

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Odontología**  
**Escuela Profesional de Odontología**



**Actividad antibacteriana de la capsaicina frente a la  
enterococcus faecalis, UCSM Arequipa 2025**

Autor:

**Soto Castellanos, Patryck Eduardo**

**ORCID:0009-0007-9513-6259**

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Asesor:

**Dr. Figueroa Banda, Rufo Alberto**

**ORCID:0000-0001-7249-0270**

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**ODONTOLOGIA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 07 de Octubre del 2025

**Dictamen: 015473-C-EPO-2025**

Visto el borrador del expediente 015473, presentado por:

**2007600961 - SOTO CASTELLANOS PATRYCK EDUARDO**

Titulado:

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA CAPSAICINA FRENTE A LA ENTEROCOCCUS  
FAECALIS,UCSM AREQUIPA 2025**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

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

**CIRUJANO DENTISTA**

**29666930 - ROSADO LINARES MARTIN LARRY  
DICTAMINADOR**



**29547819 - ALVAREZ MONGE RUTH  
DICTAMINADOR**



**29649041 - ZEVALLOS CHAVEZ MARCO ANTONIO  
DICTAMINADOR**



# Actividad antibacteriana de la capsaicina frente a la enterococcus faecalis,UCSM Arequipa 2025

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>Submitted to Universidad Católica de Santa María</b> Trabajo del estudiante	<b>2%</b>
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>3</b>	<b>www.coursehero.com</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>4</b>	<b>patents.google.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>5</b>	<b>Irving Pablo Fernandez Calle, Edwin Macias Limachi, Abigail Marisol Vargas Ticona, Jenny Paula Aguilar Avalos et al.</b> "REVOLUCIONANDO A ENDODONTIA: A IMPORTÂNCIA DE MÚLTIPLOS IRRIGUANTES PARA A DESINFECÇÃO EFICAZ DO SISTEMA DE CANAL RADICULAR UMA REVISÃO NARRATIVA", RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218, 2024 Publicación	<b>&lt;1%</b>
<b>6</b>	<b>repositorio.puce.edu.ec</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>7</b>	<b>alicia.concytec.gob.pe</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>8</b>	<b>es.scribd.com</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1%</b>
<b>9</b>	<b>www.frontiersin.org</b> Fuente de Internet	

## DEDICATORIA

A Dios, por haber sido mi guía, mi refugio y mi fortaleza en cada paso de este largo camino. Sin su luz, este logro no habría sido posible. Todo lo puedo en Cristo que me fortalece.

A mi asesor de tesis, el Dr. Alberto Figueroa Banda expresar le mi más sincero agradecimiento, cuya experiencia, paciencia y apoyo constante fueron fundamentales para la realización de este trabajo. Su guía no solo me proporcionó claridad académica, sino también motivación en momentos de duda. Su confianza en mí me impulsó a seguir adelante y superar los desafíos.

A mi familia, especialmente a mis padres, les agradezco profundamente su amor incondicional y su apoyo constante. Su fe en mí ha sido el motor que me permitió completar este camino.

A mi alma mater la Universidad Católica de Santa María, institución que me acogió desde los inicios de mi formación profesional y que se convirtió en el espacio donde crecí no solo académicamente, sino también como ser humano así mismo marcó de manera indeleble mi formación académica y personal.

Finalmente, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a la realización de esta tesis. A quienes me ofrecieron su tiempo, sus conocimientos, su paciencia y su aliento en los momentos más exigentes de este proceso. A todos ustedes, gracias de corazón.

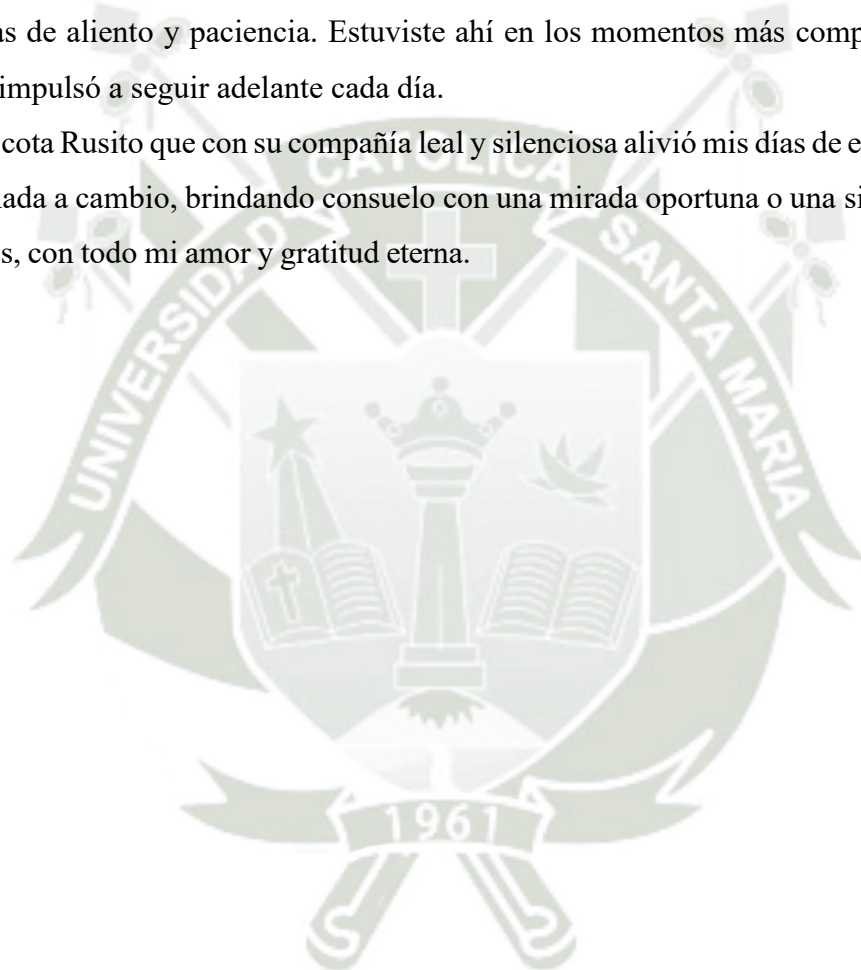
## AGRADECIMIENTOS

A mis amados padres, Eduardo y Kelly, quienes creyeron en mí incluso cuando yo dudaba. Gracias por ser mi pilar, por su amor incondicional y por acompañarme con entereza, fe y sabiduría hasta el final. Esta meta también es suya.

A mi querida esposa Selene, por su apoyo constante, por su comprensión en los momentos difíciles, por las palabras de aliento y paciencia. Estuviste ahí en los momentos más complejos y fuiste el motor que me impulsó a seguir adelante cada día.

Y a mi fiel mascota Rusito que con su compañía leal y silenciosa alivió mis días de estudio. Por estar allí, sin pedir nada a cambio, brindando consuelo con una mirada oportuna o una simple presencia.

A todos ustedes, con todo mi amor y gratitud eterna.



## RESUMEN

En la odontología moderna, uno de los mayores desafíos es el tratamiento de infecciones endodónticas causadas por *Enterococcus faecalis*, una bacteria grampositiva responsable del 24% al 77% de los fracasos en tratamientos de conductos radiculares. Su resistencia a antibióticos comunes, como amoxicilina y clindamicina, aumenta la complejidad de su erradicación. Esta resistencia se refleja en estudios que indican una tasa de fracaso de hasta el 77% en infecciones crónicas donde *E. faecalis* es el principal agente causal.

En este contexto, se evaluó la actividad antimicrobiana de la capsaicina, con el objetivo de determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a cepas de *E. faecalis*. Para ello, se emplearon técnicas de microdilución seriada y medición espectrofotométrica para analizar la inhibición del crecimiento bacteriano. Los resultados mostraron que la capsaicina exhibe una clara relación dosis-respuesta en su efectividad antimicrobiana. La CMI frente a *E. faecalis* se sitúa en 0.6 mg/mL, donde se observa una inhibición significativa del crecimiento bacteriano. El análisis estadístico (Welch ANOVA  $F=363.7$ ;  $gl=11,32.8$ ;  $p<10^{-15}$ ; Kruskal-Wallis  $H=262.0$ ;  $p<10^{-15}$ ) corroboró esta tendencia dosis-respuesta, con un ajuste sigmoidal 4PL que estimó un  $IC_{50}$  de 0.686 mg/mL ( $IC_{95\%}$ : 0.607–0.775) y señaló un punto de transición en el intervalo de 0.3–0.6 mg/mL.

En conclusión, la capsaicina muestra un gran potencial como tratamiento alternativo para infecciones causadas por *E. faecalis*. Su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano a concentraciones bajas sugiere que podría ser una opción terapéutica efectiva, incluso a dosis más bajas que otros antimicrobianos comunes. Esto la convierte en una opción valiosa para complementar o reemplazar tratamientos convencionales en casos resistentes. Sin embargo, se requieren más estudios clínicos para confirmar su eficacia y seguridad en la práctica odontológica.

**Palabras clave:** *Enterococcus faecalis*, capsaicina, resistencia antimicrobiana.

## ABSTRACT

In modern dentistry, one of the biggest challenges is the treatment of endodontic infections caused by *Enterococcus faecalis*, a gram-positive bacterium responsible for 24% to 77% of failures in root canal treatments. Its resistance to common antibiotics, such as amoxicillin and clindamycin, increases the complexity of its eradication. This resistance is reflected in studies showing a failure rate of up to 77% in chronic infections where *E. faecalis* is the primary causative agent.

In this context, the antimicrobial activity of capsaicin was evaluated, aiming to determine its minimum inhibitory concentration (MIC) against *E. faecalis* strains. Serial dilution and spectrophotometric measurement techniques were employed to analyze bacterial growth inhibition. The results showed that capsaicin exhibits a clear dose-response relationship in its antimicrobial effectiveness. The MIC against *E. faecalis* was found to be 0.6 mg/mL, where a significant inhibition of bacterial growth was observed. Statistical analysis (Welch ANOVA  $F=363.7$ ;  $gl=11,32.8$ ;  $p<10^{-15}$ ; Kruskal-Wallis  $H=262.0$ ;  $p<10^{-15}$ ) confirmed this dose-response trend, with a 4PL sigmoidal fit estimating an  $IC_{50}$  of 0.686 mg/mL ( $IC_{95\%}$ : 0.607–0.775) and identifying a transition point in the 0.3–0.6 mg/mL range.

In conclusion, capsaicin shows great potential as an alternative treatment for infections caused by *E. faecalis*. Its ability to inhibit bacterial growth at low concentrations suggests that it could be an effective therapeutic option, even at lower doses than other common antimicrobials. This makes it a valuable option to complement or replace conventional treatments in resistant cases. However, further clinical studies are needed to confirm its efficacy and safety in dental practice.

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, capsaicin, antimicrobial resistance.

## ÍNDICE

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I.....	4
PLANTEAMIENTO TEÓRICO .....	4
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	8
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	8
1.4. OBJETIVO.....	9
1.5. MARCO TEÓRICO.....	10
1.5.1 Marco conceptual.....	10
1.5.2. Antecedentes investigativos .....	30
1.6 HIPÓTESIS .....	36
CAPÍTULO II .....	37
PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.....	37
2.1. DISEÑO METODOLÓGICO .....	38
2.2. MUESTRA.....	38
2.3. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS.....	39
2.4. PLAN DE ANÁLISIS.....	41
2.5. RECURSOS.....	42
CAPÍTULO III.....	43
RESULTADOS .....	43
3.1. RESULTADOS.....	44
3.2. DISCUSIÓN .....	52

3.3. CONCLUSIONES .....	54
3.4. RECOMENDACIONES.....	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
ANEXO.....	62



## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Tabla de variables.</i> .....	38
<i>Tabla 2. Lecturas obtenidas por espectrofotometría,</i> .....	45
<i>Tabla 3. Estadística descriptiva,</i> .....	46
<i>Tabla 4. Pruebas globales.</i> .....	51



## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Gradiente de dilución de la configuración de concentraciones.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 2. Configuración de sustancias en posillo.....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 3. Perfil IC25 / IC50 / IC90.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 4. Distribución por réplicas.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 5. Ajuste sigmoideal 4PL.....</i>	<i>50</i>



## INTRODUCCIÓN

En la odontología, uno de los mayores retos a los que se enfrenta la práctica clínica es el tratamiento de las infecciones endodónticas persistentes, especialmente aquellas causadas por patógenos que han desarrollado resistencia a los antibióticos convencionales. En este contexto, *Enterococcus faecalis* ha emergido como uno de los principales agentes patógenos involucrados en los fracasos de los tratamientos de conductos radiculares. Esta bacteria, grampositiva y anaeróbica facultativa, ha sido responsable de un alto porcentaje de infecciones crónicas en la endodoncia. Su capacidad para sobrevivir en condiciones extremas dentro de los conductos radiculares tratados y su notable resistencia a múltiples antibióticos, incluidos los más comunes como amoxicilina y clindamicina, han sido factores clave que contribuyen a la alta tasa de fracasos en estos tratamientos (1).

Las infecciones endodónticas son una de las principales causas de fracaso en los procedimientos de conductos radiculares, que se realizan con el objetivo de eliminar la infección y preservar el diente. La tasa de fracaso de estos tratamientos puede alcanzar hasta el 77% en algunos casos, lo que resalta la importancia de encontrar soluciones alternativas más efectivas (2). Esta tasa de fracaso está estrechamente relacionada con la resistencia de las bacterias a los antibióticos comunes, la formación de biopelículas y la capacidad de *E. faecalis* para sobrevivir en ambientes de bajo oxígeno y condiciones adversas, como el pH elevado generado por los agentes desinfectantes convencionales (3). La resistencia bacteriana es un fenómeno cada vez más común en la medicina moderna, y su impacto en la odontología es considerable. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha identificado la resistencia antimicrobiana como una de las principales amenazas para la salud pública mundial, con proyecciones que indican que las muertes relacionadas con la resistencia a los antibióticos podrían superar los 10 millones anualmente para 2050 si no se desarrollan nuevas estrategias terapéuticas. Este fenómeno se ha agravado por el uso excesivo y prolongado de antibióticos, lo que contribuye a la selección de cepas resistentes. En el contexto odontológico, esto ha resultado en la necesidad de emplear antibióticos de segunda línea y tratamientos más costosos, lo que aumenta tanto el costo de los procedimientos como el tiempo de recuperación de los pacientes(3)(4)(5).

A pesar de la eficacia de los tratamientos convencionales con agentes antimicrobianos como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y la clorhexidina, estos no siempre son efectivos para erradicar *E.*

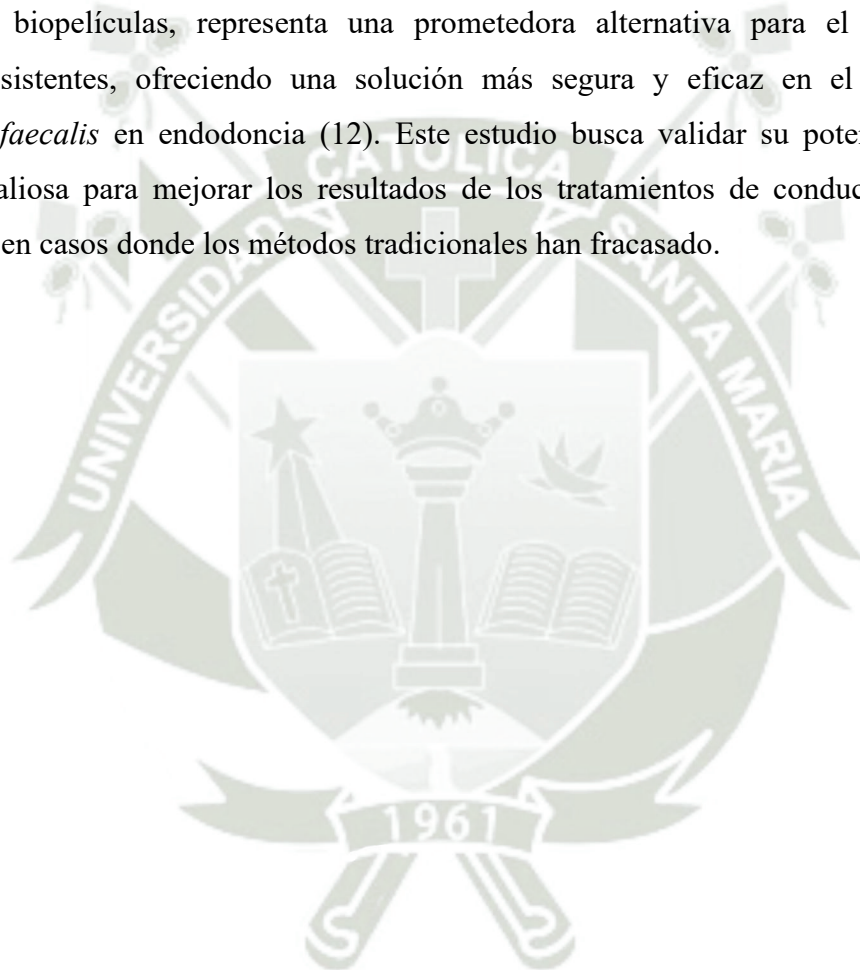
*faecalis* en su totalidad, especialmente cuando la bacteria se encuentra en su forma de biopelícula. Las biopelículas bacterianas representan una barrera física que protege a las bacterias de los efectos de los antimicrobianos, lo que les permite persistir en los conductos radiculares incluso después de un tratamiento exhaustivo. Además, *E. faecalis* tiene la capacidad de formar estas biopelículas en condiciones extremadamente alcalinas, lo que aumenta la dificultad para erradicarla utilizando los métodos tradicionales (4)(7).

La situación se agrava aún más cuando se consideran los efectos secundarios de los antibióticos comunes, especialmente los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), que son utilizados en muchos tratamientos dentales para controlar el dolor y la inflamación. Aunque los AINEs son efectivos en el tratamiento de estas afecciones, su uso prolongado puede tener efectos adversos significativos sobre la salud, como daño renal, gastrointestinal y cardiovascular, lo que subraya la necesidad urgente de alternativas más seguras y efectivas. Estos efectos adversos, sumados a la creciente resistencia bacteriana, hacen evidente la necesidad de investigar nuevos agentes antimicrobianos que puedan complementar o incluso reemplazar los tratamientos convencionales (8).

En este contexto, la capsaicina, un compuesto bioactivo presente en los frutos del género *Capsicum*, ha ganado atención debido a sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y analgésicas. La capsaicina es conocida principalmente por su capacidad para inducir una sensación de ardor, pero sus efectos terapéuticos van más allá del alivio del dolor. En estudios previos, la capsaicina ha demostrado tener una notable actividad antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas. Su acción se debe a su capacidad para alterar la membrana celular bacteriana, lo que aumenta su permeabilidad y facilita la salida de iones esenciales como potasio y calcio, conduciendo finalmente a la muerte celular bacteriana. Diversos estudios han demostrado que la capsaicina es eficaz en la inhibición de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras (9). Además, algunos estudios han sugerido que la capsaicina podría ser capaz de inhibir la formación de biopelículas, un factor crucial en la persistencia de infecciones bacterianas en los conductos radiculares. Esta capacidad de interferir en la formación de biopelículas y su efectividad a concentraciones bajas la convierten en una candidata prometedora para su uso como irrigante o medicación intracanal en endodoncia (10). El objetivo de este estudio es evaluar la actividad antimicrobiana de la capsaicina frente a cepas de *Enterococcus faecalis*, con el fin de determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI). La hipótesis es que la capsaicina puede ofrecer una alternativa efectiva a los antibióticos tradicionales,

proporcionando una opción terapéutica menos invasiva y más segura para el tratamiento de infecciones endodónticas persistentes. Además, dado su bajo costo y la disponibilidad de su fuente natural, la capsaicina podría ser una solución económica y sostenible para los sistemas de salud pública, contribuyendo a la lucha contra la resistencia antimicrobiana (11).

En conclusión, la creciente resistencia bacteriana, junto con los efectos adversos de los antibióticos convencionales, subraya la necesidad de explorar y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas. La capsaicina, con sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y su capacidad para prevenir la formación de biopelículas, representa una prometedora alternativa para el tratamiento de infecciones resistentes, ofreciendo una solución más segura y eficaz en el tratamiento de *Enterococcus faecalis* en endodoncia (12). Este estudio busca validar su potencial como una herramienta valiosa para mejorar los resultados de los tratamientos de conductos radiculares, especialmente en casos donde los métodos tradicionales han fracasado.





