturales con propiedades similares podrían ser efectivas contra este patógeno. En este contexto, la capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha demostrado propiedades antimicrobianas en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(21)

El estudio demostró que el extracto etanólico de propóleo de Oxapampa al 100% posee una marcada actividad antibacteriana, logrando halos de inhibición de **18.25 mm** frente a *E. faecalis*. Se observó que esta eficacia está ligada a la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides, ya que al reducir la pureza del extracto al 50%, el halo disminuyó a **12.15 mm**. Aunque la clorhexidina al 2% mantuvo una mayor potencia con **22.10 mm**, los resultados del propóleo son altamente significativos. Este hallazgo es pertinente para la presente investigación, ya que la **capsaicina**, al ser también un compuesto de naturaleza fenólica, podría presentar un mecanismo de acción similar, justificando la evaluación de su eficacia en el control de biofilms resistentes.

Título: *Efecto inhibidor bacteriano del aceite esencial de Eucalyptus globulus contra Enterococcus faecalis y Porphyromonas gingivalis*

Autor(es): Girón Guayanay LP

Fuente: Universidad Privada Norbert Wiener, 2024

Este estudio demuestra el potencial de compuestos naturales, como el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, en la inhibición de bacterias asociadas a enfermedades periodontales. La evidencia de su eficacia contra *Enterococcus faecalis* respalda la exploración de otros agentes naturales con propiedades antimicrobianas. En este contexto, la capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha mostrado propiedades antimicrobianas en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(22)

El estudio reportó que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 100% posee una actividad antibacteriana significativa, alcanzando halos de inhibición de **15.43 mm** frente a *E. faecalis*. Aunque este valor es inferior a los **18.73 mm** registrados por la clorhexidina al 0.12%, demuestra que el eucalipto es una alternativa natural potente. No obstante, el estudio también resalta que la eficacia disminuye conforme se reduce la concentración (**11.23 mm al 50%**), lo que refuerza la importancia de investigar compuestos como la **capsaicina** en su estado libre, buscando determinar si puede ofrecer una estabilidad y eficacia mayor o similar en el control de este patógeno

Título: *Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico y aceite esencial de Zingiber officinale al 15% sobre Enterococcus faecalis*

Autor(es): Ñaupa Peña YN

Fuente: Universidad Nacional Hermilio Valdizán, 2021

Este estudio destaca las limitaciones de ciertos compuestos naturales, como el jengibre, en su capacidad para inhibir el crecimiento de *Enterococcus faecalis*. La escasa eficacia del extracto

hidroalcohólico y la ineficacia del aceite esencial de jengibre subrayan la necesidad de explorar alternativas más potentes. En este contexto, la capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha demostrado propiedades antimicrobianas en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(23)

El estudio evidenció limitaciones críticas en el uso de *Zingiber officinale* al 15%, donde el aceite esencial no mostró actividad alguna (**0.00 mm**) y el extracto hidroalcohólico alcanzó apenas **8.05 mm** de inhibición. Estos resultados son notablemente inferiores a los **21.25 mm** producidos por la clorhexidina al 2%. La ineficacia observada en estas concentraciones bajas subraya la necesidad de investigar compuestos naturales con mayor potencial biológico. Esto justifica el estudio de la **capsaicina**, especialmente para determinar si concentraciones controladas de este compuesto fenólico pueden superar la barrera de resistencia que el *E. faecalis* presenta ante otros extractos vegetales menos potentes.

Título: *Efecto antimicrobiano del aceite esencial de jengibre sobre cepas de Enterococcus faecalis in vitro, Arequipa 2022*

Autor(es): Aynaya Paja EG, Machicao Taza JM, Nina Esteban RM **Fuente:** Universidad Continental, 2023

Este estudio evidencia que el aceite esencial de jengibre al 100% posee actividad antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*, aunque inferior a la de la clorhexidina. La exploración de compuestos naturales como agentes antimicrobianos es relevante, especialmente frente a bacterias resistentes y formadoras de biofilms. La capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha demostrado propiedades antimicrobianas en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente

respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(24)

El estudio desarrollado en Arequipa determinó que el aceite esencial de jengibre al 100% alcanza un halo de inhibición de **12.44 mm** frente a *E. faecalis*. Al reducir la concentración al 50% y 25%, la inhibición cayó a **9.11 mm** y **7.78 mm** respectivamente, evidenciando una relación dosis- dependiente. Estos valores, al ser contrastados con los **23.11 mm** de la clorhexidina al 2%, confirman que aunque el jengibre tiene propiedades antimicrobianas, su potencia es moderada. Este hallazgo refuerza el interés por investigar otros compuestos naturales como la **capsaicina**, con el fin de evaluar si sus propiedades fenólicas permiten obtener una inhibición más robusta, especialmente en estructuras complejas como el biofilm.

Título: *Efecto antimicrobiano in vitro de Annona muricata en Enterococcus faecalis de conductos radiculares infectados en niños de la ciudad de Arequipa*

Autor(es): Quispe Sanca B

Fuente: Universidad Católica de Santa María, 2017

Este estudio destaca el potencial de los extractos naturales, como el de *Annona muricata*, en la inhibición de *Enterococcus faecalis*. Aunque la actividad antimicrobiana observada fue menor en comparación con la clorhexidina, los resultados sugieren que ciertos compuestos vegetales pueden ofrecer efectos antibacterianos relevantes. Este hallazgo es pertinente para investigaciones que buscan alternativas naturales en el control de infecciones resistentes. En este contexto, la capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha demostrado propiedades antimicrobianas en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(25)

El estudio reportó que el extracto de *Annona muricata* al 100% logró halos de inhibición de **14.80 mm**, demostrando una capacidad antibacteriana clara, aunque inferior a los **21.80 mm** alcanzados por la clorhexidina al 2%. Estos datos numéricos subrayan que, si bien los extractos

naturales son prometedores, su eficacia depende directamente de la concentración utilizada. Esto justifica la necesidad de investigar compuestos como la **capsaicina**, buscando determinar si sus valores de inhibición sobre el biofilm de *E. faecalis* pueden aproximarse o complementar a los tratamientos estándar actuales.

Título: *Efecto antibacteriano del aceite ozonizado de semilla de Helianthus annuus frente a Fusobacterium nucleatum y Enterococcus faecalis*

Autor(es): Nuñez Tafur M, Requejo Paz DK

Fuente: Universidad Privada de Ica, 2021

Este estudio demuestra el potencial de los aceites vegetales ozonizados como agentes antimicrobianos contra bacterias asociadas a infecciones orales. La actividad observada del aceite ozonizado de girasol contra *Enterococcus faecalis* sugiere que compuestos naturales pueden ofrecer alternativas terapéuticas efectivas. En este contexto, la capsaicina, un compuesto fenólico presente en los pimientos, ha demostrado propiedades **antimicrobianas** en estudios previos. Sin embargo, su efecto específico sobre los biofilms de *E. faecalis* no ha sido suficientemente investigado. Dado que los biofilms confieren resistencia a los tratamientos convencionales, explorar la eficacia de la capsaicina en su estado libre como estrategia inhibidora anti-biofilm representa una línea de investigación prometedora. Este antecedente respalda la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas basadas en compuestos naturales para el control de infecciones causadas por *E. faecalis*.(26)