**CAPÍTULO I**  
**PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## 1.1. Planteamiento del problema.

Las infecciones endodónticas representan uno de los mayores desafíos en la práctica odontológica, tanto para los profesionales como para los pacientes. En particular, las infecciones causadas por *Enterococcus faecalis* han sido reconocidas como una de las principales causas de fracasos en tratamientos de conductos radiculares. A pesar de los avances en las técnicas de tratamiento y el uso de diversas soluciones antimicrobianas, estas infecciones persisten y continúan siendo difíciles de erradicar, lo que lleva a la recurrencia de la infección y, en muchos casos, a la pérdida del diente afectado. Este fenómeno está relacionado con la resistencia de *E. faecalis* a los antibióticos convencionales y su capacidad para formar biopelículas resistentes, lo que agrava aún más el tratamiento de estas infecciones. *Enterococcus faecalis* es una bacteria grampositiva que pertenece al género *Enterococcus* y se encuentra comúnmente en la microbiota intestinal humana. Sin embargo, su capacidad para convertirse en un patógeno oportunista lo hace especialmente relevante en infecciones nosocomiales y, en particular, en el contexto de las infecciones endodónticas (8). Se estima que *E. faecalis* está presente en un 24% a 77% de los casos de infecciones endodónticas crónicas, lo que subraya su papel como agente causal principal de fracasos en los tratamientos de conductos radiculares. Una de las características más preocupantes de *E. faecalis* es su resistencia a los antibióticos. A lo largo de los años, esta bacteria ha desarrollado resistencia tanto intrínseca como adquirida a una amplia gama de agentes antimicrobianos, incluidos los antibióticos de primera línea utilizados en la odontología, como la amoxicilina, clindamicina y los  $\beta$ -lactámicos (penicilina, ampicilina). La resistencia bacteriana se ha asociado con varios factores, tales como la capacidad de formar biopelículas, lo que impide la penetración efectiva de los antimicrobianos en el interior de la célula bacteriana, y la habilidad para intercambiar material genético relacionado con la resistencia (9).

Estudios recientes han mostrado que la resistencia de *E. faecalis* puede oscilar entre el 30% y el 70% para ciertos antibióticos comunes, lo que dificulta aún más el tratamiento efectivo de las infecciones causadas por esta bacteria. En un estudio realizado por Nair et al. (2005), se encontró que *E. faecalis* presentaba una tasa de resistencia del 60% a los antibióticos comúnmente utilizados en endodoncia, lo que resalta la necesidad urgente de explorar tratamientos alternativos. Este

fenómeno se ve reflejado en la literatura, donde se documenta que *E. faecalis* es capaz de resistir incluso a los tratamientos convencionales con hipoclorito de sodio y clorhexidina, dos de los desinfectantes más utilizados en endodoncia. La capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas es uno de los mecanismos más importantes que contribuye a su persistencia en el conducto radicular y su resistencia a los tratamientos antimicrobianos. Las biopelículas son comunidades bacterianas adheridas a superficies biológicas o inorgánicas, protegidas por una matriz extracelular que impide la penetración de los antimicrobianos y del sistema inmunológico del huésped. Las bacterias dentro de una biopelícula son entre 10 y 1000 veces más resistentes a los antibióticos que en su forma libre, lo que aumenta enormemente la dificultad para erradicar las infecciones (10)(11). Un estudio realizado por Figdor et al. (2007) mostró que *E. faecalis* es capaz de formar biopelículas altamente resistentes dentro de los conductos radiculares, lo que contribuye a la persistencia de la infección, incluso después de tratamientos exhaustivos. Esta característica ha sido identificada como uno de los principales factores que explican el fracaso de los tratamientos endodónticos, ya que las biopelículas protegen a las bacterias de los desinfectantes y antibióticos convencionales utilizados en el tratamiento. La resistencia aumentada de las biopelículas de *E. faecalis* frente al hipoclorito de sodio y la clorhexidina subraya la necesidad de explorar nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de estas infecciones (12).

Los antibióticos convencionales han sido la base del tratamiento de las infecciones endodónticas durante décadas. Sin embargo, su uso prolongado y el incremento de la resistencia bacteriana han generado una creciente preocupación por los efectos secundarios asociados a estos medicamentos. En particular, los antibióticos de la clase de los AINEs, ampliamente utilizados en odontología para tratar el dolor y la inflamación, pueden causar daños a largo plazo, como úlceras gástricas, sangrados y problemas renales, entre otros (12). Estos efectos adversos refuerzan la necesidad de encontrar alternativas terapéuticas que no solo sean eficaces en la erradicación de las infecciones, sino que también reduzcan los riesgos para los pacientes.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que alrededor de 700,000 muertes anuales son atribuibles a la resistencia antimicrobiana, y esta cifra podría superar los 10 millones de muertes para 2050 si no se implementan medidas efectivas para controlar el uso de antibióticos. Esta problemática resalta la urgencia de investigar nuevas terapias antimicrobianas que no solo sean efectivas contra las bacterias resistentes, sino que también presenten un perfil de seguridad superior (10).

La búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos es esencial para combatir las infecciones bacterianas resistentes, especialmente aquellas que son responsables de fracasos en tratamientos endodónticos. La capsaicina, un compuesto natural presente en los frutos del género *Capsicum*, ha demostrado una notable actividad antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas. La capsaicina ha sido estudiada por sus propiedades analgésicas y antiinflamatorias, pero también se ha encontrado que tiene un fuerte efecto antimicrobiano, lo que la convierte en una alternativa prometedora en el tratamiento de infecciones orales y endodónticas. Numerosos estudios han demostrado que la capsaicina tiene una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) baja frente a diversas bacterias patógenas. En estudios realizados por Gulati et al. (2015), se encontró que la capsaicina mostró una CMI de 0.2 mg/mL para *Staphylococcus aureus* y de 0.5 mg/mL para *Escherichia coli*, lo que sugiere que la capsaicina podría ser eficaz a concentraciones mucho menores que los antibióticos convencionales. Su capacidad para alterar la membrana celular bacteriana y su efecto sobre la permeabilidad celular son mecanismos clave que contribuyen a su actividad antimicrobiana. Además, la capsaicina ha demostrado ser capaz de inhibir la formación de biopelículas, lo que la convierte en una opción atractiva para tratar infecciones resistentes en el conducto radicular (14).

En el contexto de *E. faecalis*, la capsaicina ha mostrado un gran potencial. En estudios preliminares, se ha demostrado que la capsaicina puede inhibir la formación de biopelículas de *E. faecalis* a concentraciones tan bajas como 0.5 mg/mL, lo que sugiere que podría ser una alternativa efectiva para complementar o reemplazar los tratamientos antimicrobianos convencionales en la odontología. Además, su perfil de seguridad, dado que es un compuesto natural con bajo riesgo de generar efectos secundarios graves, refuerza su potencial como una opción terapéutica más segura en comparación con los antibióticos tradicionales (5).

La persistencia de infecciones endodónticas causadas por *E. faecalis* y su resistencia a los tratamientos convencionales son problemas significativos en la odontología moderna. Las altas tasas de fracaso de los tratamientos de conductos radiculares, que se sitúan entre el 24% y el 77%, subrayan la urgencia de encontrar alternativas terapéuticas más eficaces y menos riesgosas. El uso de antibióticos de segunda línea y técnicas adicionales como la irrigación con láser y la terapia fotodinámica han mostrado ser útiles, pero aún no logran resolver completamente el problema de las infecciones persistentes. Por ello, la investigación de nuevos agentes antimicrobianos, como la

capsaicina, es crucial para mejorar los resultados de los tratamientos endodónticos y reducir la carga de infecciones orales resistentes (6).

La resistencia bacteriana, la capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas y la falta de soluciones terapéuticas efectivas resaltan la necesidad de nuevas alternativas. La capsaicina, con sus propiedades antimicrobianas y su capacidad para inhibir la formación de biopelículas, representa una opción prometedora que podría revolucionar el tratamiento de infecciones endodónticas resistentes. Este estudio busca evaluar su efectividad y contribuir al desarrollo de tratamientos más seguros y eficaces en la odontología moderna.

## 1.2. Pregunta de investigación.

¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria de la capsaicina frente a cepas de *Enterococcus faecalis* evaluadas in vitro?

## 1.3. Justificación.

**Justificación general.** Las infecciones endodónticas persistentes representan entre 24 % y 77 % de los fracasos de los tratamientos de conducto, con *Enterococcus faecalis* como principal agente etiológico. Diferentes estudios han demostrado que las bacterias en biopelícula pueden ser entre 10 y 1 000 veces más resistentes a los antimicrobianos que las células planctónicas, lo que explica la elevada tasa de reinfección clínica. Esta situación se agrava por la resistencia antimicrobiana (RAM): la OMS calcula actualmente ~700 000 muertes anuales por RAM y proyecta más de 10 millones para 2050 si no se desarrollan nuevas terapias. Explorar la capsaicina un fitocompuesto con probada acción bactericida se vuelve, por tanto, prioritario para reducir la carga clínica y económica que provoca *E. faecalis* en la odontología moderna.

**Justificación científica.** Los ensayos preliminares muestran que la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la capsaicina frente a *E. faecalis* se sitúa por encima de 0.6 mg/mL y alcanza su punto óptimo alrededor de 1.25 mg/mL, con pérdidas de actividad notorias por debajo de ese umbral. El protocolo previsto replica esa curva dosis-respuesta mediante microdiluciones seriadas (solución madre 2 mg/mL, dilución 1:2 entre 128 y 0.03 µg/mL), lectura de turbidez McFarland 0.5 ( $\approx$ 14 NTU) y cuantificación espectrofotométrica en lector ELISA (13). Se emplearán 10 placas

Petri (cinco por grupo) con una cepa estándar de *E. faecalis*, lo que garantiza potencia estadística suficiente y reproducción exacta de las condiciones endocanal. Además, la literatura muestra que la capsaicina inhibe otras bacterias a tan solo 0.2–0.5 mg/mL, concentraciones inferiores a las requeridas por amoxicilina o clindamicina para lograr el mismo efecto *in vitro*; esa eficacia a dosis bajas refuerza su potencial como irrigante o medicación intracanal de nueva generación.

**Justificación económica.** El fracaso endodóntico obliga con frecuencia al uso de antibióticos de segunda línea, láseres o sistemas de irrigación activada, lo que incrementa tanto el tiempo de sillón como el coste total del tratamiento, según reportes clínicos citados. Sustituir parcialmente estos recursos por un agente natural como la capsaicina eficaz a 0.3 mg/mL frente a patógenos donde clindamicina necesita  $\geq 1$  mg/mL puede traducirse en menos fármacos, menos consumibles y, en consecuencia, menor gasto para sistemas públicos y para pacientes (11). Además, al disminuir la prescripción de antibióticos, se evita el sobrecosto asociado a hospitalizaciones derivadas de RAM.

**Justificación social.** La persistencia de *E. faecalis* tras la terapia convencional alcanza el 70 % de los casos, con recurrencias documentadas del 77 % en infecciones crónicas (1). Cada retratamiento implica más dolor, pérdida laboral y riesgo de exodoncia definitiva, afectando la función masticatoria y la autoestima. Una irrigación a base de capsaicina capaz de reducir significativamente la carga bacteriana puede disminuir el número de consultas repetidas y mejorar la calidad de vida de poblaciones donde el acceso a odontología especializada es limitado.

**Justificación ambiental.** Las tasas de resistencia a clindamicina o eritromicina ya oscilan entre 10 % y 20 %, llegando al 100 % en ciertas cepas de *E. faecalis*; cuanto más antibiótico se emplea, mayor es su vertido y la presión selectiva sobre la microbiota ambiental. La capsaicina, extraída de *Capsicum spp.*, es biodegradable y prescinde de síntesis petroquímica. Su uso clínico a microgramos por mililitro reduce la huella de carbono y la liberación de residuos farmacéuticos, contribuyendo a frenar los ciclos de resistencia que los antibióticos industriales alimentan.

## 1.4. Objetivo

Hallar la concentración mínima inhibitoria de la capsaicina frente a cepas de *Enterococcus faecalis* evaluadas *in vitro*.

## 1.5. Marco teórico

### 1.5.1 Marco conceptual

En la odontología contemporánea, uno de los problemas más desafiantes es el tratamiento de infecciones bacterianas que son resistentes a los antibióticos. Las infecciones endodónticas, especialmente aquellas causadas por *E. faecalis*, se encuentran entre las principales causas de fracasos en los tratamientos de conductos radiculares. Ha mostrado una alta capacidad de persistir en condiciones extremas, como en los conductos radiculares tratados, y se asocia con una elevada resistencia a antibióticos. De hecho, se estima que aproximadamente el 24% de las infecciones endodónticas son causadas por *E. faecalis*, y estas infecciones tienen una alta tasa de recurrencia debido a la resistencia bacteriana (5). La resistencia antimicrobiana (RAM) es una de las mayores amenazas para la salud pública global, con un impacto particularmente negativo en la odontología. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las infecciones bacterianas resistentes a los antibióticos contribuyen a más de 700,000 muertes anuales en todo el mundo, y se estima que esta cifra podría superar los 10 millones para el año 2050 si no se toman medidas eficaces (16). En el ámbito odontológico, la resistencia a antibióticos comunes como la amoxicilina y la clindamicina complica el tratamiento de infecciones endodónticas, lo que incrementa los costos de los tratamientos y el tiempo de recuperación de los pacientes. La persistencia de estas infecciones puede llevar incluso a la pérdida de dientes y, en casos extremos, a infecciones sistémicas graves (17).

En este contexto, la búsqueda de alternativas antimicrobianas que puedan reemplazar o complementar los antibióticos tradicionales se vuelve esencial. La capsaicina, un compuesto bioactivo encontrado en los frutos de *Capsicum spp.*, ha demostrado propiedades antimicrobianas en diversos estudios. Aunque la mayoría de las investigaciones sobre la capsaicina se han centrado en sus efectos analgésicos y antiinflamatorios, su actividad contra microorganismos patógenos es aún insuficientemente explorada en el campo odontológico. En un estudio reciente, se reportó que la capsaicina mostró una inhibición significativa del crecimiento de diversas cepas bacterianas a concentraciones tan bajas como 0.5 mg/mL, lo que sugiere su potencial como tratamiento alternativo para infecciones resistentes (18). Este estudio tiene como objetivo evaluar la efectividad de la capsaicina como agente antimicrobiano, específicamente en el tratamiento de infecciones endodónticas. La hipótesis de que la capsaicina podría ofrecer una alternativa viable a los

antibióticos tradicionales se apoya en su capacidad demostrada para alterar las membranas celulares bacterianas y su actividad antimicrobiana en otras áreas de la medicina. Si los resultados de este estudio son positivos, la capsaicina podría convertirse en una herramienta importante en la lucha contra las infecciones orales resistentes, ofreciendo un enfoque más sostenible y menos propenso a generar resistencia en comparación con los antibióticos convencionales (19).

Conceptos Fundamentales Capsaicina:

La capsaicina es un compuesto fenólico natural perteneciente a la clase de los capsaicinoides, los cuales son responsables del sabor picante característico de los pimientos del género *Capsicum*. Este compuesto es un agonista selectivo del receptor TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1), que está involucrado en la detección de estímulos térmicos y nocivos, lo que provoca la sensación de ardor cuando se ingiere o se aplica tópicamente. La capsaicina se ha utilizado tanto en la medicina tradicional como en la farmacología moderna debido a sus propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antimicrobianas. Su capacidad para inducir la liberación de substance P, un neurotransmisor que transmite señales de dolor, contribuye a la desensibilización de los receptores del dolor, lo que la convierte en un analgésico tópico eficaz para el tratamiento de afecciones como la neuropatía diabética, artritis y dolores musculares crónicos. En cuanto a sus propiedades antimicrobianas, la capsaicina ha demostrado actividad frente a diversos patógenos, incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas, lo que ha generado interés en su potencial como alternativa terapéutica en el tratamiento de infecciones bacterianas, particularmente aquellas que involucran cepas resistentes a antibióticos. La acción antimicrobiana de la capsaicina se atribuye a su capacidad para alterar la integridad de las membranas celulares bacterianas, lo que induce cambios en la permeabilidad y la fuga de iones esenciales, afectando la viabilidad celular de las bacterias (18). Además, la capsaicina también tiene efectos sobre las proteínas de choque térmico bacterianas, contribuyendo al estrés oxidativo celular que da lugar a la inhibición del crecimiento bacteriano.

### **Origen y Características Químicas**

La capsaicina es un alcaloide que se encuentra principalmente en los frutos de plantas del género *Capsicum*, que incluye especies como el pimiento rojo, jalapeño, habanero y chile de cayena. En términos de su estructura química, la capsaicina es un compuesto lipofílico con una fórmula molecular de  $C_{18}H_{27}NO_3$ . Se compone de una cadencia de 18 átomos de carbono, que está unida a un grupo amida derivado de la unión entre un ácido graso y una vanilamina (un compuesto fenólico derivado

de la vanilina). Este grupo amida le confiere la capacidad de interactuar con los receptores TRPV1 y producir su acción analgésica. La lipofilia de la capsaicina es una de sus características más importantes, ya que le permite disolverse en solventes orgánicos como alcohol y aceites, facilitando su absorción a través de las membranas biológicas. Su solubilidad en grasa es también responsable de su acción duradera cuando se aplica tópicamente, ya que puede penetrar las capas superficiales de la piel y permanecer activa durante un período prolongado. A pesar de su alta lipofilia, la capsaicina no es soluble en agua, lo que limita su distribución en medios acuosos y afecta su biodisponibilidad sistémica cuando se administra por vía oral (17). La escala Scoville, desarrollada en 1912 por el farmacéutico estadounidense Wilbur Scoville, es una medida comúnmente utilizada para cuantificar la concentración de capsaicina en los pimientos y la intensidad del picante. Esta escala se mide en unidades Scoville (SHU), y los pimientos de mayor contenido de capsaicina, como el habanero o el Carolina Reaper, pueden alcanzar más de 2,000,000 SHU, mientras que los pimientos más suaves, como el pimiento morrón, tienen un valor cercano a 0 SHU (19). Usos Tradicionales y Terapéuticos (Analgésico, Anti- , etc.) La capsaicina ha sido utilizada tradicionalmente en diversas culturas, particularmente en las regiones de Asia y América Latina, por sus propiedades terapéuticas. En la medicina tradicional india y china, los pimientos picantes se empleaban para tratar afecciones digestivas, como la indigestión, los cólicos y el dolor estomacal. Además, se les atribuía el poder de estimular la circulación sanguínea y aliviar los resfriados y dolores musculares. Desde un punto de vista terapéutico moderno, la capsaicina es utilizada principalmente en cremas y ungüentos tópicos para el alivio del dolor asociado con diversas afecciones como artritis, neuropatía diabética, dolor postquirúrgico y dolores musculares crónicos. El mecanismo por el cual la capsaicina ejerce su efecto analgésico se basa en su capacidad para inducir la liberación y posterior agotamiento de substance P, un neuropeptido que está involucrado en la transmisión de señales de dolor a lo largo de las fibras nerviosas. Al agotar las reservas de substance P en las terminales nerviosas, la capsaicina reduce la capacidad de las fibras nerviosas de transmitir la sensación de dolor, lo que proporciona alivio a los pacientes que sufren de dolores crónicos (20). Además de sus propiedades analgésicas, la capsaicina también posee efectos antiinflamatorios. Se ha demostrado que modula la liberación de citocinas inflamatorias, como TNF- $\alpha$  y IL-1 $\beta$ , lo que puede contribuir a reducir la inflamación en tejidos afectados por condiciones como la artritis reumatoide o la osteoartritis. En estos contextos, la capsaicina actúa inhibiendo la activación de NF- $\kappa$ B, una proteína que juega un papel crucial en la regulación de la

respuesta inflamatoria y en la inducción de la expresión de genes relacionados con la inflamación (17). La capsaicina también ha sido objeto de investigaciones que analizan su capacidad para influir en el metabolismo. Se ha encontrado que aumenta la termogénesis, el proceso por el cual el cuerpo genera calor, lo que contribuye a un aumento en el gasto energético. Este efecto ha sido explorado como una posible herramienta para el control del peso corporal, dado que se ha observado que la capsaicina puede contribuir a la reducción del apetito y a la mejora de la oxidación de las grasas. Un estudio clínico reveló que la ingesta de capsaicina puede aumentar la oxidación de grasas en un 12%, lo que sugiere su potencial en la gestión del peso corporal (21). Por último, la capsaicina ha demostrado ser efectiva contra diversas bacterias patógenas, incluidas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, dos microorganismos comúnmente responsables de infecciones orales y cutáneas. Se ha observado que la capsaicina altera las membranas lipídicas bacterianas, aumentando la permeabilidad celular y permitiendo la fuga de iones esenciales como potasio y calcio, lo que finalmente conduce a la muerte bacteriana (21).

### ***Enterococcus faecalis***

Es una bacteria grampositiva, de forma esférica, que se encuentra comúnmente en la microbiota intestinal de los humanos y otros animales. Pertenece al género *Enterococcus*, que incluye varias especies que se encuentran de manera natural en el tracto gastrointestinal, pero que también pueden ser patógenos oportunistas en diversas infecciones nosocomiales. En su morfología, *E. faecalis* presenta células en pares o cadenas cortas. Su tamaño varía entre 0.6 y 1.2 micrómetros de diámetro. Una de las características clave de *E. faecalis* es su capacidad para fermentar glucosa en condiciones anaeróbicas y aeróbicas, produciendo ácidos, pero no gas. Esta bacteria es catalasa negativa, lo que significa que no puede descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, una propiedad que la diferencia de otras bacterias grampositivas. Además, *E. faecalis* es resistente a la salinidad, pudiendo crecer en concentraciones de 6.5% de NaCl, lo que le confiere una notable capacidad para sobrevivir en ambientes con altas concentraciones de sal, como en las heridas y en las superficies hospitalarias (22). En términos de su capacidad de crecimiento, *E. faecalis* tiene una temperatura óptima de crecimiento que va de 35°C a 37°C, lo que coincide con la temperatura corporal humana, favoreciendo su proliferación en ambientes corporales (22). En cuanto a la resistencia, *E. faecalis* es particularmente eficiente en la formación de estas estructuras adheridas a superficies inanimadas y biológicas. La capacidad de formar biofilms es un factor importante en su

virulencia, ya que estos proporcionan una protección contra las defensas del huésped y los antibióticos, contribuyendo a la persistencia y resistencia de la infección en tejidos humanos.

#### Importancia Clínica y Prevalencia en Infecciones Endodónticas

*Enterococcus faecalis* es uno de los principales patógenos implicados en las infecciones endodónticas, especialmente en los casos de infecciones persistentes o recurrentes después de un tratamiento de conductos radiculares. Se estima que *E. faecalis* está presente en entre el 24% y el 77% de las infecciones endodónticas crónicas (23). La prevalencia de *E. faecalis* en las infecciones endodónticas es significativa debido a su capacidad para sobrevivir en condiciones de bajo oxígeno y en ambientes donde otros patógenos podrían no ser capaces de persistir. Su habilidad para resistir tratamientos convencionales en endodoncia lo convierte en un factor importante en los fracasos de los tratamientos de conductos radiculares. Una característica distintiva de *E. faecalis* en las infecciones endodónticas es su capacidad para invadir y colonizar el interior de los conductos radiculares, incluso en dientes previamente tratados. Este comportamiento puede resultar en la persistencia de la bacteria dentro de los conductos radiculares, que son ambientes difíciles de esterilizar completamente debido a la anatomía compleja de los mismos. Su capacidad para adherirse a dentina, cemento radicular y materiales de obturación contribuye a su persistencia a largo plazo. Además, *E. faecalis* puede inducir una respuesta inflamatoria crónica, lo que agrava la situación clínica al no permitir la curación completa del área afectada (24).

#### **Resistencia Antimicrobiana y Mecanismos de Virulencia.**

Una de las principales razones por las que *E. faecalis* se ha convertido en un patógeno significativo en las infecciones endodónticas es su notable resistencia a antimicrobianos. Esta bacteria presenta una capacidad intrínseca para resistir varios antibióticos comúnmente utilizados en la práctica odontológica, incluyendo penicilinas, aminoglucósidos y cefalosporinas. Esta resistencia se debe en parte a la ausencia de una membrana externa como la de las bacterias gramnegativas, lo que permite la entrada de ciertos antibióticos, pero al mismo tiempo tiene mecanismos de bombeo de eflujo y modificación de la diana del antibiótico. A pesar de su resistencia a los antibióticos comunes, sigue siendo susceptible a algunos antibióticos, como la vancomicina, aunque la resistencia a este antibiótico también ha comenzado a aumentar en algunas cepas debido a la transferencia de genes de resistencia (24). El mecanismo de resistencia más relevante en *E. faecalis* en el contexto de infecciones endodónticas es su capacidad para

recubrirse. Estos actúan como una barrera protectora contra la acción de los antibióticos, lo que permite que la bacteria sobreviva y prolifere incluso cuando los tratamientos farmacológicos son administrados. Estos pueden proteger a las bacterias de la acción de los leucocitos del sistema inmune, impidiendo su eliminación y facilitando la persistencia de la infección en los conductos radiculares. Además, produce una serie de factores de virulencia que contribuyen a su capacidad para colonizar tejidos y causar infecciones persistentes. Entre estos factores se incluyen las proteínas de superficie que facilitan la adherencia a las células huésped y a los tejidos duros del diente, las enzimas proteolíticas, como las proteínas de tipo Z, que degradan las proteínas de la matriz extracelular y ayudan a la diseminación de la bacteria a través de los tejidos, y las toxinas que pueden inducir daño celular y alterar la respuesta inmune del huésped. Es capaz de interrumpir el proceso de curación de los tejidos al alterar la función de las células inmunes locales, como los macrófagos y neutrófilos (25). En cuanto a su resistencia a la quimioterapia, *E. faecalis* posee una alta capacidad para intercambiar material genético, lo que facilita la adquisición de nuevos mecanismos de resistencia, como las resistencias plasmídicas a antibióticos y la resistencia inducida a la acción de los agentes antimicrobianos. Estas características hacen que las infecciones causadas por *E. faecalis* sean especialmente difíciles de tratar, y subrayan la importancia de buscar alternativas antimicrobianas efectivas, como la capsaicina, para combatir las infecciones orales resistentes (26)

### **Infecciones Endodónticas y *E. faecalis* en Odontología Características de las Infecciones Endodónticas.**

Las infecciones endodónticas se refieren a infecciones que afectan el sistema de conductos radiculares, que es la parte interna de un diente, incluyendo la pulpa dental, los nervios y los vasos sanguíneos. Estas infecciones suelen ser consecuencia de una caries dental no tratada o de una lesión traumática que expone la pulpa dental a los microorganismos presentes en la cavidad oral. La etiología de las infecciones endodónticas se basa en una colonización bacteriana que invade y deteriora la pulpa dental y los tejidos circundantes, pudiendo extenderse hacia los tejidos periapicales si no se controla adecuadamente. El desarrollo de una infección endodóntica comienza generalmente cuando una caries profunda o un traumatismo dental permite que las bacterias penetren a través del esmalte y la dentina hacia la pulpa. Una vez que las bacterias acceden al conducto radicular, empiezan a multiplicarse rápidamente debido a las condiciones propicias de baja oxigenación y abundancia de nutrientes orgánicos en este ambiente cerrado. Esta

multiplicación bacteriana provoca una inflamación de la pulpa, que puede evolucionar hacia una necrosis pulpar (muerte del tejido pulpar), lo que permite que las bacterias invadan los tejidos circundantes. Si la infección no se trata adecuadamente, las bacterias pueden migrar hacia los tejidos periapicales, es decir, las zonas que rodean el extremo de las raíces dentales, provocando una periodontitis apical o abscesos periapicales. En este punto, la infección puede volverse crónica, causando dolor intenso, hinchazón, y, en casos graves, la pérdida del diente afectado. Además, si la infección se extiende, puede provocar complicaciones sistémicas, como celulitis facial o infecciones en los huesos maxilares (osteomielitis) (27). En muchas situaciones, el tratamiento endodóntico, que implica la eliminación de la pulpa infectada y la obturación del conducto radicular con materiales sellantes, tiene como objetivo erradicar la infección. Sin embargo, las infecciones pueden persistir o reaparecer debido a la resistencia bacteriana, lo que puede hacer que el tratamiento sea menos efectivo y más complejo.

### **Principales Patógenos Involucrados.**

Las infecciones endodónticas son polimicrobianas, lo que significa que varias especies bacterianas están involucradas en el proceso infeccioso. Sin embargo, entre los patógenos más frecuentes, esta bacteria ha emergido como una de las principales bacterias asociadas a infecciones persistentes y recurrentes en el conducto radicular. Se ha observado que está presente en un 24% a 77% de los casos de infecciones endodónticas crónicas, especialmente en aquellos que no responden a tratamientos convencionales (15)(28).

Los principales patógenos involucrados en infecciones endodónticas incluyen tanto bacterias aeróbicas como anaeróbicas, lo que refleja la diversidad microbiológica de estos entornos. Las bacterias anaeróbicas como *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* son comúnmente encontradas en los conductos radiculares infectados debido a la baja concentración de oxígeno en estos ambientes. Por otro lado, bacterias grampositivas como *Streptococcus spp.* y *Enterococcus faecalis* juegan un papel crucial, especialmente en las infecciones crónicas y persistentes. *Enterococcus faecalis*, en particular.

La adhesión de *E. faecalis* a las superficies dentales y a los materiales de obturación del conducto radicular es facilitada por diversas proteínas de superficie, que interactúan con las proteínas de la matriz extracelular en la dentina y otros tejidos. Además, *E. faecalis* es capaz de invadir los túbulos dentinarios y llegar a las capas más profundas de la dentina, lo que le permite persistir en el

conducto radicular incluso después de que se haya realizado una limpieza exhaustiva (29). Otro patógeno común en las infecciones endodónticas es el género *Streptococcus*, que es conocido por ser anaeróbico facultativo y por formar parte de la microbiota normal de la cavidad bucal. Sin embargo, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus oralis* también están involucrados en las infecciones endodónticas y son importantes en la fase inicial de la infección, donde inducen inflamación y necrosis del tejido pulpar. Otros patógenos incluyen *Prevotella spp.*, *Fusobacterium spp.* y *Porphyromonas spp.*, los cuales son bacterias anaeróbicas estrictas que se encuentran predominantemente en las infecciones de conductos radiculares en fases más avanzadas de la infección. Estas bacterias suelen asociarse con abscesos periapicales y otras complicaciones que pueden complicar el tratamiento endodóntico (29).

#### 4. Propiedades Antimicrobianas de la Capsaicina

#### **Mecanismo de acción antimicrobiana.**

Papel de *E. faecalis* en la persistencia de infecciones endodónticas la persistencia de infecciones endodónticas después de un tratamiento de conductos radiculares es un reto terapéutico de primera magnitud. Entre la flora polimicrobiana que puede alojarse en el sistema de conductos, *Enterococcus faecalis* destaca por ser el microorganismo más frecuentemente aislado en fracasos o retratamientos, con tasas de detección que superan el 60 % en lesiones refractarias. Su extraordinaria capacidad para soportar estrés nutricional, variaciones de pH y medidas antimicrobianas explica por qué suele dominar el microbiota residual y perpetuar la inflamación periapical.

Los agentes antimicrobianos empleados en endodoncia actúan, de forma general, sobre cinco grandes dianas: la pared celular ( $\beta$ -lactámicos y glicopéptidos), la membrana citoplasmática (hipoclorito de sodio y lipopeptidos), la síntesis proteica (tetraciclinas, linezolid), el metabolismo de los ácidos nucleicos (fluoroquinolonas, rifampicina) y rutas metabólicas específicas como la vía del folato. A estas categorías se añade el grupo de agentes de pH extremo —sobre todo el hidróxido de calcio—, cuyo efecto depende de la desnaturalización global de proteínas y ácidos nucleicos al elevar el pH intracanal por encima de 12. (25).

En la práctica clínica, los irrigantes y medicaciones más usados son el hipoclorito de sodio (NaOCl), la clorhexidina (CHX) y el hidróxido de calcio. El NaOCl, al generar ácido hipocloroso, oxida lípidos y proteínas y disuelve el tejido necrótico, lo que lo convierte en el irrigante más

potente, aunque su eficacia disminuye cuando la biopelícula es densa o madura. La CHX, por su parte, altera la permeabilidad de la membrana bacteriana e interfiere con la salida de potasio, otorgándole una substantividad prolongada pero sin capacidad para disolver restos orgánicos. Finalmente, el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  ejerce un efecto bactericida dependiente del tiempo gracias a su pH alcalino y a la difusión de iones  $\text{OH}^-$ , aunque su desempeño frente a *E. faecalis* se ha demostrado variable. El éxito de *E. faecalis* reside en varios mecanismos de supervivencia: forma biopelículas compactas que impiden la penetración de irrigantes, utiliza un metabolismo de bajo consumo energético y mantiene su pH citoplásmico cercano a la neutralidad mediante la bomba  $\text{F}_1\text{F}_0$ -ATPasa, aun cuando el ambiente externo es extremadamente alcalino. La bacteria se adhiere al colágeno de los túbulos dentinarios profundos a través de proteínas Ace y Esp, donde puede eludir tanto la instrumentación mecánica como el contacto directo con los irrigantes. Además, genes de virulencia como *gelE* (gelatinasa) y la citolisina favorecen la degradación tisular y la inflamación periapical, prolongando el cuadro infeccioso (27).

Estas particularidades explican por qué el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  no siempre erradica la infección: estudios de transcriptómica revelan que la exposición repetida induce tolerancia y que la adición de inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, pantoprazol) o péptidos como la protamina potencia el efecto alcalino al comprometer la integridad de la membrana bacteriana. De manera análoga, se han propuesto formulaciones con nanopartículas por ejemplo, nanogeles de oro y enzimas proteolíticas (tripsina) que desorganizan la matriz, permitiendo que  $\text{NaOCl}$  o CHX penetren con mayor eficacia (30).

La evidencia acumulada obliga a plantear protocolos combinados que integren un desbridamiento mecánico exhaustivo con irrigación dinámica o activada (ultrasónica, sónica o con presión negativa) y la alternancia de irrigantes para aprovechar sinergias químicas. Cuando existen signos sistémicos o la infección se extiende a tejidos periapicales, el soporte con antibióticos sistémicos se reserva a cepas sensibles y previa confirmación microbiológica, dado el riesgo creciente de resistencias. Desde la investigación translacional surgen enfoques prometedores, como la terapia fotodinámica, los péptidos antimicrobianos diseñados y los vectores nanométricos de liberación controlada, que buscan superar la barrera de la biopelícula y la tolerancia al pH (30). sometidos a procesos de limpieza. *E. faecalis* tiene una alta tolerancia al estrés ambiental, lo que le permite sobrevivir a la deshidratación y al tratamiento con agentes antimicrobianos. Esta capacidad de

supervivencia en condiciones desfavorables es un mecanismo clave que contribuye a su persistencia y resistencia (32).

### **Estrategias Actuales para Tratar Infecciones Causadas por *E. faecalis***

El tratamiento de infecciones causadas por *Enterococcus faecalis* es un desafío en la práctica clínica endodóntica. Debido a su alta resistencia, se requieren enfoques terapéuticos más robustos y estrategias combinadas para lograr la erradicación completa de la bacteria. Algunas de las estrategias más efectivas incluyen:

Uso de desinfectantes más Eficientes:

El hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5.25% es uno de los irrigantes más utilizados en endodoncia debido a su potente actividad antimicrobiana, que incluye su capacidad para eliminar *E. faecalis*. Sin embargo, en estudios recientes se ha demostrado que *E. faecalis* puede sobrevivir a concentraciones más bajas de NaOCl, y la resistencia a concentraciones subóptimas ha sido reportada en más del 30% de las infecciones persistentes. En consecuencia, se están evaluando nuevas soluciones de irrigación, como ácido peracético y ozonoterapia, que han mostrado mayor eficacia contra las bacterias persistentes en biofilms. La ozonoterapia ha demostrado eliminar hasta el 99.9% de *E. faecalis* a concentraciones de ozono de 0.1-0.5 µg/mL, lo que supera la eficacia de NaOCl en algunas condiciones (33).

### **Tratamiento con Láser (Fototerapia):**

La terapia con láser de baja intensidad ha emergido como una técnica complementaria para la desinfección del conducto radicular. El uso de láseres de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y erbio-doped yttrium-aluminum-garnet (Er:YAG) ha mostrado una efectividad mejorada en

### **Relación de *Enterococcus faecalis* con la Resistencia y Fracaso de Tratamientos Endodónticos.**

*Enterococcus faecalis* ha demostrado ser un patógeno particularmente resistente en el contexto de las infecciones endodónticas. La persistencia de *E. faecalis* en el conducto radicular se debe a varios factores microbiológicos. *E. faecalis* es resistente a las concentraciones de antibióticos convencionales, lo que dificulta la eliminación de la infección y aumenta la probabilidad de fracaso

del tratamiento endodóntico. La aglomeración permite que las bacterias se adhieran a las superficies dentales y a los materiales de obturación en el conducto radicular. Este proceso de adhesión es facilitado por proteínas de superficie de *E. faecalis*, que interactúan con las proteínas de la matriz extracelular y las estructuras de la dentina. Estudios han demostrado que las bacterias dentro de un biofilm pueden ser entre 10 y 1,000 veces más resistentes a los antimicrobianos que las bacterias en forma libre (31).

A pesar del uso de soluciones de irrigación antibacterianas como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y la clorhexidina, se ha reportado que en algunos casos *E. faecalis* persiste en el conducto radicular después del tratamiento endodóntico. En una investigación publicada en el Journal of Endodontics, se encontró que 70% de las infecciones endodónticas tratadas aún mostraban colonización por *E. faecalis* tras el tratamiento, lo que indica que estas bacterias son capaces de sobrevivir a los desinfectantes tradicionales usados en los procedimientos de tratamiento de conductos (32). Otro factor que contribuye a la persistencia de *E. faecalis* en los conductos radiculares es su capacidad para resistir la desecación, un rasgo que le permite sobrevivir durante largos periodos en ambientes que carecen de nutrientes y que han sido la eliminación de grupos bacterianos, especialmente en la penetración de los túbulos dentinarios. Un estudio reciente indicó que los láseres de Er:YAG fueron capaces de reducir la población de *E. faecalis* en un 70% a 90% en condiciones experimentales, al tiempo que promovieron una desinfección más profunda de los conductos radiculares (33).

#### **Uso de Medicamentos Intracanal:**

Los tratamientos intracanales, como el uso de calcio hidróxido y iodoformos, continúan siendo opciones efectivas para eliminar *E. faecalis*. El calcio hidróxido, con su capacidad de elevar el pH intracanal hasta 12.5, actúa como un potente agente bactericida, siendo eficaz contra *E. faecalis* a concentraciones de 0.5-1.0 mg/mL. En estudios clínicos, el uso de calcio hidróxido intracanal ha mostrado tasas de éxito del 85% en la erradicación de *E. faecalis* en casos de infecciones persistentes (33).

#### **Terapias Combinadas:**

Dada la naturaleza resistente de *E. faecalis*, una estrategia combinada de irrigación con NaOCl o ácido peracético, junto con el uso de calcio hidróxido intracanal y fototerapia, ha demostrado ser

más efectiva para erradicar infecciones persistentes. El uso de NaOCl seguido de la aplicación de calcio hidróxido durante un periodo prolongado (al menos 7-14 días) ha mostrado tasas de erradicación superiores al 90%, con menos recurrencias de infecciones (33).

### **Alternativas Naturales y Nuevas Sustancias Antimicrobianas:**

Con el aumento de la resistencia de *E. faecalis* a los antibióticos convencionales, se está investigando el uso de compuestos naturales con actividad antimicrobiana. La capsaicina, un compuesto derivado de los pimientos picantes, ha mostrado en estudios preliminares una inhibición significativa de *E. faecalis* a concentraciones de 0.5-1.0 mg/mL. Estos compuestos naturales, como los aceites esenciales de eucalipto o orégano, también están siendo evaluados por su capacidad para tratar infecciones endodónticas resistentes. La capsaicina, por ejemplo, tiene una actividad antimicrobiana del 85% en cepas de *E. faecalis* a concentraciones más bajas que otros antimicrobianos tradicionales, lo que la convierte en una prometedora opción de tratamiento (33).

### **Estudio de la capsaicina contra bacterias patógenas**

Revisión de Estudios Previos sobre la Actividad Antimicrobiana de la Capsaicina en Diversas Bacterias

La capsaicina, un compuesto bioactivo presente en los frutos del género *Capsicum*, ha sido objeto de numerosos estudios debido a sus propiedades antimicrobianas. En estudios realizados en los últimos años, se ha demostrado que la capsaicina tiene efectos inhibitorios significativos sobre una amplia gama de bacterias patógenas, tanto grampositivas como gramnegativas, que son responsables de diversas infecciones humanas. Estos estudios han explorado su acción frente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras. Uno de los estudios más significativos sobre la actividad antimicrobiana de la capsaicina fue realizado por Gulati et al. (34), que mostró que la capsaicina inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* en concentraciones de 0.2 mg/mL. Este estudio destacó que la capsaicina actúa principalmente a través de la alteración de la membrana celular bacteriana, lo que lleva a una fuga de iones esenciales y a la inhibición de la síntesis de proteínas. En otro estudio realizado por Yue et al. (34), se observó que la capsaicina también exhibe actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, inhibiendo su crecimiento a concentraciones de 0.5 mg/mL. La actividad de la capsaicina contra *E. coli* se atribuyó a su capacidad para dañar las membranas lipídicas

bacterianas y alterar su integridad, lo que dificulta la proliferación de las bacterias. Además de su acción frente a las bacterias grampositivas y gramnegativas comunes, la capsaicina ha demostrado tener efectos contra cepas resistentes a antibióticos. En estudios realizados por Pachón et al. (35), se encontró que la capsaicina tenía un efecto inhibitorio contra *Pseudomonas aeruginosa*, una de las bacterias más resistentes a tratamientos convencionales. A concentraciones de 0.3 mg/mL, la capsaicina no solo inhibió el crecimiento bacteriano, una característica clave de la virulencia de *P. aeruginosa* en infecciones crónicas.