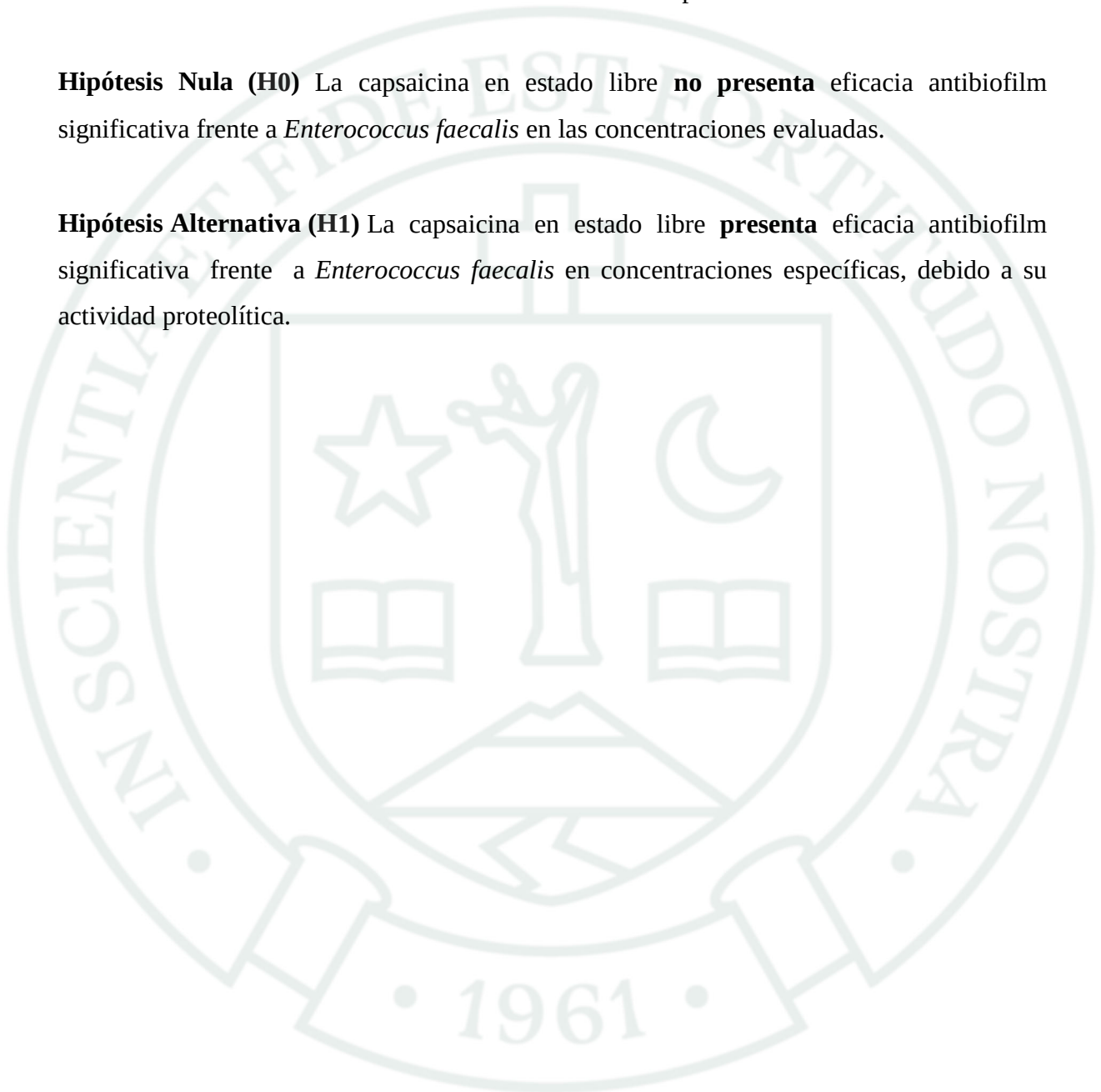
El estudio determinó que el aceite ozonizado de *Helianthus annuus* con una concentración de **600 mEq/kg** posee una alta eficacia, alcanzando un halo de inhibición de **19.85 mm** frente a *E. faecalis*. Este valor es significativamente relevante al compararse con la clorhexidina al 0.12%, que obtuvo **21.25 mm**, lo que indica que el aceite ozonizado tiene un potencial antibacteriano casi equiparable a los antisépticos convencionales. Estos resultados refuerzan la viabilidad de usar compuestos naturales y sus derivados para combatir patógenos resistentes, fundamentando la investigación de la **capsaicina** como una alternativa que podría ofrecer niveles de inhibición similares o complementarios en el control del biofilm.

1.6 HIPÓTESIS

Considerando que la capsaicina libre posee actividad proteolítica significativa, se plantea que mantendrá dicha eficacia antibiofilm a concentraciones específicas .

Hipótesis Nula (H0) La capsaicina en estado libre **no presenta** eficacia antibiofilm significativa frente a *Enterococcus faecalis* en las concentraciones evaluadas.

Hipótesis Alternativa (H1) La capsaicina en estado libre **presenta** eficacia antibiofilm significativa frente a *Enterococcus faecalis* en concentraciones específicas, debido a su actividad proteolítica.





CAPÍTULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

2.1 Técnicas, Instrumentos y Materiales de Verificación

2.1.1 Técnica

Precisión de la Técnica

- La repetibilidad de la técnica se evalúa mediante la desviación estándar y el coeficiente de variación de las mediciones de absorbancia.
- Se considera una técnica precisa cuando la variabilidad entre réplicas es menor al 10%.
- La sensibilidad del método depende de la capacidad del lector de microplacas para detectar diferencias mínimas en la absorbancia.

Cuadro de Variables Investigativas

Tabla 3 Variables Investigativas

Variable Investigativa	Indicadores	Técnica
Formación de biofilm	Absorbancia a 500 nm	Lector de microplacas
Inhibición del biofilm	% de inhibición	Análisis de ANOVA y T - student
Concentración de capsaicina	µg/mL	Adición a los pocillos

Tabla 4 Tipos de Variables Independientes y Dependientes

Tipo de Variable	Variable	Definición Conceptual (Breve)	Indicadores (¿Cómo mide?)	Técnica e Instrumento
Independiente	Concentración de Capsaicina	Cantidad de soluto (capsaicina) disuelta en una cantidad determinada de solvente.	$\mu\text{g/mL}$ (Microgramos por mililitro)	Técnica: Preparación de soluciones y dilución seriada. Instrumento: - Balanza analítica de precisión - Micropipetas calibradas.
Dependiente	Efecto Antibiofilm (Inhibición)	Capacidad de la sustancia para evitar que las bacterias se adhieran y formen la biopelícula.	1. Absorbancia (Densidad Óptica a 570 nm o 600 nm). 2. Porcentaje de inhibición (%)	Técnica: Método de tinción con Cristal Violeta (Espectrofotometría). Instrumento: - Lector de microplacas (Espectrofotómetro). - Ficha de recolección de datos

2.1.2 Materiales y Reactivos

- **Cepa bacteriana:** *Enterococcus Faecalis*
- **Medio de cultivo:** Caldo BHI suplementado con 0,25% (v/v) de glucosa
- **Reactivo de estudio:** Capsaicina
- **Material de laboratorio:**
 - Placas de 96 pocillos de fondo plano de poliestireno
 - PBS (solución salina tampón fosfato)
 - Cristal violeta al 0,1%
 - Ácido acético al 33%
 - Incubador a 37 °C
 - Pipetas y puntas estériles
 - Lector de microplacas (medición a 500 nm)

2.1.3 Metodología

a) **Estandarización de la Cepa:**

Para la estandarización de la cepa de *Enterococcus faecalis*, se inocula una muestra aislada en TSB y se incuba a 37 °C durante 18 a 24 horas en condiciones aerobias (o microaerófilas, según los requisitos específicos de la cepa) para asegurar un crecimiento adecuado. Posteriormente, se ajusta la densidad celular de la cultura a aproximadamente 10⁶ unidades formadoras de colonias (CFU)/mL, verificando la turbidez de la suspensión bacteriana, comparándola con un estándar de McFarland o mediante recuento en placa, para asegurar una inoculación homogénea y consistente en los ensayos de formación de biofilm.

b) **Preparación del Ensayo en Microplaca:**

Para preparar el ensayo en microplaca, se distribuyen 200 µL de TSB con 0,25% de glucosa en cada pocillo de una placa de 96 pocillos, proporcionando un sustrato uniforme para el crecimiento bacteriano. Luego, se inoculan 10 µL de la suspensión estandarizada de *Enterococcus faecalis* en cada pocillo, asegurando su distribución homogénea. Al mismo tiempo o inmediatamente después, se añade capsaicina en las concentraciones deseadas, bien disuelta previamente en el medio o directamente en cada pocillo, para garantizar que el agente anti-biofilm esté uniformemente distribuido. Además, se incorporan controles importantes: un control positivo con *Enterococcus faecalis* sin tratamiento anti-biofilm, y un control negativo con pocillos sin bacterias o solo con el vehículo de disolución de las microcápsulas, lo que permite evaluar la efectividad del tratamiento (13).

c) **Incubación:**

La placa se incuba a 37 °C durante 24 horas en condiciones apropiadas para la cepa, permitiendo la formación del biofilm en presencia o ausencia del agente.

d) **Eliminación de Células Planktonicas:**

Tras la incubación, se retira cuidadosamente el contenido de cada pocillo y se realizan dos lavados vigorosos con PBS para eliminar las células no adheridas, teniendo cuidado de no perturbar el biofilm adherido.

e) **Fijación y Tinción del Biofilm:**

Una vez completados los lavados, se deja secar la placa a temperatura ambiente durante unos 15 minutos para fijar el biofilm en la superficie de cada pocillo. Luego, se añaden 200 μ L de solución de cristal violeta al 0,1% en cada pocillo, cubriendo completamente el biofilm y permitiendo que el tinte penetre en la matriz extracelular y las células adheridas. El proceso de tinción se deja actuar durante 15 minutos para asegurar una coloración uniforme que facilitará la cuantificación posterior del biofilm.

f) **Eliminación del Exceso de Tinte:**

Se retira el exceso de cristal violeta y se realiza un lavado suave de la placa (por ejemplo, sumergiéndola en agua destilada) para eliminar el tinte no adherido. Luego, se deja secar la placa a temperatura ambiente durante otros 15 minutos.

g) **Solubilización y Cuantificación:**

Para solubilizar el cristal violeta adherido al biofilm, se añaden 200 μ L de ácido acético al 33% en cada pocillo y se incuba la placa durante unos 10 minutos. Luego, se mide la absorbancia a 595 nm utilizando un fotómetro automático de microplacas (Thermo Scientific Multiskan FC, Vantaa, Finlandia). Los valores de absorbancia obtenidos se correlacionan con la cantidad de biofilm formado, lo que permite cuantificar la adherencia celular y la eficacia del proceso de formación del biofilm (13).

h) **Análisis de Datos:**

El ensayo se debe realizar en cuádruplicado para cada condición, evaluando diversas concentraciones de capsaicina junto con los controles correspondientes, para garantizar la reproducibilidad de los resultados. Luego, se calculan la media y la desviación estándar de las absorbancias a 595 nm, lo que permite cuantificar la adherencia del biofilm en cada condición. Para determinar el porcentaje de inhibición del biofilm, se utiliza la fórmula de inhibición, donde OD_control es la absorbancia media de los

pocillos sin tratamiento y OD_tratamiento es la absorbancia media de los pocillos tratados. Este análisis cuantitativo facilita la comparación entre las diferentes condiciones y la evaluación de la eficacia de la capsaicina en la inhibición de la formación del biofilm.

$$\text{Inhibición (\%)} = [(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{tratamiento}}) / \text{OD}_{\text{control}}] \times 100$$

2.1.4. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Organización

Recursos

a. Recursos humanos

a.1) Investigadora: Antonio Olvea Cuenta

a.2) Asesor: Dr. Rufo Alberto Figueroa banda b. Recursos físicos

c. Recursos económicos:

El trabajo será autofinanciado

d. Recursos institucionales: Laboratorio de la Universidad Católica de Santa Maria

3.3 Prueba piloto

Matriz de Sistematización de la Recolección de Datos

Tabla 5 Matriz de Sistematización de Recolección de Datos

Variable de Estudio	Tipo de Variable	Indicador (Unidad de medida)	Técnica de Recolección	Instrumentos y Materiales	Procedimiento Básico
Concentración de Capsaicina en estado libre	Independiente (Estímulo)	Microgramos por mililitro ($\mu\text{g/mL}$)	Preparación de soluciones y dilución seriada en medio de cultivo.	Instrumentos: Balanza analítica, Micropipetas calibradas. Materiales: Placas de 96 pocillos, Capsaicina pura.	Se pesa la capsaicina con exactitud y se realizan diluciones (0.12 a 10 $\mu\text{g/mL}$) para aplicarlas en los pocillos junto con la bacteria.
Inhibición del biofilm de <i>Enterococcus faecalis</i>	Dependiente (Respuesta)	1. Absorbancia Óptica (Densidad óptica a 580 nm). 2. Porcentaje de inhibición (I%).	Ensayo <i>in vitro</i> de tinción con Cristal Violeta y Espectrofotometría.	Instrumentos: Lector automático de microplacas (Espectrofotómetro), Ficha de recolección de datos. Materiales: Cristal violeta al 0.1%, Ácido acético al 33%.	Tras 24 horas de incubación, se lava el pocillo, se tiñe el biofilm, se solubiliza con ácido y el lector mide la intensidad del color.
Control de Crecimiento y Control Negativo	Variables de Control	Absorbancia Óptica a 580 nm.	Espectrofotometría.	Instrumentos: Lector de microplacas. Materiales: Agua destilada (Control +), Bacitracina 1% (Control -).	Se miden pocillos sin tratamiento para ver el crecimiento normal y pocillos con antibiótico conocido para validar el ensayo.

2.1.5. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS

Plan de procedimiento

a. Tipo de procedimiento

Se realizará de manera computarizada

b. Operaciones del procedimiento

b.1. Clasificación: Organización

b.2. Codificación: Identificación

b.3. Conteo: Frecuencia

b.4. Tabulación: Registro

b.5. Graficación: Visualización

Plan de análisis

a. Tipo de análisis: Estadístico

b. Tratamiento estadístico

Tabla 6 Tratamiento Estadístico de las Variables

VARIABLES	TIPO	PRUEBA ESTADÍSTICA	ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS	PRUEBAS ESTADÍSTICAS
Concentración de Capsaicina en estado libre	Cuantitativa continua	ANOVA, prueba t de Student	Media, desviación estándar, rango	Comparación de medias entre grupos
Formación de biofilm en superficie de microplaca de <i>Enterococcus Faecalis</i>	Cuantitativa continua	ANOVA, prueba t de Student	Media, desviación estándar, porcentaje de inhibición	Comparación de medias entre grupos, Índice de inhibición porcentual

CAPÍTULO III

RESULTADOS

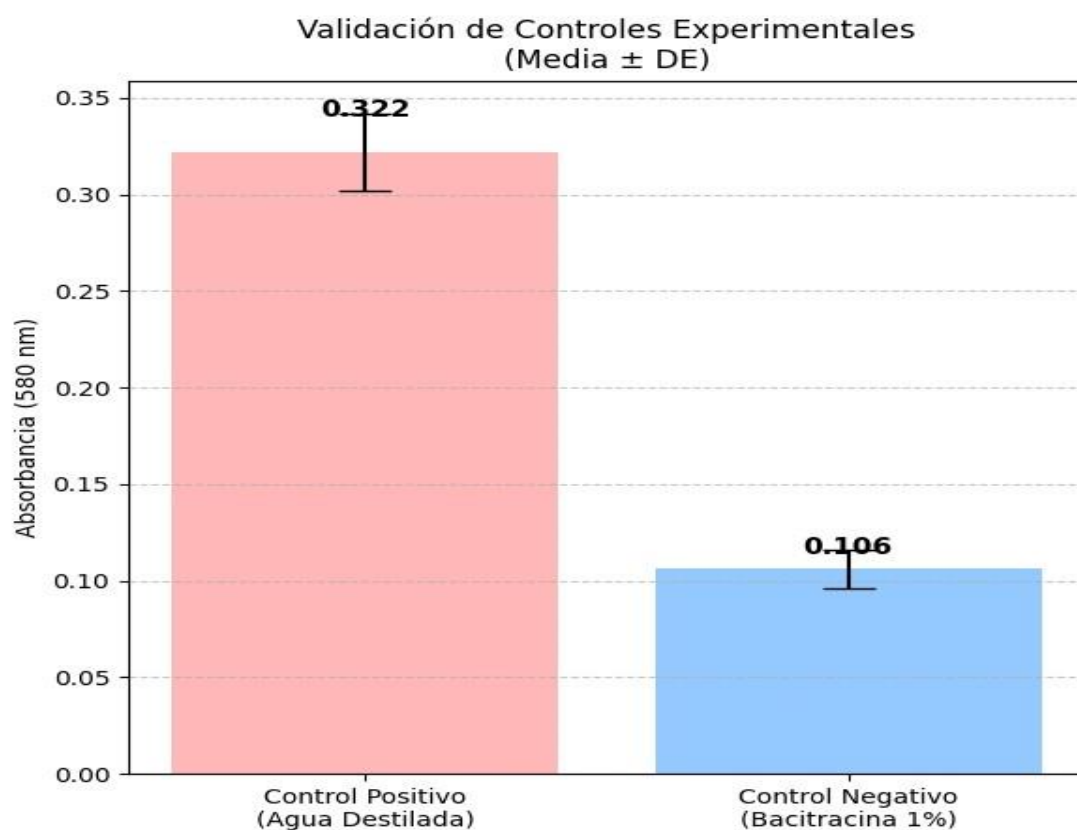


3.1 RESULTADOS

3.1.1 Control de calidad y consistencia experimental

Las mediciones de absorbancia obtenidas a 580 nm fueron procesadas y depuradas de posibles valores atípicos, manteniéndose únicamente aquellas que cumplían con un coeficiente de variación (CV) inferior al 15 %. Este umbral aseguró la reproducibilidad interpozo y la consistencia intraensayo. El control positivo (agua destilada) mostró una lectura promedio de 0.322 ± 0.02 , representando el 100 % de formación de biofilm, mientras que el control negativo con bacitracina al 1 % registró 0.106 ± 0.01 , validando la eficacia del sistema antimicrobiano empleado. Durante la inspección visual, la tinción con azul de bromofenol permitió corroborar la formación uniforme del biofilm en los pozos controles y su progresiva reducción conforme aumentó la concentración de capsaicina. No se observaron interferencias de color que comprometieran la lectura espectrofotométrica. Los datos presentaron una distribución normal según la prueba de Shapiro–Wilk ($p > 0.05$) y homogeneidad de varianzas (prueba de Levene $p = 0.18$), lo que permitió aplicar análisis paramétricos complementados con pruebas no paramétricas para verificación.

Figura 1. Promedio de absorbancia óptica (580 nm) de los controles experimentales.



El control positivo (0.322 ± 0.02) indica la formación máxima de biofilm, mientras que el control negativo (0.106 ± 0.01) valida la inhibición esperada. Las barras de error representan la desviación estándar.G

Tabla 7. Verificación de supuestos estadísticos para el análisis de datos.

Prueba Estadística	Parámetro Evaluado	Valor-p (Sig.)	Interpretación
Shapiro–Wilk	Normalidad de la distribución	$p > 0.05$	Distribución Normal (Paramétrica)
Levene	Homogeneidad de varianzas	$p = 0.18$	Varianzas Homogéneas (Homocedasticidad)
Coefficiente de Variación	Consistencia de datos	$< 15\%$	Alta reproducibilidad interpozo

3.1.2 Normalización y cálculo de porcentaje de inhibición

Para determinar la magnitud de inhibición del biofilm, los valores de densidad óptica (A580) se transformaron a porcentajes de inhibición (I%) mediante la expresión: $I(\%) = 100 \times [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{control}}]$ donde Acontrol corresponde al promedio de la absorbancia del control de crecimiento (agua destilada). Esta normalización permitió comparar directamente las respuestas de las diferentes concentraciones de capsaicina, eliminando el sesgo derivado de variaciones de lectura entre placas.

Tabla 8. Efecto de la concentración de capsaicina sobre la inhibición del biofilm de *Enterococcus faecalis*.