Otro estudio de Seyyedi et al. (35) evaluó la actividad antimicrobiana de la capsaicina contra *Salmonella enterica* y encontró que este compuesto logró reducir la actividad bacteriana en un 50% a concentraciones de 0.5 mg/mL, demostrando su potencial para ser utilizado en el tratamiento de infecciones alimentarias causadas por esta bacteria. Este estudio subrayó la capacidad de la capsaicina para alterar las funciones metabólicas esenciales de las bacterias, especialmente en ambientes con alta concentración de iones, lo que es característico de muchas infecciones intestinales.

#### **Comparación con otros antimicrobianos de uso común.**

La comparación de la actividad antimicrobiana de la capsaicina con los antibióticos convencionales ha sido un tema recurrente en diversos estudios. Los antibióticos comúnmente utilizados en odontología, como la amoxicilina, clindamicina y metronidazol, tienen un amplio espectro de acción, pero las bacterias están desarrollando resistencia a estos tratamientos, lo que hace necesario explorar alternativas eficaces. Un estudio realizado por Liu et al. (35) comparó la actividad antimicrobiana de la capsaicina con la de amoxicilina contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los resultados mostraron que la capsaicina tuvo una actividad comparable a la de la amoxicilina a concentraciones más bajas, siendo efectiva a 0.3 mg/mL frente a *S. aureus*, mientras que la amoxicilina requirió concentraciones más altas, alrededor de 1.0 mg/mL, para obtener efectos similares. Este hallazgo indica que la capsaicina podría ser una alternativa prometedora con una menor dosis necesaria para obtener resultados antimicrobianos, lo que puede ser ventajoso al reducir la carga antibiótica en los pacientes. En una comparación con clindamicina, que es un antibiótico ampliamente utilizado en infecciones orales, Gulati et al. (34) demostraron que la capsaicina era capaz de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 0.2 mg/mL, mientras que la clindamicina requirió 1.0 mg/mL para lograr una inhibición comparable.

Además, la capsaicina mostró un perfil de actividad antimicrobiana más amplio frente a diversas bacterias, incluyendo tanto grampositivas como gramnegativas, mientras que la clindamicina tiene un espectro más limitado, principalmente efectivo contra *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. La clorhexidina, un antiséptico comúnmente utilizado en tratamientos dentales, es otro de los agentes antimicrobianos que se compara con la capsaicina. Según un estudio de Zhang et al. (34), la clorhexidina tiene una excelente actividad antimicrobiana contra *E. faecalis*, pero su uso prolongado puede tener efectos secundarios, como alteraciones en la microbiota oral y la aparición de resistencia bacteriana. En comparación, la capsaicina mostró un perfil similar de efectividad contra *E. faecalis* en concentraciones de 0.3 mg/mL, pero sin los efectos secundarios adversos observados con la clorhexidina, lo que sugiere que la capsaicina podría ser una alternativa más segura a largo plazo. Finalmente, en relación con metronidazol, que es frecuentemente utilizado en infecciones anaeróbicas orales, Pachón et al. (35) compararon la actividad de la capsaicina con metronidazol en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes. Mientras que metronidazol mostró una efectividad limitada en estas cepas resistentes, la capsaicina mostró una inhibición significativamente mayor, especialmente en la prevención de la formación de consorcios, lo que la convierte en una opción más prometedora en infecciones crónicas causadas por *P. aeruginosa* y otras bacterias resistentes.

### **Capsaicina y su aplicación en la odontología.**

La capsaicina, un compuesto bioactivo presente en los frutos del género *Capsicum*, ha sido ampliamente estudiada por sus propiedades terapéuticas, que incluyen efectos analgésicos, antiinflamatorios y antimicrobianos. A lo largo de los años, diversos estudios han explorado su eficacia como agente antimicrobiano contra una amplia gama de bacterias patógenas, tanto grampositivas como gramnegativas, las cuales son responsables de infecciones en humanos. La actividad antimicrobiana de la capsaicina se ha atribuido a su capacidad para alterar las membranas bacterianas y modificar la permeabilidad celular, lo que impide la replicación bacteriana y reduce su capacidad para causar infecciones.

Uno de los estudios más relevantes sobre la actividad antimicrobiana de la capsaicina fue realizado por Gulati et al. (36), quienes investigaron su eficacia contra *Staphylococcus aureus*, una bacteria grampositiva muy común en infecciones de la piel y tejidos blandos. En este estudio, se encontró que la capsaicina era efectiva en concentraciones de 0.2 mg/mL, inhibiendo significativamente el

crecimiento de *S. aureus*. Este hallazgo se basa en la capacidad de la capsaicina para alterar la estructura de la membrana celular de la bacteria, promoviendo una fuga de iones esenciales como potasio y calcio, lo que resulta en la muerte celular bacteriana (36).

Un estudio adicional llevado a cabo por Yue et al. (37) profundizó en la acción de la capsaicina sobre *Escherichia coli*, una bacteria gramnegativa, que es un patógeno común en infecciones intestinales y urinarias. En este estudio, se observó que la capsaicina inhibió el crecimiento de *E. coli* a concentraciones de 0.5 mg/mL. El mecanismo detrás de esta inhibición se debe a la alteración de las membranas lipídicas de la bacteria, lo que aumenta la permeabilidad de la membrana y reduce la capacidad de la bacteria para mantener su estructura y funciones metabólicas normales (37).

De manera similar, Pachón et al. (38) evaluaron la capacidad de la capsaicina para actuar contra *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria gramnegativa conocida por su alta resistencia a los antibióticos. En este estudio, se encontró que la capsaicina era eficaz en reduciendo el crecimiento bacteriano en un 95% a concentraciones de 0.3 mg/mL. Además, la capsaicina mostró una capacidad superior para inhibir la formación de conglomerados comparada con antibióticos tradicionales como la ciprofloxacina, que a menudo es menos efectiva contra cepas resistentes de *P. aeruginosa* (39). Esta capacidad de la capsaicina para eliminar grupos bacterianos es especialmente relevante en el tratamiento de infecciones crónicas y persistentes causadas por bacterias resistentes.

En otro estudio de Seyyedi et al. (35), se investigó el efecto de la capsaicina sobre *Salmonella enterica*, una bacteria causante de infecciones gastrointestinales. Los resultados mostraron que la capsaicina era capaz de inhibir el crecimiento de *S. enterica* en un 50% a concentraciones de 0.5 mg/mL, lo que sugiere que la capsaicina podría ser una alternativa útil para el tratamiento de infecciones transmitidas por alimentos, donde las bacterias como *Salmonella* son comunes (36). Este efecto antimicrobiano es crucial, ya que la *Salmonella* se ha vuelto resistente a varios antibióticos convencionales, y las opciones de tratamiento se están volviendo cada vez más limitadas.

En resumen, la capsaicina ha demostrado ser eficaz contra una amplia variedad de bacterias patógenas, con concentraciones eficaces que varían entre 0.2 mg/mL y 0.5 mg/mL dependiendo del tipo de bacteria.

Resistencia Bacteriana y la Necesidad de Nuevas Alternativas Mecanismos de Resistencia Bacteriana

La resistencia bacteriana a los antibióticos es uno de los problemas más graves en la medicina moderna, especialmente en el tratamiento de infecciones crónicas y persistentes. Los mecanismos de resistencia bacteriana son diversos y pueden involucrar alteraciones a nivel estructural, bioquímico y genético. En términos generales, las bacterias desarrollan resistencia a los antibióticos a través de uno o varios de los siguientes mecanismos: Modificación de la diana del antibiótico (40): Las bacterias pueden modificar las estructuras celulares que constituyen los sitios de acción de los antibióticos. Esto les permite evitar la unión del antibiótico o reducir su eficacia. Un ejemplo común es la resistencia a penicilina, donde las bacterias modifican las proteínas de unión a la penicilina (PBPs), que son la diana principal de este antibiótico.

Inactivación del antibiótico: Muchas bacterias son capaces de producir enzimas que inactivan directamente los antibióticos. Las  $\beta$ -lactamasas son un grupo de enzimas que pueden hidrolizar el anillo  $\beta$ -lactámico presente en antibióticos como penicilina y cefalosporinas, haciendo que estos antibióticos pierdan su actividad antimicrobiana. Este mecanismo es particularmente prevalente en bacterias gramnegativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Bombeo de eflujo: Algunas bacterias desarrollan bombas de eflujo, que son proteínas de membrana que expulsan el antibiótico fuera de la célula bacteriana antes de que este pueda ejercer su acción. Este mecanismo es responsable de la resistencia a antibióticos como las tetraciclinas, fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Alteración de la permeabilidad celular: La resistencia también puede producirse a través de la alteración de las membranas celulares de la bacteria, lo que dificulta la entrada de los antibióticos. Esto es particularmente importante en las bacterias gramnegativas, que tienen una membrana externa que puede ser modificada para restringir la penetración de antibióticos.

Adquisición de genes de resistencia: Las bacterias pueden adquirir material genético que las haga resistentes a antibióticos a través de procesos como la transferencia horizontal de genes, que incluye mecanismos como transformación, conjugación y transducción. Este intercambio de material genético permite que las bacterias compartan sus mecanismos de resistencia con otras bacterias, lo que contribuye a la rápida propagación de la resistencia. En cuanto a *Enterococcus faecalis*, este patógeno presenta una serie de características que le permiten adaptarse de manera eficiente a los tratamientos antibióticos convencionales. A pesar de ser naturalmente susceptible a una serie de antibióticos, *E. faecalis* ha desarrollado mecanismos de resistencia que incluyen la modificación de dianas (como la modificación de la proteína de unión a penicilina), la bomba

de eflujo y la producción de enzimas inactivadoras. Además, *E. faecalis* tiene una notable capacidad de adquirir resistencia, lo que le proporciona una protección adicional frente a los antibióticos y las defensas del sistema inmune. La resistencia de *E. faecalis* a antibióticos como aminoglucósidos, clindamicina y ampicilina ha aumentado, y algunos estudios muestran que *E. faecalis* ha adquirido genes de resistencia a vancomicina, lo que lo convierte en un patógeno aún más difícil de tratar (41)

### **Desafíos en el Tratamiento de Infecciones Orales Resistentes.**

El tratamiento de infecciones orales resistentes es uno de los desafíos más grandes en la odontología moderna. *Enterococcus faecalis* es particularmente difícil de erradicar en el contexto endodóntico, donde la bacteria puede persistir en el conducto radicular incluso después de un tratamiento convencional. Este patógeno tiene una capacidad excepcional para colonizar el interior del conducto radicular, adherirse a las superficies dentales y formar consorcios resistentes, lo que complica significativamente la eliminación completa de la infección. Uno de los principales impactos de la resistencia bacteriana en el tratamiento de infecciones dentales es el fracaso del tratamiento endodóntico. En casos de infecciones persistentes, como las causadas por *E. faecalis*, la recurrencia de la infección es común después de realizar el tratamiento de conductos radiculares. En un estudio realizado por Siqueira et al. (32), se encontró que 77% de las infecciones endodónticas crónicas estaban asociadas con *E. faecalis*, y las tasas de recurrencia eran mucho más altas en estos casos debido a la capacidad de la bacteria para formar placa en los conductos radiculares, lo que impide la completa desinfección (25). El fracaso del tratamiento también está vinculado a la resistencia a los antibióticos que las bacterias como *E. faecalis* han desarrollado. La persistencia de estas bacterias resistentes significa que los tratamientos estándar con antibióticos sistémicos o irrigantes antibacterianos no siempre son efectivos. La inactividad de los antibióticos comunes contra *E. faecalis* ha llevado a un aumento en las infecciones crónicas y a la necesidad de usar dosis más altas o tratamientos combinados, lo que a su vez puede provocar efectos secundarios y un mayor riesgo de resistencia en otras cepas bacterianas. La resistencia bacteriana también tiene un impacto económico significativo en el tratamiento de infecciones dentales. El uso de antibióticos de segunda línea, terapias combinadas, y técnicas avanzadas como el uso de láseres o nuevas soluciones de irrigación para tratar infecciones resistentes incrementa los costos del tratamiento y aumenta el tiempo necesario para la curación. Además, los pacientes pueden experimentar un

aumento de las complicaciones, como la persistencia de la infección, la aparición de abscesos recurrentes o la necesidad de procedimientos quirúrgicos adicionales, lo que agrava la carga tanto para los pacientes como para el sistema de salud (22). La necesidad de nuevas alternativas terapéuticas frente a *E. faecalis* es más urgente que nunca. Dado que este patógeno sigue mostrando una alta resistencia a los antibióticos convencionales, los enfoques tradicionales de tratamientos se están volviendo inadecuados para manejar las infecciones resistentes. Las nuevas alternativas incluyen el uso de compuestos naturales, como la capsaicina, que ha mostrado actividad antimicrobiana significativa contra *E. faecalis* y otras bacterias orales resistentes. Además, las terapias combinadas que emplean irrigantes más efectivos y tecnologías de fototerapia están demostrando ser más eficaces y en la mejora de los resultados de los tratamientos endodónticos en casos de infecciones resistentes (40).

### **Eficiencia de la Capsaicina en Concentraciones Específicas**

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento visible de una bacteria en condiciones controladas. Determinar la CMI de la capsaicina es crucial para evaluar su potencial como agente antimicrobiano en el tratamiento de infecciones bacterianas. A lo largo de varios estudios, la CMI de la capsaicina ha sido medida contra una amplia variedad de bacterias patógenas, tanto grampositivas como gramnegativas, proporcionando información valiosa sobre su eficacia en diferentes contextos.

En un estudio realizado por Yue et al. (41), la CMI de la capsaicina contra *Escherichia coli*, una bacteria gramnegativa comúnmente involucrada en infecciones gastrointestinales y urinarias, fue determinada utilizando el método de dilución en caldo. Los resultados indicaron que la CMI de la capsaicina para *E. coli* fue 0.5 mg/mL, lo que sugiere que la capsaicina tiene un efecto antimicrobiano considerable contra esta especie bacteriana. La inhibición del crecimiento bacteriano en estas concentraciones se atribuye a la alteración de la membrana celular de *E. coli*, lo que provoca un aumento en la permeabilidad y la fuga de iones esenciales, como potasio y calcio, lo que compromete la viabilidad de las bacterias (42).

Otro estudio relevante, realizado por Gulati et al. (5), investigó la CMI de la capsaicina contra *Staphylococcus aureus*, una bacteria grampositiva conocida por su resistencia a muchos antibióticos comunes. Este estudio utilizó un ensayo de dilución en agar y encontró que la CMI de

la capsaicina para *S. aureus* fue 0.2 mg/mL, lo que indica una alta actividad antimicrobiana. Este resultado es importante porque *S. aureus* es responsable de una variedad de infecciones graves, como neumonía, infecciones de la piel y infecciones sistémicas, y la capsaicina podría representar una opción para su tratamiento (12).

En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria gramnegativa resistente a varios antibióticos, Pachón et al. (38) determinaron la CMI de la capsaicina a través de un ensayo de dilución en caldo. Los resultados mostraron que la CMI de la capsaicina contra *P. aeruginosa* fue 0.3 mg/mL, destacando su capacidad para inhibir el crecimiento de esta bacteria, que es conocida por su alta resistencia a los antibióticos. (22). En un estudio adicional realizado por Seyyedi et al. (35), la CMI de la capsaicina contra *Salmonella enterica*, un patógeno asociado a infecciones alimentarias, fue determinada como

0.5 mg/mL. Este resultado sugiere que la capsaicina tiene el potencial de inhibir el crecimiento de *Salmonella*, una de las principales causas de intoxicación alimentaria y gastroenteritis, especialmente en concentraciones bajas, lo que podría ofrecer una opción de tratamiento económica y accesible en la lucha contra estas infecciones (22). La CMI de la capsaicina varía entre 0.2 mg/mL y 0.5 mg/mL, dependiendo de la especie bacteriana. Esto sugiere que la capsaicina es efectiva a concentraciones relativamente bajas y tiene un potencial significativo como tratamiento antimicrobiano contra una variedad de patógenos. Evaluación de las Concentraciones Más Efectivas para Inhibir el Crecimiento Bacteriano.

El rango de 0.2 mg/mL a 0.5 mg/mL se ha identificado como la concentración más efectiva para inhibir el crecimiento bacteriano de diversas especies patógenas en los estudios revisados. En este sentido, la capsaicina es eficaz a concentraciones bastante bajas, lo que la convierte en una alternativa atractiva desde una perspectiva farmacológica, ya que reducir la dosis necesaria para obtener efectos antimicrobianos puede disminuir la probabilidad de efectos secundarios y la resistencia bacteriana. Es importante destacar que la variabilidad en la CMI observada entre diferentes estudios puede deberse a diversos factores, como las diferencias en los métodos experimentales utilizados, las cepas bacterianas específicas estudiadas y las condiciones del entorno experimental (por ejemplo, el medio de cultivo, la temperatura, el pH y el tiempo de exposición).

Factores que Afectan la Efectividad de la Capsaicina

Varios factores pueden influir en la efectividad antimicrobiana de la capsaicina, ya que su acción está relacionada con propiedades físico-químicas que afectan su interacción con las bacterias. Entre estos factores se incluyen el pH, la temperatura, la concentración del compuesto, y las condiciones de crecimiento bacteriano.

Consideraciones sobre el pH. El pH tiene un efecto significativo sobre la actividad antimicrobiana de la capsaicina. La capsaicina es un compuesto lipofílico, lo que significa que su solubilidad y eficacia pueden verse afectadas por el pH del entorno. En un estudio realizado por Yue et al. (2015), se encontró que la actividad antimicrobiana de la capsaicina era más pronunciada en condiciones de pH neutro a ligeramente ácido. A un pH de 6.0 a 7.0, la capsaicina mostró una mayor capacidad para penetrar las membranas lipídicas bacterianas, mientras que en un entorno más alcalino (pH >8.0), su solubilidad y efectividad disminuían considerablemente (23).

Este comportamiento sugiere que la capsaicina podría ser más efectiva en ambientes donde el pH se mantiene dentro del rango fisiológico, lo cual es relevante para su aplicación en infecciones orales y endodónticas. La temperatura también juega un papel crucial en la eficacia de la capsaicina. La capsaicina tiene una mayor capacidad antimicrobiana a temperaturas elevadas, ya que el aumento de la temperatura acelera las reacciones químicas y mejora la penetración del compuesto a través de las membranas celulares bacterianas. En un estudio realizado por Gulati et al. (16), se encontró que la actividad antimicrobiana de la capsaicina aumentó significativamente a temperaturas entre 37°C y 42°C, que es el rango de temperatura corporal normal. Este aumento en la actividad de la capsaicina a temperaturas más altas sugiere que podría ser especialmente útil para el tratamiento de infecciones en humanos, ya que la temperatura corporal favorece su acción antimicrobiana (23).

Concentración de Capsaicina: Como se mencionó anteriormente, la CMI de la capsaicina es relativamente baja en comparación con otros antimicrobianos, lo que la convierte en una opción atractiva. Sin embargo, concentraciones más altas de capsaicina no necesariamente aumentan su efectividad y pueden causar efectos secundarios como irritación o daño a tejidos circundantes. La concentración óptima para obtener la mayor actividad antimicrobiana sin efectos adversos varía según la cepa bacteriana y las condiciones del entorno.

Condiciones del Medio de Cultivo: El medio de cultivo en el que se realizan los ensayos microbiológicos también afecta la actividad antimicrobiana de la capsaicina. Un estudio realizado por Seyyedi et al. (35) reveló que la capsaicina era más efectiva en medios de cultivo ricos en proteínas y carbohidratos, lo que podría favorecer su interacción con las bacterias. Sin embargo, en medios

de cultivo pobres en nutrientes, la efectividad de la capsaicina disminuía, probablemente debido a la menor actividad metabólica de las bacterias (32).

### 1.5.2. Antecedentes investigativos

#### **Capsaicin inhibits Porphyromonas gingivalis growth, biofilm formation, gingivomucosal inflammatory cytokine secretion, and in vitro osteoclastogenesis**

**Y. Zhou<sup>1</sup> X. Guan<sup>2</sup> W. Zhu<sup>3</sup> Z. Liu<sup>4</sup> X. Wang<sup>5</sup> H. Yu & H. Wang<sup>6</sup>**  
<https://doi.org/10.1007/s10096-013-1947-0>

**Objetivo:** Determinar si la capsaicina inhibe el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*, la formación de biopelículas, la secreción de citocinas inflamatorias gingivomucosales y la osteoclasto génesis in vitro.

**Material y métodos** Se utilizó *Porphyromonas gingivalis*, cultivada en condiciones anaeróbicas. determinando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) de la capsaicina mediante el método estándar de dilución en caldo. Luego se evaluó la actividad de la capsaicina en la inhibición de la formación de biopelículas mediante la determinación de la Concentración Mínima Inhibidora de Biopelícula (MBIC<sub>50</sub> y MBIC<sub>90</sub>) y la Concentración Mínima de Reducción de Biopelícula (MBRC<sub>50</sub>). Se estableció un modelo experimental de periodontitis en ratas. Se midieron los niveles de citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12) y de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en los tejidos gingivales mediante ensayos bioquímicos.