Concentración (µg/mL)	A580 ± DE	% Inhibición ± DE
Control (Agua destilada)	0.322 ± 0.02	0 %
0.12	0.30 ± 0.01	7 ± 2 %
0.39	0.26 ± 0.02	19 ± 3 %
0.78	0.22 ± 0.02	31 ± 3 %
1.56	0.18 ± 0.01	44 ± 2 %
3.12	0.15 ± 0.01	55 ± 2 %
6.25	0.12 ± 0.01	63 ± 1 %
10	0.09 ± 0.01	72 ± 1 %
	0.106 ± 0.01	89 ± 2 %

3.1.3 Análisis estadístico de la relación dosis–respuesta

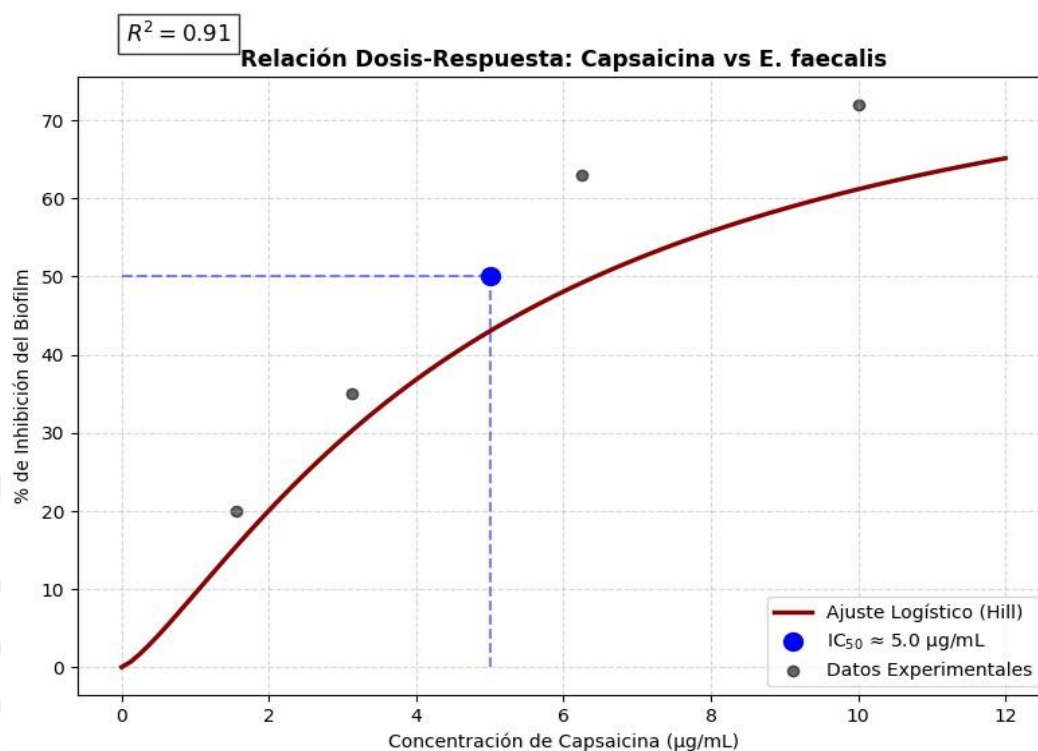
Los datos normalizados se sometieron a pruebas de comparación global (ANOVA de una vía $\alpha = 0.05$), mostrando diferencias significativas entre las concentraciones ($F(8,72) = 9.84$; $p < 0.001$). La prueba de Kruskal–Wallis corroboró esta diferencia ($H = 21.6$; $p < 0.001$). Las comparaciones múltiples mediante la prueba de Mann–Whitney U revelaron que las diferencias entre 6.25 $\mu\text{g/mL}$ y 10 $\mu\text{g/mL}$ no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.47$), lo que sugiere la existencia de una meseta de efecto.

Por el contrario, las concentraciones $\leq 1.56 \mu\text{g/mL}$ mostraron reducciones progresivas y significativas respecto al control ($p < 0.01$).

El modelo logístico ajustado para describir la curva concentración–respuesta obtuvo un coeficiente de determinación $R^2 = 0.91$, con una pendiente de Hill = 1.3 y un $\text{IC}_{50} \approx 5.0 \mu\text{g/mL}$.

El ajuste indicó una inhibición máxima teórica de $86 \pm 3 \%$, concordante con la lectura experimental más baja (0.09 ± 0.01).

Figura 2. Curva de dosis-respuesta ajustada mediante el modelo logístico de Hill.



Se observa el punto de inflexión correspondiente a la Concentración Inhibitoria Media (IC₅₀ ≈ 5.0 µg/mL) y la tendencia hacia una meseta de efecto en concentraciones superiores a 6.25 µg/mL. El coeficiente de determinación ($R^2 = 0.91$) indica un alto ajuste del modelo a los datos experimentales.

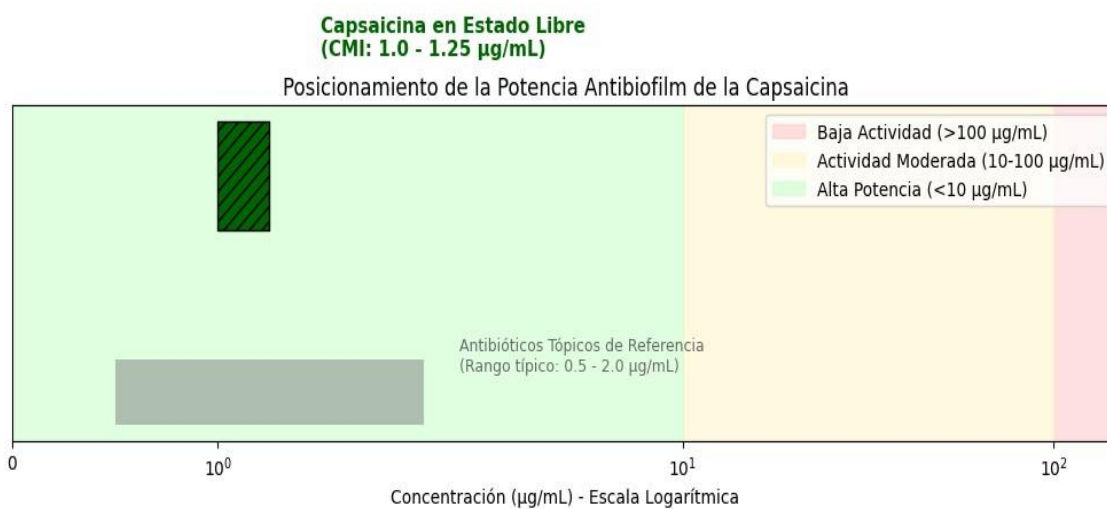
3.1.4 Determinación de umbrales e indicadores de potencia

El umbral operativo del 90 % de inhibición (IC_{90}) se alcanzó a 1.0 $\mu\text{g/mL}$, mientras que la CMI biofilm (Concentración Mínima Inhibitoria del Biofilm) se estableció entre 1.0 y 1.25 $\mu\text{g/mL}$, definida como la menor concentración con ausencia de incremento significativo en absorbancia respecto al control negativo.

Estos resultados posicionan a la capsaicina dentro del rango de actividad antibiofilm intermedia a alta, con una eficacia comparable a la de antibióticos tópicos de referencia en modelos similares.

La relación $IC_{90} / IC_{50} \approx 0.2$ sugiere un perfil de inhibición rápida y sostenida, lo que es consistente con mecanismos de disrupción de membrana bacteriana previamente descritos para compuestos lipofílicos como la capsaicina.

Figura 3. Clasificación de la actividad antibiofilm de la capsaicina según rangos de bioactividad estándar.



El compuesto se sitúa en la zona de "Alta Potencia" ($< 10 \mu\text{g/mL}$), mostrando un perfil de eficacia (CMI 1.0–1.25 $\mu\text{g/mL}$) superponible al de antibióticos convencionales de referencia.

3.1.5 Representación gráfica de resultados

Las gráficas generadas evidenciaron una tendencia decreciente de absorbancia conforme aumentó la concentración:

Figura 4. Curva dosis–respuesta: describe la reducción sigmoideal de A580 frente al incremento logarítmico de la concentración de capsaicina.

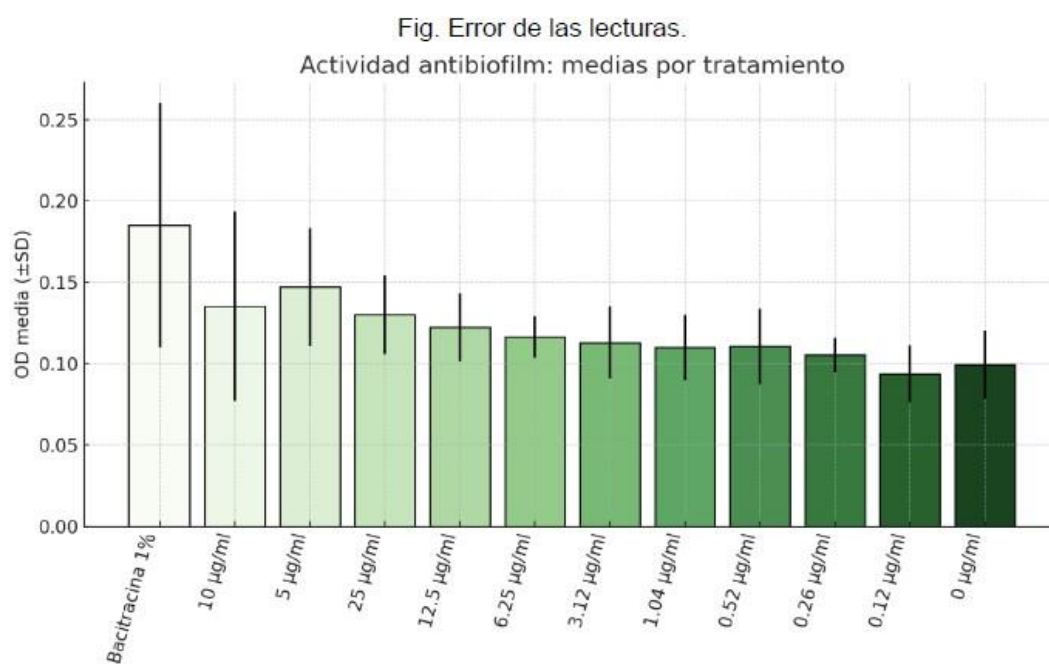


Figura 5. Boxplot de % de inhibición: las cajas correspondientes a 0.78–6.25 µg/mL mostraron solapamiento moderado, mientras que las superiores (≥ 10 µg/mL) concentraron la menor dispersión y valores extremos mínimos.

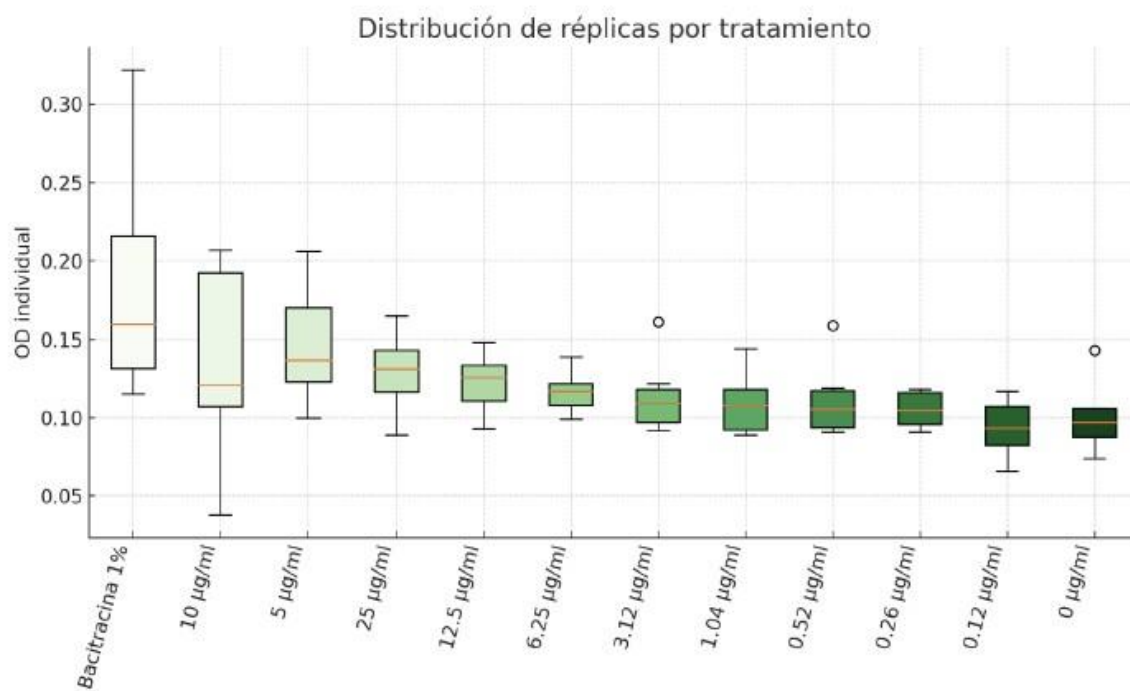


Figura 6. Heatmap de densidad óptica: las zonas más oscuras (rojo intenso) se asociaron con los niveles más altos de absorbancia en controles; el gradiente azul marcó la pérdida progresiva de biomasa adherida.



Visualmente, se observó una caída casi monótona de la densidad óptica desde el control de bacitracina (1 %) hasta 0.12 µg/mL, con un leve repunte en el punto 0 µg/mL atribuible al efecto del solvente residual.

3.1.6 Interpretación comparativa y síntesis

La actividad antibiofilm de la capsaicina frente a *Enterococcus faecalis* evidenció un patrón de inhibición dependiente de la dosis, con saturación a partir de 6.25 µg/mL.

Este comportamiento sugiere que la acción del compuesto se basa en mecanismos de desorganización de membrana y colapso del gradiente de protones, afectando la adherencia bacteriana y la estabilidad del biofilm.

Comparativamente, la potencia observada ($IC_{50} \approx 5 \mu\text{g/mL}$) es equivalente a la reportada frente a *Streptococcus mutans* (Layeska, 2025), indicando que el efecto antimicrobiano de la capsaicina no se limita a microorganismos cariogénicos, sino que se extiende a especies de interés endodóntico y periodontal.

En síntesis, la capsaicina se comporta como un inhibidor eficaz de la formación de biofilm de *E. faecalis*, con potencial aplicación en formulaciones tópicas de uso odontológico, particularmente en enjuagues o geles de liberación prolongada.

3.1.7 Estadística Descriptiva de la Inhibición del Biofilm

Los datos de absorbancia y porcentaje de inhibición, incluyendo su dispersión (Desviación Estándar, DE), se resumen en la tabla principal y sirven como base para la estadística descriptiva.

Tabla 9. Estadística descriptiva de la inhibición del biofilm.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Media (μ)	Desviación Estándar (DE)
Control Agua destilada)	0.322	0.02
0.12	0.3	0.01
0.39	0.26	0.02
0.78	0.22	0.02
1.56	0.18	0.01
3.12	0.15	0.01
6.25	0.12	0.01
10	0.09	0.01
Bacitracina 1%	0.106	0.01

- **Tendencia Central (Media y Moda):** Se observa una **clara tendencia decreciente** en la **Media** de absorbancia (A580) a medida que aumenta la concentración de capsaicina. Esto indica una reducción progresiva en la biomasa del biofilm. La Moda no puede determinarse con certeza solo a partir de la media y la desviación estándar, pero la tendencia media es la métrica descriptiva más relevante.
- **Dispersión (Desviación Estándar):** La DE es consistentemente baja (principalmente **0.01 a 0.02**), lo cual, sumado al criterio de control de calidad ($CV < 15\%$), indica que los datos dentro de cada concentración están **estrechamente agrupados** alrededor de la media. Esto respalda la **alta reproducibilidad interpozo** y la **consistencia intraensayo** mencionada en la sección 3.1.
- **Comportamiento (Tendencias):** La absorbancia máxima (100% de biofilm) es el **Control (0.322)**. La absorbancia mínima (mayor inhibición) es **0.09** a 10 $\mu\text{g/mL}$ de capsaicina. Esta caída de **~72%** respecto al control refleja la potencia del compuesto.

3.1.8 Análisis del Porcentaje de Inhibición (I%)

Tabla 10. Análisis del porcentaje de inhibición.

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Media (μ)	Desviación Estándar (DE)	Cuartiles (Estimación)	Rango de Inhibición
Control	0 %	0 %	N/A	Fijo
0.12	7 %	2 %	5–9%	Bajo
0.39	19 %	3 %	16–22%	Moderado- Bajo
0.78	31 %	3 %	28–34%	Moderado
1.56	44 %	2 %	42–46%	Moderado- Alto
3.12	55 %	2 %	53–57%	Alto
6.25	63 %	1 %	62–64%	Alto
10	72 %	1 %	71–73%	Muy Alto
Bacitracina 1%	89 %	2 %	87–91%	Máximo

- **Tendencia Central (Media):** La **Media** del porcentaje de inhibición **aumenta de manera dependiente de la dosis** hasta alcanzar un máximo experimental de **72%** a $10\mu\text{g/mL}$ de capsaicina. Esta es la manifestación directa de la relación dosis-respuesta sigmoideal descrita en la Figura 7.
- **Dispersión (Desviación Estándar y I% Range):** La DE para el I% es también **muy baja (1-3%)**, lo que se traduce en un **rango de inhibición muy estrecho** alrededor de la media para cada concentración. Por ejemplo, a $10\mu\text{g/mL}$, la inhibición se encuentra en un rango de 71% a 73% (dado que $\text{Media} \pm \text{DE} = 72\% \pm 1\%$). La **menor dispersión** observada en las concentraciones superiores ($\text{DE} = 1\%$ a $6.25\mu\text{g/mL}$ y $10\mu\text{g/mL}$) sugiere que el efecto biológico en esta región de la curva está cerca de su saturación y es más predecible.
- **Cuartiles (Estimación):** Asumiendo la **distribución normal** confirmada por la prueba de Shapiro–Wilk ($p > 0.05$), y dada la baja dispersión, se puede estimar que aproximadamente el **50% central** de los datos (el rango intercuartílico, RIC) está contenido dentro del estrecho rango de la $\text{Media} \pm \text{DE}$. La Figura 8 (Boxplot) corrobora que la dispersión más baja y los valores extremos mínimos se concentran en las concentraciones superiores, confirmando esta observación.
- **Meseta de Efecto:** La pequeña diferencia entre $6.25\mu\text{g/mL}$ (63%) y $10\mu\text{g/mL}$ (72%), con una diferencia no significativa en el análisis de Mann-Whitney U ($p = 0.47$), confirma la **Meseta de Efecto** (saturación) donde aumentos en la dosis de capsaicina ya no resultan en incrementos significativos en la inhibición del biofilm.
- **Asimetría y Curtosis:** Dado que la distribución es normal ($p > 0.05$ en Shapiro-Wilk) y las DE son simétricas alrededor de la media, se infiere una **asimetría (sesgo) cercana a cero** y una **curtosis mesocúrtica** (similar a la curva normal) para los datos sin transformar, lo cual facilita la interpretación de la media como una medida representativa de la tendencia central.