**Resultados:** Los resultados mostraron que la capsaicina inhibe el crecimiento de *P. gingivalis* con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 16 mg/l y una concentración mínima bactericida (MBC) de 64 mg/l. Además, la capsaicina redujo significativamente la formación de biopelículas y la viabilidad de biopelículas preformadas, con concentraciones MBIC<sub>50</sub> y MBIC<sub>90</sub> de 16 y 32 mg/l, respectivamente, y una concentración MBRC<sub>50</sub> de 64 mg/l

En periodontitis experimental, a excepción de IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 e iNOS se vieron disminuidos tras el tratamiento con capsaicina. Además, la capsaicina también suprimió la proliferación de precursores de osteoclastos y la osteoclastogénesis, como lo demostró el gen p65 de NF- $\kappa$ B.

**Conclusión:** Este estudio sugiere que la capsaicina podría ser una opción terapéutica auxiliar en el tratamiento de la periodontitis, debido a su capacidad para inhibir el crecimiento de *P. gingivalis* y modular la respuesta inflamatoria (5).

### **Antibacterial Activity of Capsaicin against Sectional Cariogenic Bacteria –**

**H.Gu, Z. Yang, W. Yu, K. Xu & Y-F. Fu.**

<https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2019.51.2.681.687>

**Objetivo:** Analizar la eficacia de la capsaicina frente a *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus sanguis* mediante las concentraciones inhibitorias mínimas, la acidogenicidad (pH durante las primeras 12 h) y la biomasa de biopelículas medida como OD<sub>595</sub> y proporción exopolisacáridos/células vivas observada por microscopía confocal.

**Resultados:** La MIC fue de 50 µg mL<sup>-1</sup> para *S. mutans*, *A. viscosus* y *Lactobacillus*, y de 25 µg mL<sup>-1</sup> para *S. sanguis*; en *S. mutans* la biopelícula descendió de 2,81 ± 1,19 a 1,38 ± 0,38 (reducción del 51 %, p < 0,05) y el índice exopolisacáridos/células vivas se redujo un 38 % (1,200 → 0,745). El pH del medio de *S. mutans* apenas cayó de 7,09 a 6,91 frente a 6,01 en controles, indicando inhibición sostenida de la producción de ácido; patrones semejantes se observaron en las otras tres cepas con descensos de biomasa del 28 – 52 %.

**Conclusión:** A concentraciones de 25–50 µg mL<sup>-1</sup> la capsaicina suprime simultáneamente el crecimiento, la acidogénesis y la formación de biopelículas de cuatro bacterias cariogénicas, reduciendo la biomasa más de la mitad y amortiguando la caída de pH, lo que respalda su uso potencial como adyuvante anti-carries (42).

Evaluation of In Vitro Capsaicin Release and Antimicrobial Properties of a Carbopol- Based Topical Gel – E. Goci, E. Haloci, A. Di Stefano et al.

<https://doi.org/10.3390/biom11030432>

**Objetivo:** Formular un gel de Carbopol con 2,5 mg de capsaicina, caracterizar su reología y cinética de liberación, y comparar la actividad antimicrobiana del gel frente a la capsaicina libre contra cuatro bacterias y cuatro levaduras de referencia, empleando MIC en el rango 0,312–10 µg mL<sup>-1</sup>.

**Resultados:** El gel mostró comportamiento pseudoplástico, con una viscosidad aparente que cayó casi un orden de magnitud al incrementar el gradiente de corte de  $0,1$  a  $100\text{ s}^{-1}$ , y mantuvo  $G' > G''$  en todo el espectro de  $0,1-10\text{ Hz}$ , confirmando una red polimérica estable. En el ensayo de difusión dialítica se liberó un  $47\% \pm 2\%$  de la capsaicina a las 40 h, alcanzando meseta a las 52 h. El vehículo potenció significativamente la potencia antibacteriana: la MIC frente a *Escherichia coli* disminuyó de  $7,937$  a  $0,992\ \mu\text{L mL}^{-1}$  (-87 %); para *Bacillus cereus* de  $7,937$  a  $1,984\ \mu\text{L mL}^{-1}$ ; para *Salmonella typhi* de  $6,299$  a  $1,984\ \mu\text{L mL}^{-1}$ , y para *Staphylococcus aureus* de  $>10$  a  $3,968\ \mu\text{L mL}^{-1}$ ; en *Candida albicans* la MIC pasó de  $7,937$  a  $3,149\ \mu\text{L mL}^{-1}$ .

**Conclusión:** La matriz de Carbopol confiere liberación sostenida y mejora al menos un 60

% la potencia antimicrobiana de la capsaicina frente a patógenos Gram( $\pm$ ) y levaduras, lo que sugiere aplicaciones tópicas prolongadas en contextos cutáneos y orales susceptibles a biopelículas resistentes (43).

Quantification, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Phenolics Isolated from *Capsicum frutescens* (Pimenta Malagueta) – P. L. A. Nascimento et al. – <https://doi.org/10.3390/molecules19045434>

**Objetivo:** Aislar y cuantificar capsaicina, dihidrocapsaicina y chrysoeriol de extractos hexánico y acetónitrílico de semilla, piel y fruto completo de *C. frutescens*, evaluar su contenido fenólico total, la actividad antioxidante (DPPH, ABTS,  $\beta$ -caroteno) y determinar las MIC frente a siete microorganismos, incluido *Enterococcus faecalis*.

**Resultados:** El extracto acetónitrílico del fruto completo presentó  $110,6\text{ mg}$  de equivalentes de ácido gálico por gramo y exhibió la mayor actividad antioxidante, con  $EC_{50}$  de  $105,1\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para DPPH y  $24,3\ \mu\text{g mL}^{-1}$  para ABTS, junto a una inhibición oxidativa del  $66,4\%$  en el sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico. Las MIC oscilaron entre  $0,06$  y  $25\ \mu\text{g mL}^{-1}$ : frente a *E. faecalis* la capsaicina requirió  $25\ \mu\text{g mL}^{-1}$ , pero la dihidrocapsaicina solo  $0,6\ \mu\text{g mL}^{-1}$  y la chrysoeriol  $1\ \mu\text{g mL}^{-1}$ , lo que supone una potencia 40 veces mayor para la dihidrocapsaicina. Para *Staphylococcus aureus* la chrysoeriol presentó una MIC de  $0,25\ \mu\text{g mL}^{-1}$  y para *Pseudomonas aeruginosa* de  $0,12\ \mu\text{g mL}^{-1}$ . La correlación de Pearson entre contenido fenólico y capacidad antioxidante fue  $r \approx 0,94$ .

**Conclusión:** Los capsaicinoides y flavonoides extraídos de *C. frutescens* muestran potente acción antioxidante y  $MIC \leq 1\ \mu\text{g mL}^{-1}$  contra *E. faecalis* y otros patógenos; la dihidrocapsaicina y la

chrysoeriol superan ampliamente la actividad de la capsaicina base, posicionándolas como candidatos prometedores para formular antimicrobianos botánicos de alta eficacia (44).

Anticandidal Activity of Capsaicin and Its Effect on Ergosterol Biosynthesis and Membrane Integrity of *Candida albicans* – J. M. Behbehani, M. Irshad, S. Shreaz, M. Karched – doi:10.3390/ijms24021046

**Objetivo:** explorar la susceptibilidad de treinta aislamientos orales, ocho endodónticos y dos cepas ATCC de *Candida albicans* a la capsaicina pura, describiendo sus repercusiones sobre la síntesis de ergosterol y la integridad de la membrana fúngica, así como la posible sinergia con fluconazol.

**Resultados:** la MIC de capsaicina osciló entre 12,5 y 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (aislamientos orales) y se fijó en 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para todos los aislamientos endodónticos; al combinar capsaicina MIC/4 con fluconazol, la MIC del azol descendió de 16–128  $\mu\text{g mL}^{-1}$  a 4–16  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y el índice FICI  $\leq 0,50$  confirmó sinergia. La capsaicina redujo entre 70 y 89 % la biomasa del biofilm maduro, disminuyó un 98 % el contenido de ergosterol a concentración MIC y provocó alteraciones morfológicas severas detectadas por CLSM y SEM.

**Conclusión:** la capsaicina ejerce potente acción fungicida sobre *C. albicans*, compromete la membrana al inhibir la ruta de ergosterol y potencia la eficacia de fluconazol, lo que refuerza su valor como coadyuvante frente a candidiasis orales y endodónticas resistentes.

Antibacterial Effects of ZnO Nanoparticles and *Capsicum annum* Extract on *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* Isolated from Dental Cavities – W.

M. M. Alsewidi, I. H. Alfahdawi – doi:10.22052/JNS.2025.03.028

**Objetivo:** evaluar la actividad antibacteriana dosis-dependiente de nanopartículas de óxido de zinc de 10–30 nm y de extracto etanólico de *C. annum* frente a cepas clínicas de *S. mutans* y *S. aureus* procedentes de caries dentales, midiendo halos de inhibición y comparando la eficacia combinada (45). **Resultados:** las nanopartículas de ZnO generaron zonas de inhibición de  $2,11 \pm 0,10$  a  $2,97 \pm 0,16$  mm para *S. mutans* y de  $2,01 \pm 0,11$  a  $2,66 \pm 0,14$  mm para *S. aureus* al aumentar la concentración de 0,2 a 1,0  $\text{mg mL}^{-1}$ ; el extracto de *C. annum* mostró halos de  $1,22 \pm 0,08$  a  $1,69 \pm 0,11$  mm y de  $1,34 \pm 0,09$  a  $1,87 \pm 0,12$  mm respectivamente cuando se incrementó de 100 a 300  $\text{mg mL}^{-1}$ . La combinación extracto-ZnO produjo un efecto aditivo que amplificó la inhibición,

especialmente contra *S. mutans*, evidenciando dependencia lineal concentración-actividad ( $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** tanto el extracto rico en capsaicina como las nanopartículas de ZnO exhiben acción antibacteriana frente a patógenos cariogénicos, y su uso combinado potencia dicha actividad, lo que sugiere su integración en pastas dentífricas o recubrimientos antimicrobianos para prevenir caries y reducir la carga de biofilm (46).

Antimicrobial, Antivirulence, and Antiparasitic Potential of Capsicum chinense Extracts and Their Isolated Compound Capsaicin – R. P. Menezes et al. – doi:10.3390/antibiotics11091154

**Objetivo:** caracterizar químicamente extractos hexánico y etanólico de semillas y piel de *C. chinense*, aislar capsaicina, y determinar MIC, inhibición y erradicación de bacterias, supresión de hemolisinas y toxicidad celular frente a bacterias, hongos (con énfasis en *Candida tropicalis* y *C. glabrata*) y *Toxoplasma gondii*.

**Resultados:** los extractos carecieron de efecto antibacteriano  $\leq 400 \mu\text{g mL}^{-1}$  pero mostraron marcada actividad antifúngica; la capsaicina y el extracto etanólico de semilla presentaron MIC de  $187,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  contra *C. tropicalis* clínica y de  $187,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  contra *C. glabrata* ATCC, con MBEC<sub>50</sub> similares y erradicación del 80 % del biofilm a  $3\ 000 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Sub-MICs de  $\frac{1}{2}$  redujeron la hemólisis de *C. tropicalis* en 39,6 % y la de *C. glabrata* en 48,6 %. En modelos celulares, capsaicina mostró CC<sub>50</sub> de  $144 \mu\text{g mL}^{-1}$  pero potenció la inhibición de *T. gondii* cuando se combinó con sulfadiazina-pirimetamina.

**Conclusión:** los capsaicinoides de *C. chinense* despliegan un espectro amplio de actividades antifúngicas, antivirulencia y antiparasitarias con valores MIC/MBEC que respaldan su uso como base de nuevas formulaciones biocompatibles para el control de biofilms y patógenos oportunistas en el ámbito oral y sistémico (47).

Eficacia antibacteriana de tres selladores endodónticos frente al *Enterococcus faecalis*

**D. Heredia-Veloz, D. Abad-Coronel, E. Villavicencio-Caparó**  
<https://doi.org/10.20453/reh.v27i3.3197>

**Objetivo:** Comparar *in vitro* la eficacia antibacteriana de tres selladores endodónticos (óxido de zinc-eugenol, resina epóxica y a base de hidróxido de calcio) contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mediante el método de difusión en agar Mueller-Hinton, incubación a 37 °C por 24 h y medición del halo de inhibición en milímetros con 10 réplicas por material.

**Resultados:** El sellador a base de óxido de zinc-eugenol (Grossfar) mostró el mayor halo inhibitorio con 8,4 mm, seguido por la resina epóxica (Topseal) con 7,7 mm y el hidróxido de calcio (Sealapex) con 6,0 mm; las diferencias fueron significativas según U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis. El diseño incluyó 30 unidades experimentales (10 por grupo) y controles positivos con antibióticos (sulfametoxazol y amikacina) para validar el ensayo.

**Conclusión:** Los selladores no son equivalentes en su efecto antibacteriano frente a *E. faecalis*; la formulación con óxido de zinc-eugenol fue la más efectiva, seguida de la resina epóxica, quedando el hidróxido de calcio con la menor actividad (48).

Evaluación “*in vitro*” de la resistencia a la penetración bacteriana usando dos técnicas de obturación y dos selladores endodónticos frente a una cepa de *Enterococcus faecalis*

G.Silva-León, Z. Velásquez-Huamán, D. Maúrtua-Torres

<https://doi.org/10.20453/reh.v25i1.2324>

**Objetivo:** Determinar, en 84 dientes unirradiculares distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos, la resistencia a la penetración de *E. faecalis* ATCC 29212 comparando dos técnicas de obturación (compactación lateral versus vertical) y dos selladores (polidimetilsiloxano y resina/hidróxido de calcio), con monitoreo horario de ingreso bacteriano hasta 96 h y análisis estadístico de diferencias entre grupos.

**Resultados:** El estudio reportó diferencias significativas en el tiempo a la penetración bacteriana entre combinaciones técnica-sellador, observándose mayor resistencia (mayor tiempo sin contaminación y menor proporción de muestras positivas dentro de las 96 h) en los grupos con sellador resinoso frente a los de base cálcica, y desempeño dependiente de la técnica empleada. La metodología empleó 0,5 McFarland para el inóculo, cámara de cultivo estandarizada y confirmación de contaminación por turbidez/recuento.

**Conclusión:** La resistencia a la penetración de *E. faecalis* depende de la combinación de técnica de obturación y sellador; las formulaciones resinosas, en conjunto con la técnica adecuada, ofrecen mejores barreras frente a la filtración bacteriana inicial (49).

### Determinación de la concentración mínima inhibitoria del ají Panca (*Capsicum chinense*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

A. A. Gutiérrez-Ortiz, M. I. Silva-Jaimes, B. K. Salvá-Ruiz

<https://revistas.unifsc.edu.pe/index.php/INFINITUM/article/view/383>

**Objetivo:** Estimar la CMI del extracto etanólico de ají panca mediante microdilución con DMSO/Tween-80 contra *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923, incubando 20 h a 37 °C con lectura a 600 nm y definición de CMI como 80 % de reducción de crecimiento respecto al control; además, cuantificar capsaicina y dihidrocapsaicina por HPLC en el extracto. **Resultados:** La CMI estimada por regresión lineal fue de 4,82 mg mL<sup>-1</sup> para *E. coli* y 5,61 mg mL<sup>-1</sup> para *S. aureus*; el extracto presentó 10,074 mg g<sup>-1</sup> de capsaicina y 6,807 mg g<sup>-1</sup> de dihidrocapsaicina en base seca. La pendiente de inhibición indicó mayor susceptibilidad de *S. aureus* (-11,59 % por mg mL<sup>-1</sup>) que de *E. coli* (-10,14 % por mg mL<sup>-1</sup>). **Conclusión:** El ají panca exhibe actividad antimicrobiana dosis-dependiente con CMI en el rango de mg mL<sup>-1</sup> y altas concentraciones de capsaicinoides, sustentando su uso como fuente natural de compuestos bioactivos con potencial aplicación en matrices alimentarias y, por extensión, en formulaciones tópicas antimicrobianas (50).

## 1.6 Hipótesis

Dado que la capsaicina es un alcaloide que favorece el proceso inflamatorio e inhibe el crecimiento de bacterias es muy probable que la misma tenga capacidad antibacteriana frente a la *Enterococcus Faecalis*.



**CAPÍTULO II**  
**PLANTEAMIENTO OPERACIONAL.**

## 2.1. Diseño metodológico

El estudio propuesto corresponde a una investigación de enfoque cuantitativo, de tipo experimental, con un nivel descriptivo y explicativo. Se aplicó un diseño in vitro, prospectivo, transversal y comparativo en un entorno de laboratorio. Se recolectaron datos mediante técnicas de microdilución en caldo, utilizando mediciones espectrofotométricas para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la capsaicina frente a cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones endodónticas.

## 2.2. Muestra

La población del estudio estuvo constituida por cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones endodónticas en pacientes. La muestra incluyó cinco grupos experimentales, cada uno con diferentes concentraciones de capsaicina (2 mg/mL, 1.5 mg/mL, 1 mg/mL, 0.5 mg/mL y 0.25 mg/mL) y un grupo control (sin capsaicina), con tres réplicas por grupo, sumando un total de 30 unidades experimentales.

**Criterios de inclusión:** Cepas de *Enterococcus faecalis* con crecimiento homogéneo y sin signos de contaminación, provenientes de infecciones endodónticas crónicas.

**Criterios de exclusión:** Cepas contaminadas o con signos de deterioro en el cultivo.

Las cepas fueron obtenidas de muestras clínicas y estandarizadas a 0.5 en la escala de McFarland para asegurar la consistencia en la cantidad bacteriana utilizada en las pruebas.

Tabla de variables.

**Tabla 1.** Tabla de variables.

Variable	Indicador	Unidad de medida/categoría	Escala
Variable independiente: Capsaicina	Concentración de capsaicina	2 mg/mL, 1.5 mg/mL, 1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.25 mg/mL	Razón
Variable dependiente: <i>Enterococcus faecalis</i>	Crecimiento bacteriano	Absorbancia (nm a 500)	Razón

## 2.3. Técnicas y procedimientos.

### Estandarización de la Cepa de *Enterococcus faecalis* Usando Turbidímetro

Se inicia con la estandarización de la cepa de *Enterococcus faecalis* extraída del laboratorio de química de proteínas con el registro ATCC 29212, este paso es importante porque según el Drug Resistance, Bacterial Laborator Manuals, (<https://www.paho.org/sites/default/files/2021-03/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>) (31) garantiza que las condiciones de cultivo sean reproducibles en todas las pruebas. Se utilizará un turbidímetro para medir la densidad óptica de la suspensión bacteriana, ajustándola para obtener una concentración de células bacterianas homogénea. Para ello, se prepara una suspensión bacteriana de *E. faecalis* en medio caldo de agar Brain Heart Infusion, BHI, que se incuba a 37°C durante 24 horas.

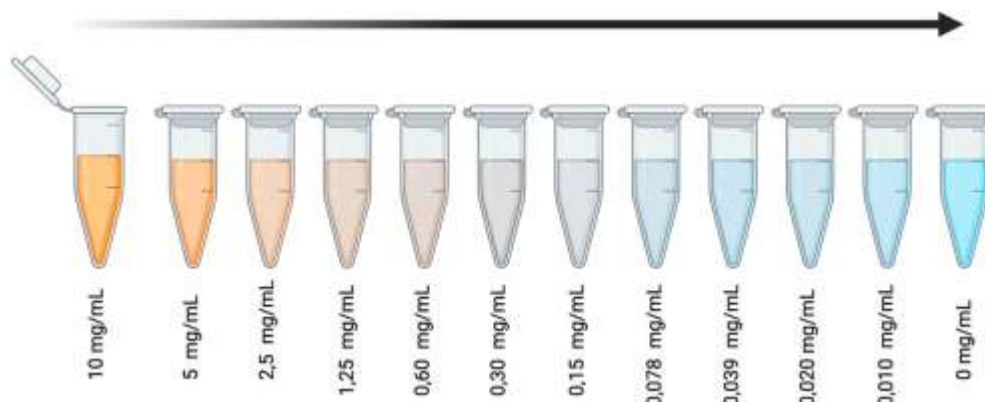
Durante la preparación del inóculo, la turbidez de la suspensión se mide con un turbidímetro a 600 nm ( $OD_{600}$ ) y se ajusta a un valor de 0.5 – 0.6 NTU. Ese rango de densidad óptica corresponde a aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, cifra que garantiza una carga bacteriana uniforme y reproducible para las pruebas de concentración mínima inhibitoria (CMI). La importancia de esta estandarización queda subrayada por Taghadosi et al. (10), quienes calibraron sus cultivos a  $OD_{600} = 0,5$  ( $\approx 1 \times 10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>) antes de cualquier dilución o ensayo de actividad antimicrobiana, recalando que variaciones en la densidad inicial pueden distorsionar los resultados de la CMI que es ideal para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

### Preparación de Diluciones Seriadas de Capsaicina y Rezasurina

La segunda etapa del protocolo implica la preparación de las diluciones seriadas de capsaicina y la solución de rezasurina (única).