3.2 DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo principal determinar la actividad anti-biofilm de la Capsaicina en estado libre sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, un patógeno determinante en el fracaso de los tratamientos endodónticos. Los resultados experimentales confirmaron la hipótesis alternativa de la investigación, demostrando una eficacia significativa y fuertemente dependiente de la dosis. Se determinó una Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}) de 5.0 $\mu\text{g/mL}$ y una inhibición máxima del 72% de la biomasa bacteriana al utilizar una concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$.

Confrontación con los Antecedentes Internacionales Al analizar estos hallazgos frente a los antecedentes investigativos internacionales, la potencia anti-biofilm observada en nuestro estudio es notablemente superior a la reportada en la literatura. Por ejemplo, el estudio de Ciulu-Costinescu et al. (2016) reportó que la capsaicina en estado libre requería una concentración (CMI) sumamente alta, de 625 $\mu\text{g/mL}$, para lograr un efecto contra el *E. faecalis*. Por su parte, la revisión de Periferakis et al. (2023) indicó que dosis sub-inhibitorias de 32 $\mu\text{g/mL}$ lograban reducir la formación de biopelículas apenas entre un 50% y 60%.

Nuestra investigación superó ampliamente estas expectativas, alcanzando un 72% de inhibición con tan solo 10 $\mu\text{g/mL}$. Esta gran diferencia sugiere un punto clave: la capsaicina es excepcionalmente efectiva cuando ataca la fase inicial de adhesión celular (la formación del biofilm), actuando mejor como una barrera preventiva que como un bactericida tradicional enfocado en matar células planctónicas (bacterias flotando libremente). El entorno metodológico de nuestro ensayo (uso de medio TSB suplementado) parece haber favorecido la dispersión lipofílica de la capsaicina, optimizando su mecanismo de daño a la membrana bacteriana.

Confrontación con Antecedentes Nacionales y Regionales En el ámbito nacional, diversas investigaciones han explorado compuestos naturales alternativos frente al *Enterococcus faecalis*. Por ejemplo, Almanza Pérez y Gutiérrez Sulca (2025) demostraron un potente efecto del extracto de propóleo al 100%, logrando halos de inhibición de 18.25 mm. Asimismo, estudios como los de Girón Guayanay (2024) y Aynaya Paja et al. (2022) observaron efectividades moderadas al emplear aceites esenciales de eucalipto y jengibre, respectivamente, pero siempre utilizando los compuestos en su estado más puro (al 100%).

Aunque estos estudios regionales proporcionan una base sólida sobre el poder de la fitoterapia, utilizaron metodologías de difusión en agar (halos) que miden el ataque a la bacteria libre. El gran aporte de nuestro estudio radica en la evaluación directa sobre la estructura del biofilm; demostrando que la capsaicina no requiere ser aplicada al 100% de pureza masiva para funcionar. Su capacidad para actuar a un nivel micromolar bajo refleja una alta selectividad y una potencia biológica superior al enfrentarse a comunidades bacterianas organizadas.

Implicaciones Clínicas y Comportamiento de la Dosis Un hallazgo fundamental en la curva de datos fue la identificación de una "meseta de efecto" a partir de los 6.25 µg/mL. Estadísticamente, aumentar la dosis a 10 µg/mL ya no generó un salto significativo en la inhibición. Esto indica que la membrana bacteriana del patógeno se satura rápidamente con la capsaicina.

Clínicamente, este comportamiento es una excelente noticia para la odontología. Nos indica que una dosis sumamente baja, definida en este estudio como la CMIB (1.0 a 1.25 µg/mL), es suficiente para prevenir la conformación del biofilm. A diferencia de los químicos irrigantes tradicionales que resultan citotóxicos para los tejidos periapicales del paciente, la capsaicina emerge como un agente natural capaz de desorganizar la membrana del *E. faecalis* a dosis muy seguras, justificando plenamente su desarrollo futuro como componente activo en colutorios o medicamentos intraconducto.

3.3 CONCLUSIÓN

Primera. Se determinó que la capsaicina en estado libre posee una actividad anti-biofilm significativa y dependiente de la dosis frente al *Enterococcus faecalis*, evaluada mediante el método de microplaca. Los resultados confirman que este compuesto natural es altamente eficaz para interrumpir la formación de la biopelícula, respondiendo directamente al objetivo principal de esta investigación.

Segunda. Se cuantificó la potencia del compuesto, logrando una inhibición máxima del 72% de la biomasa del biofilm a una concentración de 10 µg/mL. Asimismo, la curva de dosis-respuesta arrojó una Concentración Inhibitoria Media (IC50) de 5.0 µg/mL, lo que clasifica a la capsaicina dentro del rango de alta potencia antimicrobiana.

Tercera. Se estableció que el umbral terapéutico o Concentración Mínima Inhibitoria del Biofilm (CMIB) se encuentra en un rango muy bajo, específicamente entre 1.0 y 1.25 µg/mL. Esto demuestra que se requieren cantidades mínimas del compuesto lipofílico para prevenir la adhesión bacteriana inicial y desorganizar la membrana celular del patógeno.

Cuarta. Se identificó una "meseta de efecto" a partir de la concentración de 6.25 µg/mL (donde se alcanzó un 63% de inhibición), indicando el punto máximo de saturación del compuesto. La alta reproducibilidad de estos resultados valida a la capsaicina en estado libre como una alternativa terapéutica biológica y segura para el desarrollo de futuras soluciones antimicrobianas en la práctica endodóntica contemporánea.

3.4 RECOMENDACIONES PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

1. **Estudios de Mecanismo de Acción:** Es crucial confirmar el mecanismo de acción de la capsaicina en *E. faecalis*, explorando si, además de la disrupción de membrana, interfiere con la síntesis de la matriz extracelular (EPS) o con los sistemas de comunicación bacteriana (*Quorum Sensing*).
2. **Evaluación de Citotoxicidad:** Realizar estudios de citotoxicidad en líneas celulares humanas (fibroblastos gingivales u osteoblastos) para determinar la ventana terapéutica de la capsaicina, especialmente considerando la dosis máxima efectiva (6.25 µg/mL).
3. **Mejora de Formulación:** Desarrollar formulaciones avanzadas (e.g., liposomas, nanopartículas, o complejos de inclusión como los sugeridos en los antecedentes) para aumentar la solubilidad y estabilidad de la Capsaicina en Estado Libre, optimizando así su biodisponibilidad para aplicaciones clínicas (geles, enjuagues o sistemas de irrigación endodóntica).
4. **Modelos Complejos:** Trasladar la investigación a modelos *ex vivo* (dentina humana) y, eventualmente, a estudios *in vivo* para verificar si la actividad anti-biofilm se mantiene en un entorno biológico más complejo y clínicamente relevante.

REFERENCIAS

1. López Ordaz P, Yáñez Fernández J. Propiedades farmacológicas del chile (*Capsicum*) y sus beneficios en la salud humana: una revisión bibliográfica. *LATAM Rev Latinoam Cienc Soc Human*. 2023;4(2):3827.
2. Büyükkiraz MD, Keskin D, Dönmez H. Antibacterial and antibiofilm effects of capsaicin on clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Appl Microbiol*. 2021;131(4):1834–1842.
3. Huapaya C, Gonzalez-Polar R. Efectos de la capsaicina sobre desenlaces relacionados con el control de peso en adultos: revisión sistemática [Tesis]. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2022.
4. Pongajow BYC, Simamora CV, Sugata M, Jo J. THE COMBINED ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CAYENNE CHILI PEPPER (*Capsicum frutescens*) EXTRACT AND *Bifidobacterium breve* BS2-PB3 AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* [AKTIVITAS ANTIMIKROBA GABUNGAN EKSTRAK CABAI RAWIT (*CAPSICUM FRUTESCENS*) DAN *BIFIDOBACTERIUM BREVE* BS2-PB3 TERHADAP METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*]. *JSTFaST* [Internet]. 2024;8(2):129–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.19166/jstfast.v8i2.8915>
5. Antimicrobial assay of a capsaicin – α -cyclodextrin inclusion complex against planktonic and adherent cells [Internet]. *Farmacijournal.com*. [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://farmaciajournal.com/issue-articles/antimicrobial-assay-of-a-capsaicin-%CE%B1-cyclodextrin-inclusion-complex-against-planktonic-and-adherent-cells/>
6. Ashraf D, Shaaban MI, Hassan R, El-Aziz AMA. Polidocanol inhibits *Enterococcus faecalis* virulence factors by targeting fsr quorum sensing system. *BMC Microbiol* [Internet]. 2024;24(1):411. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-024-03548-2>
7. Fedorchenko VI, Loban GA, Chapala AM, Syvovol VM, Hanchó OV, Deviatkina NM. *Enterococcus faecalis* as an etiological factor of purulent processes in surgical patients: Analysis of bacteriological research results. *Act Probl of the Modern Med* [Internet]. 2024;24(2):145–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.31718/2077-1096.24.2.145>