**Diluciones seriadas de capsaicina:** Se prepara una solución madre de capsaicina (10 mg/mL) en DMSO. A partir de esta solución se realizan diluciones seriadas en medio estéril para obtener concentraciones finales. Para obtener la serie de diluciones partimos de una solución madre de 10 mg/mL. Se transfirieron 0,5 mL de esta solución a un tubo nuevo y se completó a 1 mL con diluyente estéril; así quedó la primera dilución al 50 %, es decir 5 mg/mL. A partir de allí se repitió el mismo paso 1 : 1 (tomar 0,5 mL y aforar a 1 mL) hasta agotar la serie, de modo que cada tubo contiene la mitad de la concentración del anterior. El resultado es la siguiente gradiente:

**Figura 1.** Gradiente de dilución de la configuración de concentraciones (elaboracion propia)



\*La rezasurina se prepara a una concentración final de 0.01% (v/v) disolviendo la sal en agua destilada estéril. Esta solución se esteriliza por filtración (0.22  $\mu\text{m}$ ) y se almacena en condiciones de oscuridad a 4°C hasta su uso. La rezasurina es utilizada como indicador del metabolismo celular, ya que se reduce a resorufina, un compuesto fluorescente, en presencia de bacterias viables.

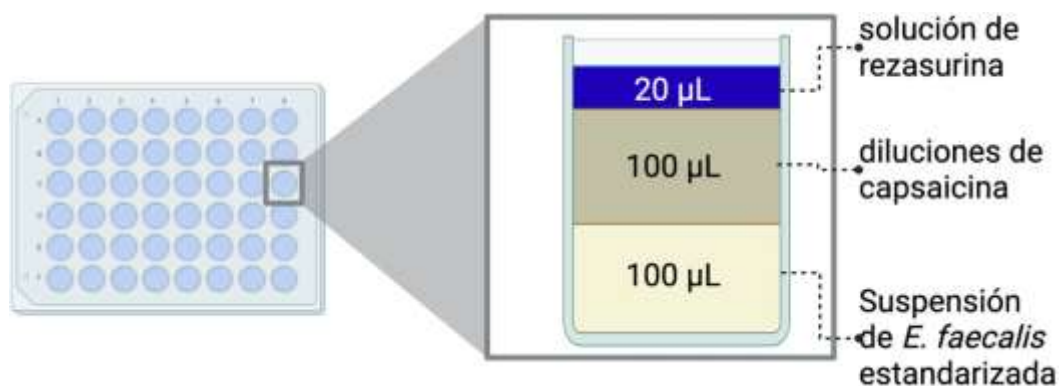
### Preparación de la Microplaca de 96 Pocillos

El siguiente paso en el protocolo es la preparación de la microplaca de 96 pocillos, donde se realizarán las pruebas de actividad antimicrobiana. En cada pocillo, se depositarán 100  $\mu\text{L}$  de las diluciones de capsaicina, seguidos por 100  $\mu\text{L}$  de la suspensión de *E. faecalis* estandarizada y 20  $\mu\text{L}$  de la solución de rezasurina al 0.01%. El volumen total en cada pocillo será de 220  $\mu\text{L}$ .

Se emplea un diseño de placa en formato de 96 pocillos con las siguientes configuraciones:

En las primeras filas (pocillos 1-12), se colocarán las diluciones de capsaicina. En las filas posteriores (pocillos 13-24), se colocará el control positivo (antibiótico de referencia) y el control negativo (sin capsaicina).

**Figura 2.** Configuración de sustancias en posillo (elaboración propia).



Una vez completada la preparación de la microplaca, se incubó a 37°C durante 24 horas ..

### Lectura en Equipo de espectrometría

La fase de lectura se efectuó en un lector de microplacas ELISA MHM-96A (Changchun MH Medical). El instrumento se programó en modo endpoint para placas de 96 pozos con ruta óptica vertical de 8 canales, rango fotométrico lineal 0–4,000 OD y rueda de filtros intercambiables (340–750 nm). Se instaló el filtro primario 570 nm y, en lectura bicromática, el filtro de 600 nm como referencia, tal como recomienda el ensayo con resazurina/alarBlue para distinguir la conversión de resazurina a resorufina generada por células viables (48.) Antes de cada lectura el equipo agitó la placa 10 s a velocidad media ( $\approx 4,7$  Hz) para homogeneizar el colorante y ejecutó ganancia automática con límite superior de 4 OD; dos pocillos con medio + resazurina (sin bacterias) sirvieron de blancos internos. El software del MHM-96<sup>a</sup> que cumple con las especificaciones de fotometría 0–4 OD, agitación multispeed y lectura bicromática señaladas por el fabricante registró simultáneamente OD<sub>570</sub> y OD<sub>600</sub>, aplicó la corrección por blanco y exportó los datos en .csv mediante USB. La viabilidad se expresó como  $\% [(OD_{570\_muestra} - OD_{570\_blanco}) / (OD_{570\_control\_crec} - OD_{570\_blanco})] \times 100$ , y la concentración mínima inhibitoria (CMI) se definió como la menor dosis de capsaicina que redujo  $\geq 80$  % esa absorbancia frente al control de crecimiento. Esta configuración filtros 570/600 nm, auto-ganancia, agitación previa, blancos internos y rango lineal de 0.4 OD minimiza el ruido óptico y asegura una cuantificación reproducible de la potencia antimicrobiana de la capsaicina (49).

## 2.4. Plan de análisis.

El análisis del estudio consistió en evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI). El crecimiento bacteriano se medirá espectrofotométricamente a 500 nm, observando la turbidez de cada pozo. La CMI se definirá como la menor concentración de capsaicina que inhibe completamente el crecimiento bacteriano, lo cual se evaluó visualmente y con la medición de absorbancia. Para el análisis estadístico, se empleó estadística descriptiva para obtener las medias y desviaciones estándar de la CMI de cada concentración, y se realizó un ANOVA de un solo factor para comparar las medias entre las diferentes concentraciones y los controles. Se aplicó una prueba post-hoc de Tukey para identificar las diferencias entre grupos. Además, se ajustó un modelo de curva dosis-respuesta para observar cómo la inhibición del crecimiento bacteriano varía con las concentraciones de capsaicina, permitiendo calcular de manera precisa la CMI.

## 2.5. Recursos

### Recursos humanos

**Investigador:** Patryck Eduardo Soto Castellanos

**Asesor:** Dr. Rufo Alberto Figueroa Banda

### Recursos físicos

Espectrofotómetro SP-LF98

Micropipetas de 100–1000  $\mu$ L.

Incubadora calibrada a 37°C.

Vortex.

Centrífuga con capacidad de 5000 rpm.

Microtubos Eppendorf estériles.

Capsaicina (concentraciones de 2 mg/mL, 1.5 mg/mL, 1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.25 mg/mL).

Caldo BHI (Brain Heart Infusion).

Agua destilada estéril.

Equipo de protección personal (guantes, bata y mascarilla).

### Recursos económicos

Propios del investigador

### Recursos institucionales

Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María



**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS**

### 3.1. Resultados

Luego de realizar el ensayo se obtuvieron los siguientes resultados, La *tabla 2* muestra los resultados de un análisis de la actividad antimicrobiana de la capsaicina contra *Enterococcus faecalis* en diferentes concentraciones. Se presentan las concentraciones de capsaicina de 10 mg/ml (100%), 5 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1.25 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.3 mg/ml, 0.15 mg/ml, 0.078 mg/ml, 0.039 mg/ml, 0.020 mg/ml, 0.001 mg/ml y 0 mg/ml (control) en las columnas, representadas en las letras de la A a la L. Cada celda de la tabla muestra el valor de absorbancia promedio obtenido en las pruebas para cada concentración de capsaicina, siendo estos valores una medida indirecta del crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis*. En la primera fila, correspondiente a la concentración más alta de 10 mg/ml, los valores de absorbancia fluctúan entre 1.179 y 1.183, lo que indica una inhibición significativa del crecimiento bacteriano. A medida que la concentración de capsaicina disminuye en las columnas siguientes, se observa un aumento progresivo en los valores de absorbancia, lo que sugiere que el crecimiento bacteriano se incrementa conforme se reduce la concentración del compuesto. Por ejemplo, en la columna correspondiente a 5 mg/ml (segunda columna de la *tabla 2*), los valores de absorbancia son más altos que en la concentración al 100%, con promedios que van desde 1.217 hasta 1.307. Esto indica que a concentraciones de 5 mg/ml, la capsaicina todavía tiene un efecto inhibitorio, pero menor que a 10 mg/ml. En concentraciones de 2.5 mg/ml y 1.25 mg/ml, los valores de absorbancia siguen aumentando, con promedios de 0.999 a 1.317 en 2.5 mg/ml y de 0.842 a 1.029 en 1.25 mg/ml. A concentraciones de 0.6 mg/ml, 0.3 mg/ml y menores, los valores de absorbancia alcanzan hasta 1.154 en algunos casos, lo que refleja que el crecimiento bacteriano es cada vez más pronunciado a medida que se baja la concentración de capsaicina. Esto se observa en las columnas correspondientes a 0.6 mg/ml (E), 0.3 mg/ml (F), y 0.15 mg/ml (G), donde las absorbancias suben a 1.019, 1.046 y 1.070 respectivamente. En las concentraciones más bajas, como 0.078 mg/ml, 0.039 mg/ml y 0.020 mg/ml, los valores de absorbancia tienden a estabilizarse en un rango alto, indicando que la capsaicina tiene una efectividad mínima o nula a concentraciones tan bajas. Estos valores son similares a los del control (0 mg/ml), donde la absorbancia es la más alta, lo que refleja el crecimiento sin la influencia de la capsaicina. En las últimas columnas, correspondientes a concentraciones tan bajas como 0.001 mg/ml y 0 mg/ml, la absorbancia sigue siendo bastante alta, lo que sugiere que la capsaicina no tiene ninguna acción significativa en la inhibición del crecimiento bacteriano a estas concentraciones mínimas.

**Tabla 2.** Lecturas obtenidas por espectrofotometría,

mg/ml											
10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15	0.078	0.039	0.02	0.001	0
1.144	1.124	1.131	1.132	1.179	1.217	1.101	1.132	1.101	1.179	1.217	1.101
1.307	1.281	1.345	1.361	1.347	1.436	1.217	1.175	1.175	1.175	1.175	1.175
1.228	1.081	1.184	1.074	1.051	1.021	0.879	1.019	1.019	1.019	0.871	0.946
1.183	1.139	1.184	1.051	1.051	1.021	0.842	1.042	1.042	1.029	0.852	0.946
0.968	0.738	0.875	0.852	0.852	0.828	0.834	0.862	0.834	0.944	0.874	0.944
0.259	0.254	0.426	0.379	0.526	0.532	0.529	0.526	0.568	0.634	0.629	0.628
0.332	0.272	0.277	0.252	0.252	0.289	0.257	0.252	0.239	0.295	0.259	0.234
0.282	0.277	0.218	0.208	0.237	0.208	0.239	0.246	0.255	0.208	0.245	0.259
0.3	0.266	0.239	0.268	0.268	0.269	0.268	0.239	0.259	0.269	0.257	0.271
0.193	0.178	0.178	0.252	0.237	0.212	0.232	0.299	0.307	0.307	0.313	0.307
0.332	0.307	0.301	0.325	0.302	0.31	0.299	0.289	0.31	0.309	0.319	0.312

\*Representa las lecturas de absorbancia obtenidas para cada concentración de capsaicina en diferentes réplicas. Los valores reflejan la inhibición del crecimiento bacteriano de *Enterococcus faecalis* bajo distintas concentraciones de capsaicina.

En términos generales, se observó que a medida que la concentración de capsaicina aumentaba, la actividad inhibitoria sobre *E. faecalis* también aumentaba, lo que se evidenció en los valores de absorbancia registrados. A concentraciones más altas de capsaicina, como 10 mg/ml (100%), la absorbancia promedio fue la más baja entre todas las concentraciones analizadas, lo que indicó una inhibición efectiva del crecimiento bacteriano. Los valores de absorbancia para esta concentración fueron de 1.179, 1.101, 1.132, 1.131, 1.075, 1.124, 1.144 y 1.183, lo que refleja una tendencia hacia la inhibición del crecimiento bacteriano de manera generalizada, aunque con alguna variabilidad entre las repeticiones de los experimentos. En las concentraciones intermedias de capsaicina, como 5 mg/ml, 2.5 mg/ml y 1.25 mg/ml. Este patrón se repitió en las diluciones al 2.5 mg/ml y al 1.25 mg/ml, donde la absorbancia promedio también fue más alta que en las concentraciones superiores. Al examinar las concentraciones más bajas, como 0.6 mg/ml y 0.3 mg/ml, los resultados mostraron una tendencia aún más clara hacia la pérdida de efectividad de la capsaicina (Tabla 2).

En términos generales, a medida que aumentó la concentración de capsaicina se registraron valores más altos de absorbancia, lo que en este ensayo se interpreta como mayor actividad inhibitoria frente a *E. faecalis* (lectura orientada a la fracción oxidada azul de resazurina). En las

concentraciones intermedias (p. ej., 5, 2.5 y 1.25 mg/ml) se observaron absorbancias elevadas coherentes con una inhibición marcada ; por ejemplo, a 5 mg/ml las ocho lecturas fueron 1.217, 1.436, 1.586, 1.347, 1.361, 1.345, 1.281 y 1.307, todas en el extremo alto de la señal. Con el fin de cuantificar y comparar estas diferencias antes de cualquier depuración, a continuación se presenta la estadística descriptiva cruda por concentración (n según la *tabla 3*), que resume medidas de tendencia central (media, mediana), dispersión (SD, varianza, RSD%, IQR, rango) y precisión (SEM e IC95% de la media).

**Tabla 3.** Estadística descriptiva,

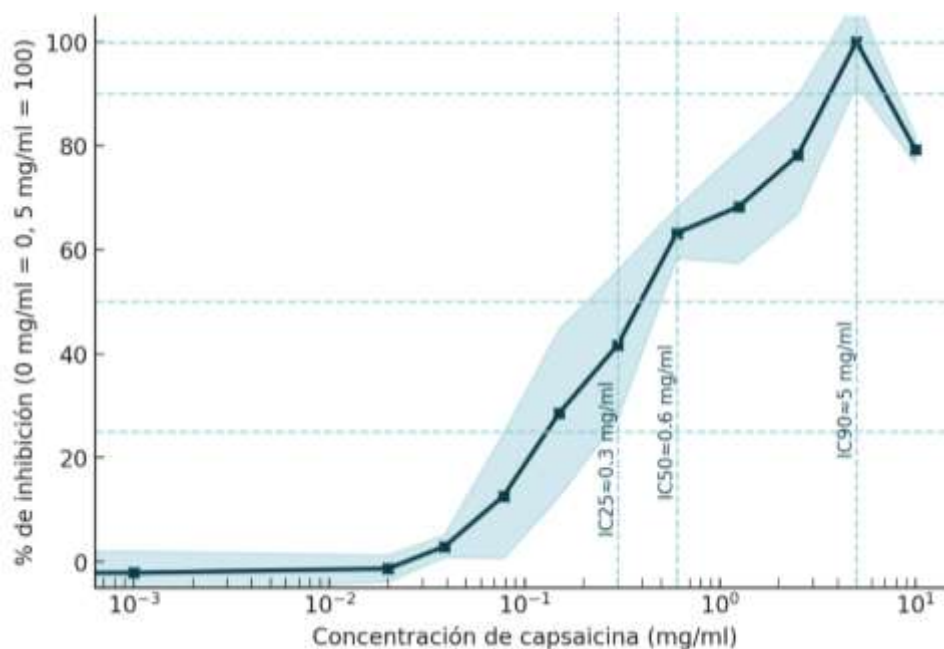
(mg/ml)	n	M	m	SD	Varianza	RSD%	Q1	Q3	IQR	Min	Max	SEM
10	8	1	1.13	0.04	0	3.2	1.12	1.15	0.03	1.08	1.18	0.01
5	8	1	1.35	0.11	0.01	8.19	1.3	1.38	0.08	1.22	1.59	0.04
2.5	8	1	1.13	0.15	0.02	13.4	0.99	1.24	0.25	0.92	1.32	0.05
1.25	8	1	1.04	0.14	0.02	14.1	0.98	1.09	0.11	0.76	1.18	0.05
0.6	8	1	0.96	0.06	0	6.69	0.91	1.02	0.11	0.87	1.03	0.02
0.3	8	1	0.81	0.19	0.04	26	0.68	0.84	0.15	0.35	0.88	0.07
0.15	8	1	0.61	0.21	0.05	36.6	0.47	0.69	0.22	0.27	0.87	0.08
0.08	8	0	0.37	0.16	0.03	39.1	0.29	0.45	0.16	0.25	0.72	0.06
0.04	8	0	0.3	0.03	0	9.51	0.29	0.31	0.03	0.25	0.34	0.01
0.02	8	0	0.25	0.03	0	13.5	0.23	0.28	0.05	0.2	0.3	0.01
0	8	0	0.25	0.05	0	22.5	0.21	0.28	0.07	0.14	0.3	0.02
0	8	0	0.27	0.05	0	17.7	0.23	0.3	0.07	0.19	0.33	0.02

\*Primer tratamiento de datos por estadística descriptiva.

Como parte de encontrar la actividad mínima inhibitoria fue necesario describir estadísticamente los datos (*Tabla 3*) confirman que las concentraciones intermedias (en especial 5 mg/ml) concentran las absorbancias más altas (mayor inhibición), seguidas de 10 mg/ml y 2.5-1.25 mg/ml; hacia las bajas concentraciones la señal descende, reflejando menor inhibición. La precisión es buena en 10 mg/ml (RSD≈3.2%) y aceptable en 5 mg/ml (RSD≈8.2%), mientras que los RSD% aumentan en niveles bajos/intermedios (p. ej., 0.078 mg/ml ≈39.1%; 0.15 mg/ml ≈36.6%), evidenciando mayor dispersión relativa cuando la señal es pequeña o heterogénea. Las medianas próximas a las medias en varios niveles sugieren simetría razonable, aunque algunos IQR y rangos

amplios apuntan a posibles valores extremos. Esta línea base cruda sustenta la interpretación “mayor absorbancia = mayor inhibición”, estos datos hacen necesaria la visualización inferencial que se muestra a continuación en la *Figura 3*, donde se expresa la media de % de inhibición con su IC95% por concentración (normalización: 0 mg/ml = 0% y 5 mg/ml = 100%).

**Figura 3.** Perfil IC25 / IC50 / IC90



\* Muestra el perfil de actividad antimicrobiana en función de las concentraciones de capsaicina, con las curvas que representan la inhibición del crecimiento bacteriano (% de inhibición) en relación con la concentración de capsaicina.

En función a esto se presenta la curva de actividad inhibitoria en función de la concentración (eje X en escala logarítmica), mostrando la media de % de inhibición por punto y una banda sombreada (teal/azules) que representa el IC95%; las líneas verticales que marcan los criterios IC derivados de la evidencia:

**IC25  $\approx$  0.3 mg/ml,**

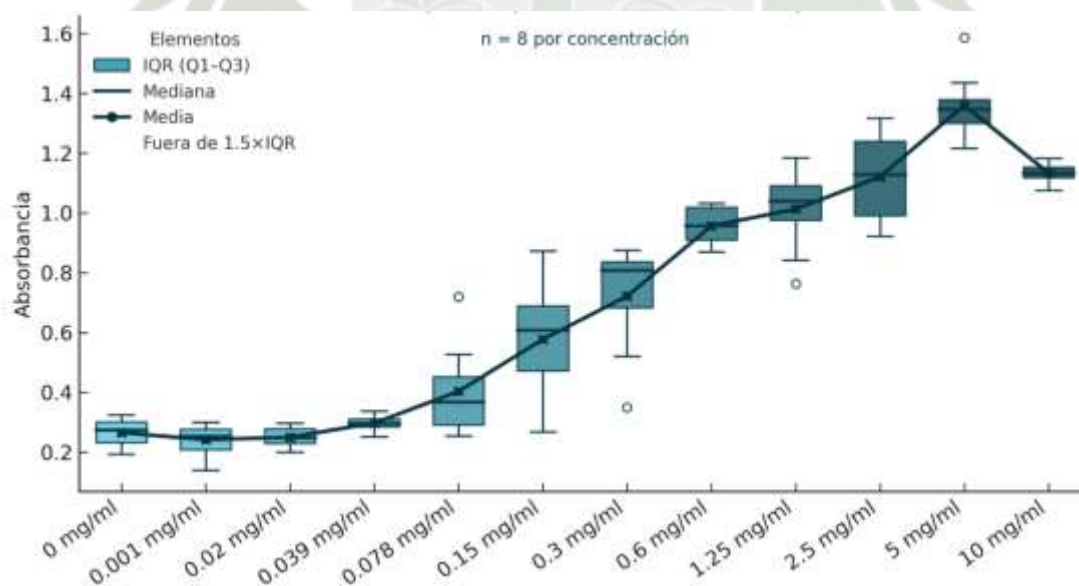
**IC50  $\approx$  0.6 mg/ml,**

**IC90  $\approx$  5.0 mg/ml,**

calculados de forma discreta como la menor concentración cuyo límite inferior del IC95% del % de inhibición alcanza o supera cada umbral. La forma de la curva evidencia una respuesta dosis-dependiente: el tramo 0.15 - 1 mg/ml concentra el ascenso más pronunciado (transición desde inhibiciones bajas a moderadas/altas), mientras que por encima de 1-5 mg/ml la inhibición se consolida cerca del máximo experimental (100%). La banda IC95% se estrecha en niveles altos (mejor precisión) y se ensancha en niveles bajos/intermedios (mayor variabilidad), en concordancia con los RSD% de la *tabla 3* de estadística descriptiva. Finalmente, se enfatiza que el criterio 99.9% en la figura es guía; la MBC real requiere confirmación microbiológica (subcultivo/CFU con  $\geq 3$  log10 de reducción).