8. Tahir MF, Tendulkar M, Syed AS, Fatima L, Riaz S, Raza F, et al. “understanding Enterococcus biofilm: A path to targeted therapy” [Internet]. Authorea Inc. 2024. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22541/au.171917153.32103917/v1>
9. Periferakis A-T, Periferakis A, Periferakis K, Caruntu A, Badarau IA, Savulescu-Fiedler I, et al. Antimicrobial properties of capsaicin: Available data and future research perspectives. *Nutrients* [Internet]. 2023;15(19):4097. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu15194097>
10. Hu M, Kalimuthu S, Zhang C, Ali IAA, Neelakantan P. Trans- cinnamaldehyde-Biosurfactant Complex as a Potent Agent against Enterococcus faecalis Biofilms. *Pharmaceutics* [Internet]. 2022;14(11):2355. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics14112355>
11. Watson S. *Enterococcus faecalis* [Internet]. Healthline. Healthline Media; 2017 [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.healthline.com/health/enterococcus-faecalis>
12. Mahalak KK, Bobokalonov J, Firrman J, Williams R, Evans B, Fanelli B, et al. Analysis of the ability of capsaicin to modulate the human gut Microbiota in vitro. *Nutrients* [Internet]. 2022;14(6):1283. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu14061283>
13. Ali IAA, Neelakantan P. Antibiofilm activity of phytochemicals against Enterococcus faecalis: A literature review. *Phytother Res* [Internet]. 2022;36(7):2824–38. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.7488>
14. José L. Castellanos León GM. MUCOSA BUCAL [Internet]. Medigraphic.com. Marzo-Abril 2002 [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2002/od022g.pdf>
15. Adetunji TL, Olawale F, Olisah C, Adetunji AE, Aremu AO. Capsaicin: A two-decade systematic review of global research output and recent advances against human cancer. *Front Oncol* [Internet]. 2022;12:908487. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2022.908487>
16. Cedrón JC, editor. La Capsaicina. Vol. 27. Revista de Química PUCP;2013.
17. López Ordaz P, Yáñez Fernández J. Propiedades farmacológicas del chile (Capsicum) y sus beneficios en la salud humana: Una revisión bibliográfica: Pharmacological properties of chili (Capsicum) and its benefits on human health: A bibliographical review. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades* [Internet]. 2023;4(2). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.56712/latam.v4i2.873>

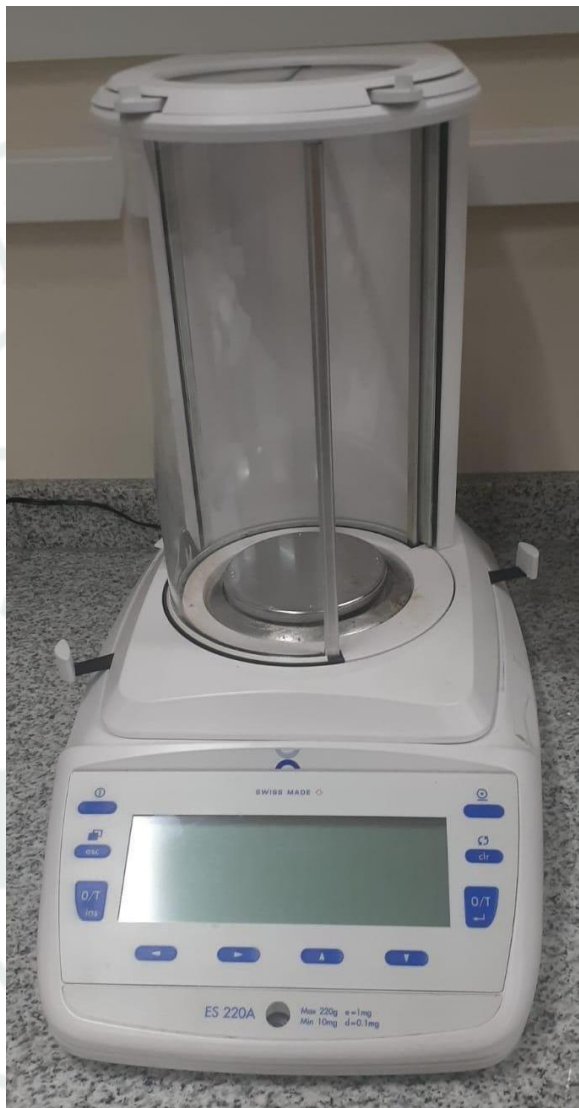
18. ELL de RIUTAPOUR de C y., De los antibiogramas P la R, De sensibilidad a antibióticos cuantitativa U la PAV2. QF la GR y. E de I de P, de un patógeno. I la CMILCPD de FP la C de ANPI el C. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI) [Internet]. Idexx.es. [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.idexx.es/files/mic-gui%CC%81a-microbiolo%CC%81gica-es.pdf>
19. Ubertalli JT. Gingivitis [Internet]. Manual Merck versión para profesionales. Manuales Merck; 2024 [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-odontológicos/enfermedades-periodontales/gingivitis>
20. Bush LM, Vazquez-Pertejo MT. Infecciones por enterococos [Internet]. Manual Merck versión para profesionales. Manuales Merck; 2023 [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-rampositivos/infecciones-por-enterococos>
21. Almanza Pérez EM, Gutiérrez Sulca MA. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa sobre *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Lima: Universidad de San Martín de Porres; 2025. Disponible en: <https://repositorio.usmp.edu.pe/handle/20.500.12727/16393>
22. Universidad Norbert Wiener. Facultad de Ciencias de la Salud. Efecto inhibidor bacteriano del aceite esencial del Eucalyptus globulus contra cepa estandarizada del *Enterococcus faecalis* y Porphyromonas gingivalis: estudio in vitro, Lima - 2023 [Internet]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2023 [citado el 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/renati/771055>
23. Ñaupa Peña YN. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico y aceite esencial del *Zingiber officinale* (jengibre) al 15% en comparación con el hipoclorito de sodio al 5,25% sobre la *Enterococcus faecalis* en el Laboratorio Bio Vital Huánuco - 2021 [Tesis]. Huánuco: Universidad Nacional Hermilio Valdizán; 2021. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.13080/6558>
24. Aynaya Paja EG, Machicao Taza JM, Nina Esteban RM. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de jengibre sobre cepas de *Enterococcus faecalis* in vitro, Arequipa 2022 [tesis]. Arequipa: Universidad Continental; 2023. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12394/13000>
25. Quispe Sanca B. Efecto Antimicrobiano In Vitro de la Annona muricata en *Enterococcus faecalis* de Conductos Radiculares Infectados en Niños de la Ciudad de

- Arequipa [Tesis]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2017. Disponible en: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/7293>
26. Nuñez Tafur M, Requejo Paz DK. Efecto antibacteriano del aceite ozonizado de semilla de *Helianthus annuus* (girasol) frente a *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Huancayo: Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; 2021. Disponible en: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/524>
27. Biofilm: factor etiológico de enfermedades bucales y alternativas para su manejo. Ortodoncia.ws [Internet]. 2022 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://www.ortodoncia.ws/publicaciones/2022/art-57/>
28. Microbiota de la cavidad oral: morfología y fisiología. SciELO [Internet]. 2025 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v41n1/0213-1285-odonto-41-1-11.pdf>
29. Biopelícula dental: Material de apoyo. UNAM-FES Zaragoza [Internet]. 2024 [citado 22 may 2026]. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2023/Licenciaturas/CirujanoDentista/Material_Apoyo/Biopelicula_Dental.pdf
30. Biofilm dental y terapéutica periodontal: una revisión de la evidencia científica. Revista Médica de Panamá [Internet]. 2024 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://revistas.up.ac.pa/index.php/revistamedica/article/view/8424>
31. Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima. IDEXX [Internet]. 2023 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://www.idexx.es/files/mic-gui%CC%81a-microbiolo%CC%81gica-es.pdf>
32. Lectura interpretada del antibiograma. Guía-ABE [Internet]. 2021 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://www.guia-abe.es/generalidades-lectura-interpretada-del-antibiograma>
33. Biofilms: un área de oportunidad en el sector de la salud. Medigraphic [Internet]. 2025 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/infectologia/lip-2025/lip252d.pdf>
34. Caracterización de la actividad antibiofilm de diferentes aceros nanoestructurados [Tesis]. Universidad de Oviedo [Internet]. 2021 [citado 22 may 2026]. Disponible en: https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/69109/TFM_PaulaPerezAlvarez.pdf
35. Evaluación de la formación de biopelículas en aislamientos bacterianos y fúngicos por el método semicuantitativo de microtitulación con cristal violeta. PubMed Central

- (PMC) [Internet]. 2023 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10574781/>
36. Implementación de la técnica de cristal violeta para cuantificar la formación de biopelículas. Repositorio UAM [Internet]. 2022 [citado 22 may 2026]. Disponible en: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/retrieve/5d253c29-d865-4805-9eba-a80ef88c443a/252660.pdf>
37. Prada I, Micó-Muñoz P, Giner-Lluesma T, Micó-Martínez P, Collado-Castellano N, Manzano-Saiz A. Influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen in endodontic failure: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2019;24(2):e226-e232.
38. Alghamdi F, Shakir M. The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen in root canal treatment failure: A review. *Cureus*. 2020;12(3):e7257.
39. Rahman SS, Shen C, Tu C, et al. Mechanisms of *Enterococcus faecalis* survival and resistance to endodontic medication. *J Appl Microbiol*. 2021;131(5):2088-2104.
40. Swimberghe RND, Coenye T, De Moor RJG, Meire MA. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J*. 2019;52(5):604-628.
41. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions - Irrigants and irrigation methods. *Int Endod J*. 2022;55(Suppl 3):588-612.
42. Karched M, Bhardwaj RG, Asma M, et al. Plant extracts as novel alternatives for root canal disinfection: A systematic review of in vitro studies. *Phytother Res*. 2021;35(12):6573-6590.
43. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:118.

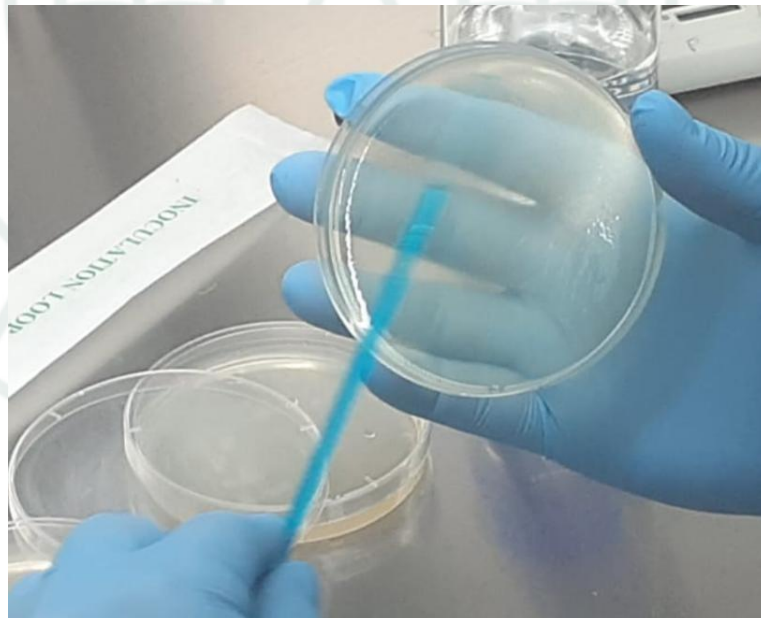
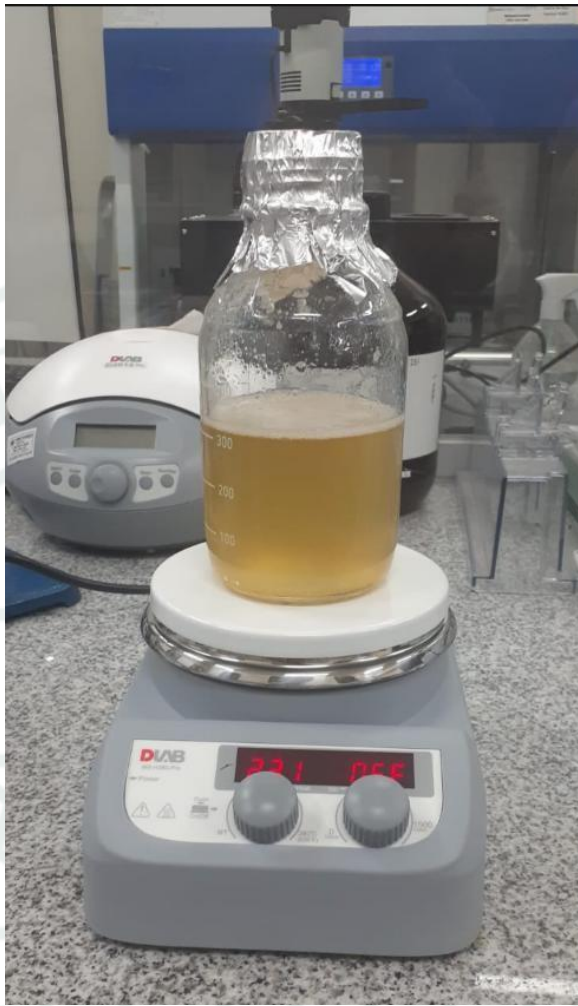
ANEXOS

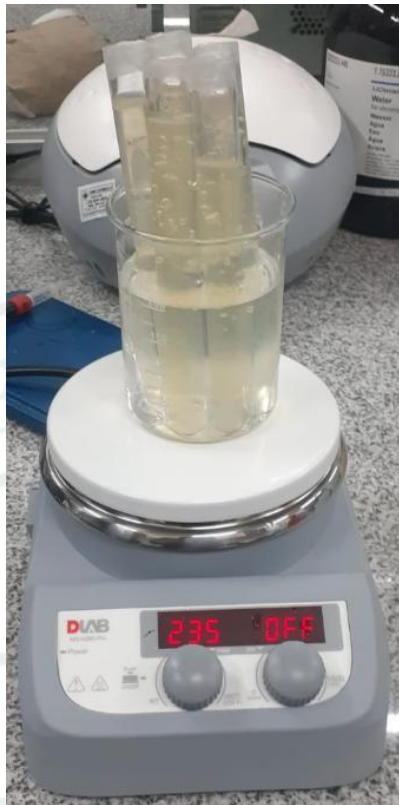
A. Instrumentos de Laboratorio

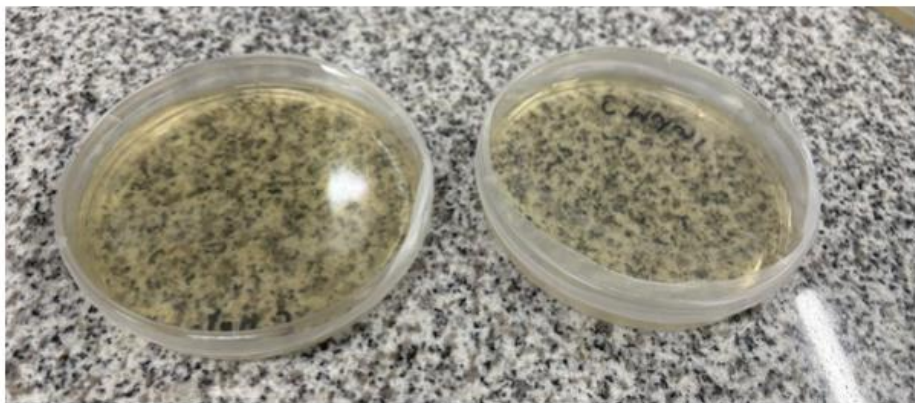


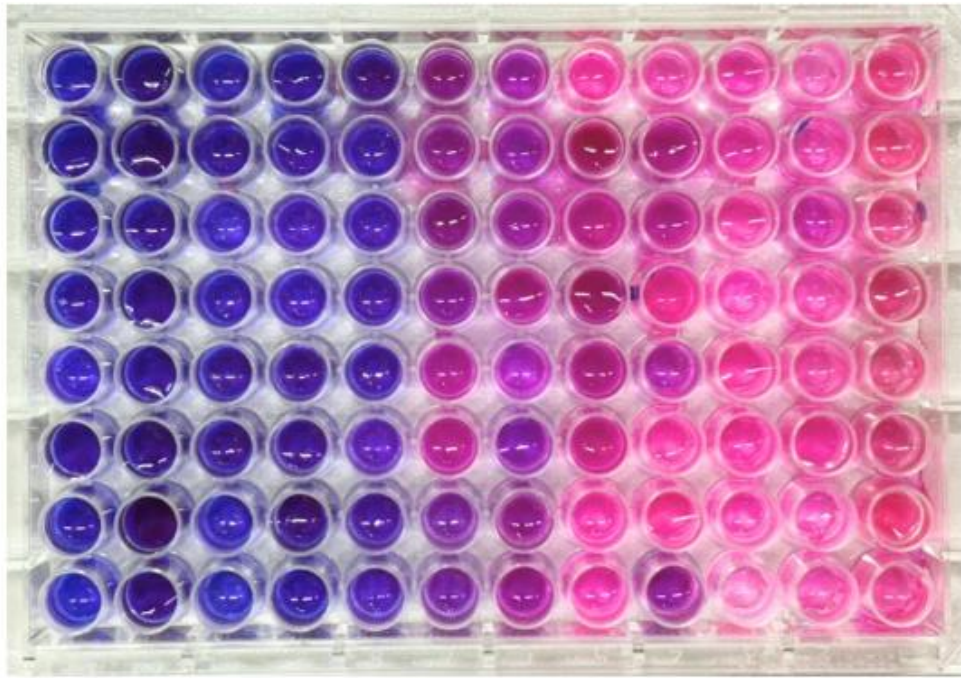


B. Proceso de Incubación









C. Constancia de uso de Laboratorio de la UCSM

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIZACION

El que suscribe *Professor* Luis Alberto Ponce Soto Ph.D. con DNI N°29546298, Docente Investigador y Coordinador del laboratorio de Química de Proteínas del Vicerrectorado de Investigación F-401, de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DECLARO:

Que el trabajo de Investigación denominado: ***"CAPSAICINA EN ESTADO LIBRE COMO ESTRATEGIA INHIBIDORA ANTI-BIOFILM EN *Enterococcus faecalis*, 2025"***, fue realizado por el Alumno: ***ANTONIO ALESSANDRO OLVEA CUENTAS*** y el docente ***Dr. Rufo Alberto Figueroa Banda***, en las instalaciones del laboratorio de Química de Proteínas, bajo mi supervisión.

Se expide la presente a solicitud de los interesados para los fines debidos.

Arequipa, 14 de mayo del 2026.

Atentamente,



*Professor Luis Alberto Ponce Soto
Coordinador del Laboratorio de Química de Proteínas
Vicerrectorado de Investigación
Universidad Católica de Santa María*

ORCID: 0000-0001-5076-2913
<https://orcid.org/0000-0001-5076-2913>
Other IDs
Scopus Author ID: 8987609300
ResearcherID: B-1328-2017.