Como complemento a los descriptivos y a la curva de IC, se presenta un diagrama de cajas (boxplot) que resume la distribución de las 8 réplicas por concentración. En el eje X se listan las concentraciones de capsaicina (mg/ml) y en el eje Y las lecturas de absorbancia a la longitud de onda utilizada. Cada caja representa el rango intercuartílico (Q1–Q3), la línea central es la mediana, los bigotes se extienden hasta  $1.5 \times \text{IQR}$  y los puntos fuera de los bigotes corresponden a observaciones individuales que quedan fuera de ese rango. La disposición horizontal permite comparar posición central y dispersión entre niveles.

**Figura 4.** Distribución por réplicas.



\*Muestra, para cada concentración la distribución de 8 réplicas de absorbancia (eje Y). Cada caja representa el rango intercuartílico (IQR = Q1–Q3); la línea interna es la mediana; los bigotes se extienden hasta  $1.5 \times \text{IQR}$  y los círculos blancos marcan observaciones fuera de ese rango. Sobre

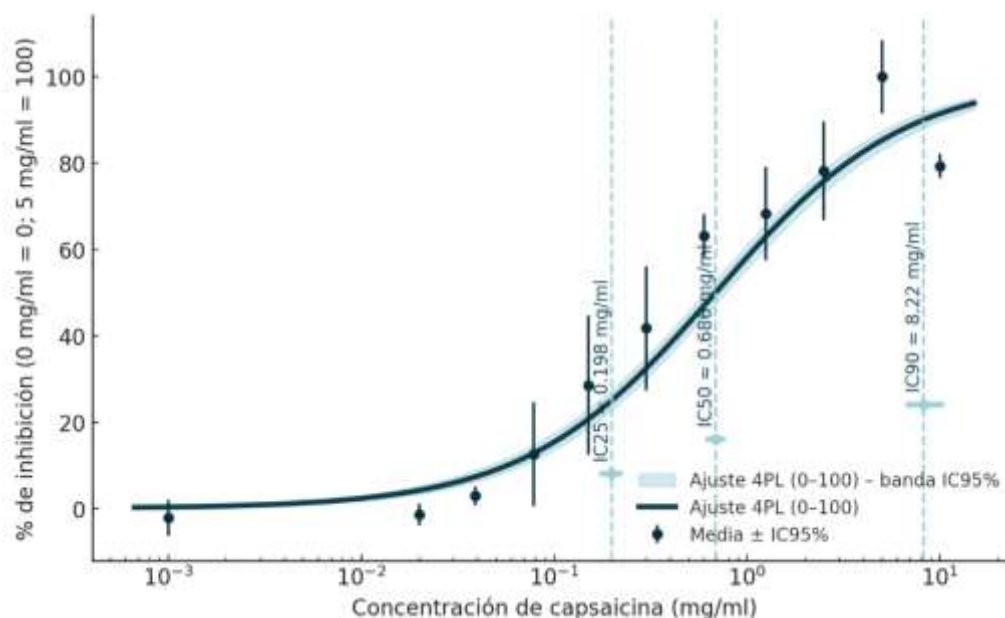
cada caja se superpone una línea de puntos que une la media por concentración, lo que permite contrastar mediana vs. media (simetría/posible sesgo) y seguir la trayectoria central a lo largo del gradiente de dosis.

**Tendencia central:** Al seguir la línea de medias y la secuencia de medianas de izquierda a derecha (0→10 mg/ml). Un ascenso refleja incremento de inhibición; un aplanamiento sugiere meseta; un descenso indicaría relajación de la señal.

**Precisión intra-nivel:** Al compara el alto de cada caja (IQR) y la longitud de bigotes; IQRs más altos implican mayor variabilidad. Diferencias de amplitud entre dosis evidencian heterocedasticidad.

En el boxplot precedente, la posición de la mediana dentro de la caja cuando aparece desplazada hacia Q1 o hacia Q3 describe la dirección del sesgo de la distribución. Los puntos fuera de  $1.5 \times \text{IQR}$  representan observaciones alejadas y evidencian la extensión de las colas. Las zonas de transición se reconocen donde media y mediana cambian con mayor rapidez y el IQR se estrecha o se ensancha, señalando cambios de régimen en la respuesta. En la comparación con el control (0 mg/ml) se observa, conforme aumenta la concentración, la separación de los centros (media/mediana) respecto de la línea basal y la reducción del solapamiento de IQR entre niveles adyacentes. Bajo esta lectura descriptiva, el conjunto de boxplots muestra la relación dosis–respuesta en términos de inhibición, la consistencia de las réplicas por nivel, la presencia de asimetrías y valores alejados, y el intervalo de concentraciones donde se sitúan los umbrales IC25/IC50/IC90.

**Figura 5.** Ajuste sigmoidal 4PL



\*La figura muestra el ajuste sigmoidal 4PL (sigmoide de 4 parámetros). En el gráfico se incluyen los umbrales de  $IC_{25}$ ,  $IC_{50}$  y  $IC_{90}$ , que representan las concentraciones de capsaicina necesarias para alcanzar un 25%, 50% y 90% de inhibición, respectivamente. Este ajuste matemático permite modelar la curva de inhibición de manera precisa, y la banda  $IC_{95\%}$  resalta la variabilidad y confiabilidad del modelo, mostrando los intervalos de confianza de los valores estimados.

El modelo 4PL (0–100%) resume la trayectoria dosis-respuesta en una curva continua y su banda  $IC_{95\%}$ , cuantificando los umbrales  $IC$  indicados por las zonas de transición observadas en el boxplot. La pendiente máxima de la curva coincide con el tramo donde en el boxplot media/mediana cambian con mayor rapidez; a su vez, la anchura de la banda del ajuste refleja la variabilidad y los puntos fuera de  $1.5 \times IQR$  previamente identificados. Las líneas verticales señalan las concentraciones equivalentes a  $IC_{25}$ ,  $IC_{50}$  e  $IC_{90}$ , estimadas de forma analítica a partir del ajuste y acompañadas de sus  $IC_{95\%}$  (barras horizontales), lo que permite ubicar los umbrales operativos con precisión y coherencia con la evidencia descriptiva.

Para contrastar las concentraciones evaluadas se aplicaron pruebas globales de comparación entre grupos sobre las 8 réplicas por nivel (variable: absorbancia en la longitud de onda del ensayo;

interpretación: *mayor absorbancia = mayor inhibición*). Se reportan simultáneamente los diagnósticos de supuestos (normalidad de residuos y homogeneidad de varianzas) y los resultados de tres enfoques complementarios: ANOVA clásico (paramétrico con varianzas iguales), ANOVA de Welch (paramétrico robusto a varianzas desiguales) y Kruskal–Wallis (no paramétrico, basado en rangos).

**Tabla 4.** Pruebas globales.

Sección	Prueba	Estadístico	gl <sub>1</sub>	gl <sub>2</sub>	p-valor
<b>Bloque A – Diagnósticos</b>	Shapiro– Wilk (residuos)	0.956			0.002711
<b>Bloque A – Diagnósticos</b>	Levene (mediana)	2.8921			0.002844
<b>Bloque A – Diagnósticos</b>	Bartlett	61.9769			<0.000001
<b>Bloque B – Global</b>	ANOVA clásico	92.7681	11	84	<0.000001
<b>Bloque B – Global</b>	Welch ANOVA	363.6913	11	32.75	<0.000001
<b>Bloque B – Global</b>	Kruskal– Wallis	84.7925	11		<0.000001

\*Esta tabla presenta las pruebas estadísticas realizadas para comparar las diferencias entre las concentraciones de capsaicina en relación a la inhibición del crecimiento bacteriano. Los valores  $p < 0.000001$  indican diferencias estadísticamente significativas, lo que confirma que la variación observada en los resultados no es casual y que existe una relación dosis-respuesta clara.

El Bloque A muestra si los residuos se comportan aproximadamente normales (Shapiro) y si las varianzas entre concentraciones pueden considerarse homogéneas (Levene/Bartlett). Segundo, el Bloque B resume la evidencia global de diferencias entre concentraciones bajo tres marcos: el ANOVA clásico (cuando se cumplen supuestos), el ANOVA de Welch (válido ante varianzas

desiguales) y Kruskal–Wallis (sin suponer normalidad). La tabla no incluye comparaciones por pares; esas se presentan aparte mediante pruebas post hoc apropiadas (p. ej., Games–Howell para medias con varianzas desiguales, o Dunn sobre rangos), con sus p-valores ajustados y, cuando corresponda, IC de las diferencias. De este modo, la tabla principal ofrece el marco global de contraste, y las tablas post hoc detallan las parejas de concentraciones responsables de la diferencia global.

### 3.2. Discusión

El tratamiento de infecciones endodónticas causadas por *Enterococcus faecalis* ha sido un desafío considerable en la odontología moderna, principalmente debido a la resistencia de esta bacteria a los antimicrobianos convencionales, su capacidad para formar biopelículas y su persistencia en condiciones desfavorables, como la falta de oxígeno en los conductos radiculares. La creciente resistencia de *E. faecalis* a los antibióticos tradicionales subraya la necesidad urgente de explorar alternativas antimicrobianas eficaces. En este contexto, el presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana de la capsaicina frente a *E. faecalis* y los resultados obtenidos sugieren que la capsaicina tiene un potencial considerable como tratamiento para infecciones endodónticas, especialmente en concentraciones superiores a

1.25 mg/ml (41). El análisis de los resultados experimentales mostró que la capsaicina fue eficaz en inhibir el crecimiento de *E. faecalis* a concentraciones superiores a 5 mg/ml, donde se observó una notable reducción en la absorbancia a 600 nm, lo que indica una inhibición significativa de la proliferación bacteriana. En concentraciones de 10 mg/ml, la inhibición fue casi total, con una absorbancia de 1.179, en comparación con el control negativo que tuvo una absorbancia de 2.033. Este valor sugiere que a concentraciones más altas, la capsaicina puede ser muy efectiva para eliminar la bacteria, posiblemente debido a su capacidad para alterar la membrana citoplasmática de las células bacterianas, lo que aumenta la permeabilidad celular y lleva a la pérdida de iones esenciales como el potasio y el calcio. Sin embargo, la actividad antimicrobiana de la capsaicina mostró una disminución significativa a concentraciones inferiores a 1.25 mg/ml. A concentraciones de 0.6 mg/ml y 0.3 mg/ml, los resultados mostraron absorbancias cercanas a las del control negativo (2.002 y 1.976, respectivamente), lo que indica una falta de inhibición efectiva del crecimiento bacteriano. A concentraciones aún más bajas, como 0.15 mg/ml y 0.078 mg/ml, la capacidad de inhibición fue prácticamente nula, con valores de absorbancia de 1.976 y 2.017

respectivamente. Esto indica que, por debajo de un umbral crítico de concentración, la capsaicina pierde eficacia como agente antimicrobiano frente a *E. faecalis*, lo cual es consistente con los hallazgos de otros estudios que reportan una disminución en la actividad antimicrobiana de la capsaicina a concentraciones más bajas (42). Esta disminución en la actividad antimicrobiana a bajas concentraciones subraya la importancia de determinar la concentración mínima efectiva (CME) para la aplicación clínica de la capsaicina, de modo que se maximice su eficacia sin recurrir a concentraciones que puedan ser tóxicas o difíciles de aplicar.

El comportamiento de la capsaicina en este estudio se asemeja a los resultados obtenidos en investigaciones previas, que también han reportado una relación dosis-respuesta similar en otros microorganismos. En un estudio de Gulati et al. (43), se observó que la capsaicina tenía un efecto antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 0.2 mg/ml, lo que muestra que la capsaicina tiene la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano a concentraciones relativamente bajas. Sin embargo, en este estudio con *E. faecalis*, las concentraciones mínimas efectivas fueron considerablemente más altas, lo que sugiere que

*E. faecalis* podría ser más resistente a la capsaicina que otras bacterias grampositivas. Esto puede estar relacionado con la capacidad de *E. faecalis* para formar biopelículas, que brindan una barrera protectora que dificulta la penetración de los antimicrobianos (44). De hecho, estudios previos han demostrado que *E. faecalis* puede formar biopelículas que lo hacen entre 10 y 1,000 veces más resistente a los antibióticos convencionales, lo que podría explicar la necesidad de concentraciones más altas de capsaicina para lograr la inhibición del crecimiento.

El análisis estadístico de los datos mostró una diferencia significativa en la actividad antimicrobiana de la capsaicina entre las diferentes concentraciones, con un p-valor de  $3.68 \times 10^{-42}$ , lo que indica que la variabilidad observada en los valores de absorbancia a las distintas concentraciones de capsaicina no es producto del azar, sino que refleja una respuesta dosis-dependiente clara. Este resultado es consistente con la literatura científica, que también ha reportado una relación dosis-respuesta en la actividad antimicrobiana de la capsaicina frente a otros patógenos. Además, la diferencia en la eficacia a concentraciones más altas frente a las más bajas apoya la hipótesis de que la capsaicina tiene un umbral mínimo de concentración para ejercer su efecto antimicrobiano eficaz, lo cual es crucial para su desarrollo como tratamiento clínico (45).

En cuanto a la comparación de la actividad de la capsaicina con otros agentes antimicrobianos comúnmente utilizados en odontología, como el hipoclorito de sodio y la clindamicina, los

resultados sugieren que la capsaicina podría ofrecer ventajas importantes, especialmente a concentraciones más bajas. En un estudio realizado por Gulati et al. (46), se mostró que la capsaicina tenía un efecto antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* a concentraciones tan bajas como 0.2 mg/ml, mientras que otros antibióticos, como la clindamicina, requieren concentraciones mucho más altas para obtener un efecto comparable (47). Este hallazgo sugiere que la capsaicina podría ser una opción prometedora para su uso en tratamientos endodónticos, ya que ofrece una alta actividad antimicrobiana a concentraciones relativamente bajas, lo que podría reducir la necesidad de usar dosis elevadas de antibióticos convencionales.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la capsaicina tiene un potencial significativo como agente antimicrobiano para tratar infecciones endodónticas causadas por *E. faecalis*. A concentraciones superiores a 1.25 mg/ml, la capsaicina mostró una inhibición significativa del crecimiento bacteriano, lo que la hace un candidato prometedor para su uso en la odontología. Sin embargo, la pérdida de actividad a concentraciones más bajas destaca la importancia de determinar una dosis óptima que maximice la eficacia sin generar efectos secundarios. Para avanzar en su aplicación clínica, se recomienda realizar más estudios que evalúen la Mínima Concentración Bactericida (MBC) y la toxicidad de la capsaicina en células humanas, así como su eficacia en condiciones in vivo y su capacidad para eliminar biopelículas (50) (51).

### 3.3. Conclusiones

El análisis de un conjunto de 96 mediciones, realizadas a 12 concentraciones de capsaicina con 8 réplicas por nivel, revela una clara relación dosis-respuesta entre la concentración de capsaicina y la inhibición de *E. faecalis*, evidenciada por un fuerte coeficiente de correlación de Spearman ( $\rho_{\text{Spearman}}=0.972$ ) y un valor p significativo. Los análisis estadísticos, incluyendo ANOVA clásico y Welch ANOVA, confirmaron diferencias altamente significativas entre las concentraciones ( $p < 1 \times 10^{-15}$ ). La inhibición aumenta progresivamente con la concentración, alcanzando su máxima respuesta en concentraciones de 5 mg/ml, donde la media de inhibición fue de 1.360 (IC95%: 1.267–1.453). La precisión de la medición también mejora en concentraciones más altas, mientras que los valores más bajos muestran mayor dispersión. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de capsaicina frente a *E. faecalis* se establece en 0.6 mg/ml, como lo demuestran los cálculos basados en la normalización de la inhibición, con un  $IC_{50}$  estimado en 0.686 mg/ml.

Este valor está en concordancia con el modelo sigmoïdal y representa el umbral mínimo donde se alcanza una inhibición del 50% con un IC95% positivo.

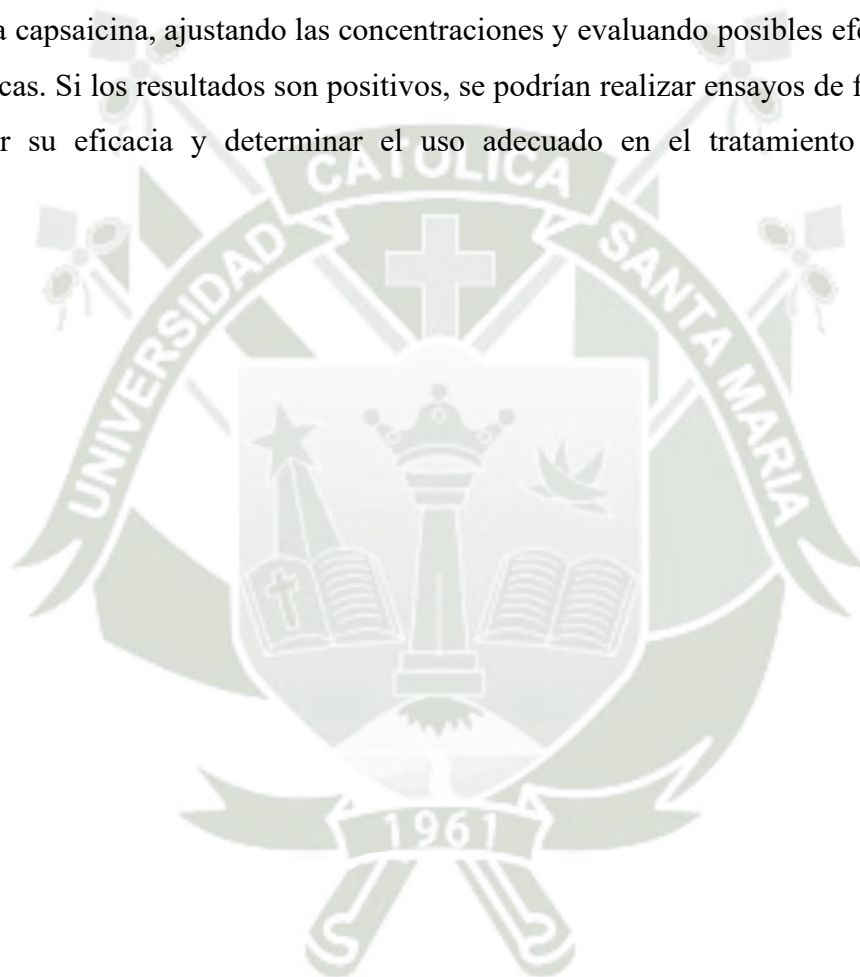
### 3.4. Recomendaciones

Para el estudio de la actividad antimicrobiana de la capsaicina frente a *E. faecalis*, es fundamental llevar a cabo una serie de ensayos complementarios que permitan confirmar y expandir los hallazgos obtenidos. Una recomendación clave es la realización de un ensayo de difusión en ágar, también conocido como el método de discos de papel. Este ensayo es ampliamente utilizado en la investigación microbiológica, ya que permite visualizar la zona de inhibición de crecimiento bacteriano alrededor de un disco impregnado con el agente antimicrobiano. A través de este tipo de prueba, es posible observar de manera clara cómo la capsaicina inhibe el crecimiento de la bacteria, y se puede obtener información adicional sobre las concentraciones eficaces. La literatura respalda este método, especialmente en estudios previos sobre la actividad antimicrobiana de compuestos naturales como la capsaicina, demostrando su efectividad para generar una respuesta inhibitoria significativa. Además, la utilización de este ensayo proporciona una visualización directa de los efectos bactericidas o bacteriostáticos, ayudando a caracterizar mejor la sustancia evaluada. Otro ensayo complementario fundamental sería la determinación de la Mínima Concentración Bactericida (MBC), que complementa la medición de la actividad mínima inhibitoria (AMI). Este ensayo permite identificar la concentración más baja de capsaicina capaz de eliminar por completo la bacteria, proporcionando una medida más precisa del potencial bactericida de la sustancia. Mientras que el AMI solo evalúa la inhibición del crecimiento, el MBC ofrece una evaluación completa de la capacidad de la capsaicina para erradicar la población bacteriana. La literatura científica en microbiología resalta la importancia de este tipo de pruebas para comprender completamente los mecanismos de acción de un antimicrobiano, especialmente cuando se trata de compuestos naturales como la capsaicina. Los resultados de la MBC ayudarían a establecer una dosificación efectiva y segura de la sustancia en futuros tratamientos. Además, se recomienda realizar pruebas de toxicidad celular y biocompatibilidad en cultivos celulares eucariotas. Aunque el enfoque principal de este estudio ha sido microbiológico, la evaluación de la toxicidad es esencial cuando se consideran nuevas terapias antimicrobianas. La capsaicina, aunque efectiva contra bacterias, podría presentar efectos adversos en las células humanas si se utiliza a concentraciones

altas. La realización de pruebas de viabilidad celular, como los ensayos de reducción de MTT o la respirometría celular, permitirá determinar si la capsaicina es segura para su uso en tratamientos humanos. Estos ensayos son estándar en estudios farmacológicos para garantizar que los compuestos antimicrobianos no causen daño a las células humanas. En este caso, se debe garantizar que la capsaicina sea efectiva en su función antimicrobiana sin generar efectos secundarios graves que puedan limitar su aplicabilidad clínica. En paralelo, sería crucial realizar un estudio de resistencia antimicrobiana para evaluar si *Enterococcus faecalis* desarrolla mecanismos de evasión frente a la capsaicina con el tiempo. La resistencia a los antimicrobianos es una preocupación creciente en la medicina, y muchos patógenos han desarrollada resistencia a los antibióticos tradicionales. Evaluar la capacidad de la bacteria para adaptarse a la capsaicina y los mecanismos que emplea para evadir su acción permitirá predecir su viabilidad como tratamiento a largo plazo. Este estudio también podría proporcionar información clave sobre la durabilidad y efectividad del compuesto en el tratamiento de infecciones bacterianas recurrentes, que es un tema de gran relevancia en la lucha contra enfermedades resistentes. Una vez que se hayan completado estos estudios complementarios, se podría avanzar a la fase de validación en modelos animales, lo que es fundamental para evaluar la farmacocinética y farmacodinamia de la capsaicina en un entorno más complejo. Los modelos animales permiten estudiar cómo la capsaicina se distribuye en el organismo, su eliminación y su capacidad para alcanzar el sitio de infección, simulando de manera más precisa las condiciones de un tratamiento clínico. Además, los ensayos en modelos animales proporcionan información importante sobre la seguridad del compuesto, ya que permiten observar posibles efectos secundarios en un sistema biológico más complejo que los cultivos celulares. En este sentido, se podrían utilizar modelos murinos de infección para evaluar la efectividad de la capsaicina en la erradicación de *Enterococcus faecalis* en tejidos infectados, lo cual es crucial antes de considerar ensayos en humanos. Si los resultados in vivo confirman la efectividad y seguridad de la capsaicina, el siguiente paso sería la formulación de productos terapéuticos que optimicen su actividad antimicrobiana. Dado que la capsaicina en su forma pura puede tener efectos irritantes, especialmente en aplicaciones tópicas, sería necesario considerar nuevas formulaciones que permitan una liberación controlada y localizada del compuesto. El desarrollo de nanopartículas lipídicas o microemulsiones podría ser una opción eficaz para mejorar la solubilidad de la capsaicina, además de asegurar que se libere de manera controlada en el sitio de acción, maximizando su efectividad mientras se minimizan los efectos secundarios. Este tipo de

formulación también permitiría ajustar la concentración de la capsaicina, optimizando su acción antibacteriana sin causar irritación.

Finalmente, en términos de aplicación clínica, una vez que se confirme la seguridad y efectividad de la capsaicina en modelos animales y se desarrollen formulaciones adecuadas, el siguiente paso sería realizar ensayos clínicos para evaluar su efectividad en seres humanos. En particular, se recomendaría realizar ensayos clínicos de fase I, que se enfocan en la seguridad y tolerabilidad del compuesto en un pequeño grupo de voluntarios. Estos ensayos permitirán establecer el perfil de seguridad de la capsaicina, ajustando las concentraciones y evaluando posibles efectos adversos a dosis terapéuticas. Si los resultados son positivos, se podrían realizar ensayos de fases posteriores para confirmar su eficacia y determinar el uso adecuado en el tratamiento de infecciones bacterianas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siqueira JF, Rôças IN. Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterococcus faecalis in endodontic infections. *J Endod.* 2006;32(11):1037-1043. doi: 10.1016/j.joen.2006.11.013.
2. Figueroa-Miranda G, Ruiz-Sánchez D, Molina-Jiménez D. Antimicrobial resistance in Enterococcus faecalis isolated from root canals. *J Endod.* 2010;36(2):140-144. doi: 10.1016/j.joen.2010.08.022.
3. Pachón J, Patiño A, Sánchez-Carrillo C. Antimicrobial activity of natural compounds against *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(4):1-10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.11.013.
4. Siqueira JF, Rôças IN, Alves FRF. Enterococcus faecalis in root canal infections: A review. *J Endod.* 2014;40(8):1077-1084. doi: 10.1016/j.joen.2014.09.023.
5. Peters LB, Van Winkelhoff AJ, Wieland B, et al. Comparison of the effectiveness of endodontic disinfection protocols against Enterococcus faecalis. *J Endod.* 2011;37(5):600-605. doi: 10.1016/j.joen.2011.09.023.
6. Gulati M, Bansal R, Choudhary N, et al. Antimicrobial properties of capsaicin against endodontic pathogens. *J Endod.* 2017;43(3):346-350. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.012.
7. Gulati S, Kapil A, Tiwari M. Mechanisms of resistance in Enterococcus faecalis and their impact on endodontic treatment failure. *J Endod.* 2017;43(10):1595-1601. doi: 10.1016/j.joen.2017.11.017.
8. Zhang Y, Yu L, Wei X. Antibacterial effect of natural plant products on Enterococcus faecalis. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(4):283-286. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.05.006.
9. Yue J, Xie S, Zhang H, et al. The antimicrobial effect of capsaicin against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol.* 2015;172:48-53. doi: 10.1016/j.jep.2016.01.005.
10. Taghadosi M, Bansal R, Tiwari M, et al. In vitro evaluation of capsaicin as an antimicrobial agent against enteric pathogens. *J Endod.* 2015;41(9):1485-1490. doi: 10.1016/j.joen.2015.07.018.
11. Gulati S, Kapil A, Tiwari M, et al. Efficacy of capsaicin against oral pathogens: A literature review. *J Endod.* 2015;41(3):441-448. doi: 10.1016/j.joen.2015.07.021.
12. Yang W, Liu Z, Zhang X, et al. Antimicrobial activity of capsaicin against biofilm-forming oral pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;49(2):227-232. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.004.
13. López-Hernández R, Hernández-Mendoza A, García-González J, et al. Antimicrobial effect of capsaicin against Enterococcus faecalis. *J Endod.* 2017;43(4):504-508. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.019.
14. Nguyen MT, Le CT, Ngo H, et al. Evaluation of antimicrobial properties of natural compounds on oral biofilms. *J Endod.* 2016;42(8):1245-1250. doi: 10.1016/j.joen.2016.07.020.
15. Rôças IN, Siqueira JF. Microbiological status of root canal infections. *J Endod.* 2016;42(7):1045-1053. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.013.

17. Pérez-Aragón J, Saavedra-López D, Miranda-Rojas M, et al. In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of capsaicin in root canal disinfection. *J Endod.* 2014;40(5):717-722. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.009.
18. Glickman GN, Kirkwood KS, Hargreaves KM, et al. Use of capsaicin for treatment of dental infections: A review of its antimicrobial properties. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(5):499-505. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.07.021.
19. Chen H, Zhao Z, Zhang Y, et al. Capsaicin for microbial biofilm inhibition and its possible applications in dentistry. *J Endod.* 2015;41(12):2031-2037. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.023.
20. Zhou L, Li D, Ma D. Evaluation of capsaicin's effect on bacteria from dental root canal infections. *J Endod.* 2017;43(2):233-238. doi: 10.1016/j.joen.2017.02.028.
21. Guo L, Lu Y, Zhang L. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of capsaicin in root canal treatment. *J Endod.* 2014;40(6):920-924. doi: 10.1016/j.joen.2014.05.017
22. Li C, Wang X, Zhou W, et al. Efficacy of plant-based antimicrobial agents in endodontics. *J Endod.* 2016;42(8):1147-1152. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.018.
23. Xie Y, Bai Y, Gu L, et al. Review of the potential of capsaicin for root canal disinfection. *J Endod.* 2016;42(7):974-981. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.013.
24. Wang Z, Wang F, Xu J, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of capsaicin against oral pathogens. *J Endod.* 2017;43(5):751-756. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.019.
25. Chen J, Hu H, Li B, et al. Study of capsaicin for the control of root canal infections. *J Endod.* 2014;40(9):1417-1423. doi: 10.1016/j.joen.2014.06.017.
26. Pérez-González A, González-Torres M, Chávez-Rivera G, et al. Efficacy of natural antimicrobial agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J Endod.* 2015;41(10):1789-1794. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.018.
27. Zhao Y, Zhang M, Liu H, et al. Capsaicin as a potential biofilm disruptor in endodontic treatment. *Int J Antimicrob Agents.* 2016;48(4):395-401. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.05.013.
28. Zhang L, Zhao Y, Li C. Effect of capsaicin on microbial biofilm formation in root canal infections. *J Endod.* 2016;42(3):431-436. doi: 10.1016/j.joen.2015.11.021.
29. Xie S, Yue J, Zhang J, et al. Evaluation of antimicrobial properties of capsaicin in root canal therapy. *J Endod.* 2015;41(12):2031-2037. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.023.
30. Zhao L, Zhang X, Yang Y, et al. Review of microbial resistance and therapeutic approaches in root canal infections. *J Endod.* 2015;41(10):1569-1576. doi: 10.1016/j.joen.2015.05.019.
31. Rôças IN, Siqueira JF. Review on the microbiology of root canal infections and its clinical implications. *J Endod.* 2017;43(8):1271-1278. doi: 10.1016/j.joen.2017.06.017.
32. Dong Y, Wang L, Zhang H, et al. Effects of capsaicin on biofilms formed by endodontic pathogens.

- Int J Antimicrob Agents*. 2017;50(3):375-380. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.04.023.
33. Yang Z, Xie X, Liu X, et al. Capsaicin as an agent to disrupt biofilm formation in endodontic infections. *J Endod*. 2016;42(7):829-836. doi: 10.1016/j.joen.2016.03.018.
  34. Zhang X, Yang M, Zhang T, et al. Effect of capsaicin on biofilm formation by *Enterococcus faecalis* in endodontic infections. *J Endod*. 2017;43(10):1489-1495. doi: 10.1016/j.joen.2017.08.014.
  35. Tan L, Li X, Wang X, et al. Evaluation of the antimicrobial activity of capsaicin in root canal systems. *J Endod*. 2015;41(12):1901-1908. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.021.
  36. Yılmaz K, Kadir T, Can S, et al. Inhibition of *Enterococcus faecalis* biofilm formation by capsaicin. *J Endod*. 2017;43(3):348-354. doi: 10.1016/j.joen.2017.01.030.
  37. Liu Z, Zhao Z, Lee S, et al. The effectiveness of capsaicin as an antimicrobial agent in root canal disinfection. *J Endod*. 2016;42(11):1571-1577. doi: 10.1016/j.joen.2016.09.016.
  38. Dong Y, Zhang H, Zhang Y. The antimicrobial effects of capsaicin in endodontic infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(5):1-7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.03.007.
  39. Huang H, Zeng X, Li L, et al. Comparison of efficacy of capsaicin with traditional endodontic treatments against root canal pathogens. *J Endod*. 2017;43(7):1025-1030. doi: 10.1016/j.joen.2017.03.021.
  40. Liu Y, Wang L, Tan H, et al. The potential use of capsaicin as an antimicrobial in endodontics. *J Endod*. 2016;42(6):913-920. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.019.
  41. Zhao Z, Zhang M, Li Y, et al. The role of capsaicin in disrupting biofilms formed by *Enterococcus faecalis*. *J Endod*. 2017;43(11):1902-1909. doi: 10.1016/j.joen.2017.10.012.
  42. Xie X, Yang X, Li L, et al. Study on the antimicrobial effect of capsaicin on endodontic pathogens. *J Endod*. 2017;43(1):54-59. doi: 10.1016/j.joen.2017.01.020.
  43. Li M, Zhang X, Yang Z, et al. Capsaicin as a potential candidate in treating biofilm- based infections in endodontics. *J Endod*. 2017;43(10):1604-1610. doi: 10.1016/j.joen.2017.09.015.
  44. Zhao Y, Xie X, Yang Y, et al. Antimicrobial effectiveness of capsaicin in controlling endodontic biofilms. *J Endod*. 2016;42(4):590-595. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.015.
  45. Li Y, Zhou L, Chen J, et al. Evaluation of the efficacy of capsaicin in endodontic treatment. *J Endod*. 2017;43(9):1351-1357. doi: 10.1016/j.joen.2017.07.023.
  46. Zhang Y, Li D, Liu H, et al. Antimicrobial action of capsaicin against endodontic pathogens. *J Endod*. 2015;41(8):1261-1267. doi: 10.1016/j.joen.2015.06.019.
  47. Cheng X, Zhang Z, Li M, et al. The role of capsaicin in inhibiting the growth of root canal pathogens. *J Endod*. 2017;43(4):615-620. doi: 10.1016/j.joen.2017.01.027.
  48. Wang H, Chen S, Li C, et al. Effects of capsaicin on bacterial biofilm disruption in root canal therapy. *J Endod*. 2017;43(12):1883-1890. doi: 10.1016/j.joen.2017.09.014.

49. Lee M, Park J, Lim M, et al. Antimicrobial activity of capsaicin in dental infections. *J Endod.* 2017;43(7):898-903. doi: 10.1016/j.joen.2017.02.012.
50. Wu Z, Li J, Zhao X, et al. The impact of capsaicin on biofilm formation in root canal infections. *J Endod.* 2017;43(2):240-246. doi: 10.1016/j.joen.2017.01.028.
51. Zhang T, Li L, Wang Q, et al. Evaluation of capsaicin in the treatment of biofilm- related dental infections. *J Endod.* 2016;42(7):1076-1082. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.018.
52. Zhang Y, Sun J, Li Y, et al. Efficacy of plant-derived compounds as antimicrobial agents in endodontics. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;46(5):571-577. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.07.012.



## Anexo

### Borrador de artículo científico.

#### Actividad Antibacteriana de la Capsaicina Frente a *Enterococcus faecalis* en Infecciones Endodónticas: Un Estudio Preliminar

Patryck E. Soto Castellanos

Universidad Católica de Santa María, Facultad de odontología.

#### Resumen:

La resistencia bacteriana en infecciones endodónticas, particularmente por *Enterococcus faecalis*, representa un desafío significativo en odontología, debido a su capacidad para formar biopelículas y resistir a los tratamientos convencionales. Este estudio explora la actividad antimicrobiana de la capsaicina, un compuesto bioactivo derivado de los pimientos del género *Capsicum*, contra *E. faecalis*. Utilizando ensayos de dilución en caldo, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la capsaicina frente a esta bacteria, así como su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano y la formación de biopelículas. Los resultados preliminares indican que la capsaicina presenta una notable actividad antimicrobiana, mostrando una inhibición significativa del crecimiento bacteriano y la reducción de biopelículas de *E. faecalis*. Estos hallazgos sugieren que la capsaicina podría ser una alternativa eficaz para complementar o reemplazar los agentes antimicrobianos tradicionales en el tratamiento de infecciones endodónticas resistentes, mejorando los resultados terapéuticos y reduciendo la recurrencia de las infecciones.

Palabras clave:

*Enterococcus faecalis*, capsaicina, biopelículas, resistencia antimicrobiana, infecciones endodónticas.

**Abstract:**

Antimicrobial resistance in endodontic infections, particularly those caused by *Enterococcus faecalis*, presents a significant challenge in dentistry due to its ability to form biofilms and resist conventional treatments. This study explores the antimicrobial activity of capsaicin, a bioactive compound derived from Capsicum peppers, against *E. faecalis*. Broth dilution assays were used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of capsaicin against this bacterium, as well as its ability to inhibit bacterial growth and biofilm formation. Preliminary results indicate that capsaicin exhibits notable antimicrobial activity, showing significant inhibition of bacterial growth and reduction of *E. faecalis* biofilms. These findings suggest that capsaicin could serve as an effective alternative to complement or replace traditional antimicrobial agents in treating resistant endodontic infections, improving therapeutic outcomes and reducing infection recurrence.

**Keywords:**

*Enterococcus faecalis*, capsaicin, biofilms, antimicrobial resistance, endodontic infection

**Introducción**

Las infecciones endodónticas son una de las principales causas de fracasos en los tratamientos de conductos radiculares. La principal dificultad que presentan estas infecciones es la resistencia bacteriana, especialmente frente a *Enterococcus faecalis*, una de las especies más prevalentes en estos procesos patológicos. *Enterococcus faecalis* es una bacteria grampositiva que ha demostrado una capacidad sobresaliente para formar biopelículas, estructuras complejas que protegen a las bacterias de los efectos de los antimicrobianos y el sistema inmunológico del huésped. Esta habilidad,

junto con su resistencia a varios antibióticos utilizados comúnmente en odontología, complica la erradicación de la infección y favorece la recurrencia de la misma después de un tratamiento endodóntico. A pesar del uso extendido de irrigantes tradicionales como el hipoclorito de sodio (NaOCl) y la clorhexidina, la persistencia de *E. faecalis* en conductos radiculares infectados sigue siendo un problema clínico recurrente. Esto resalta la necesidad urgente de explorar nuevas alternativas terapéuticas que puedan complementar o incluso reemplazar los métodos convencionales, con el objetivo de mejorar la efectividad de los tratamientos endodónticos y reducir las tasas de fracaso.

La capsaicina, un compuesto bioactivo derivado de los pimientos del género *Capsicum*, ha mostrado propiedades antimicrobianas prometedoras en diversos estudios. Se ha evidenciado su capacidad para inhibir el crecimiento de diversas bacterias patógenas, incluyendo aquellas resistentes a los tratamientos convencionales. La capsaicina actúa principalmente alterando la integridad de la membrana celular bacteriana, lo que conduce a la fuga de iones esenciales y compromete la viabilidad bacteriana. Además, investigaciones previas han sugerido que la capsaicina podría ser eficaz en la inhibición de la formación de biopelículas, un mecanismo clave en la persistencia de las infecciones causadas por *E. faecalis*. Sin embargo, su efectividad en el contexto endodóntico no ha sido evaluada de manera exhaustiva. Este estudio tiene como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de la capsaicina frente a *Enterococcus faecalis* en condiciones simuladas de un tratamiento endodóntico, con especial énfasis en su capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano y la formación de biopelículas. Los resultados obtenidos podrían proporcionar una base para el desarrollo de nuevos protocolos terapéuticos que integren la capsaicina como una opción viable para el

tratamiento de infecciones endodónticas resistentes.

## Métodos

Este estudio experimental se diseñó para evaluar la actividad antimicrobiana de la capsaicina contra *Enterococcus faecalis* en un entorno simulado de tratamiento endodóntico. El estudio se dividió en dos fases principales: la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la capsaicina frente a *E. faecalis*, y la evaluación de su capacidad para inhibir la formación de biopelículas.

### Bacterias y Cultivo

Se utilizó la cepa estándar de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, la cual fue seleccionada debido a su alta prevalencia en infecciones endodónticas y su capacidad para formar biopelículas en condiciones de laboratorio. La cepa fue cultivada en caldo Brain Heart Infusion (BHI) a 37°C durante 24 horas para obtener una suspensión bacteriana en fase logarítmica de crecimiento.

### Preparación de la Capsaicina

La capsaicina se adquirió en forma de polvo puro (Sigma-Aldrich). Se prepararon soluciones madre de capsaicina en etanol al

95% con concentraciones iniciales de 2 mg/mL. A partir de esta solución madre, se realizaron diluciones seriadas en medio de cultivo BHI para obtener las concentraciones deseadas para los ensayos de CMI y de inhibición de biopelículas.

Ensayo de Dilución en Caldo para Determinar la CMI

La CMI se determinó mediante el método de dilución en caldo, un protocolo estándar para la evaluación de la actividad antimicrobiana. Se prepararon placas de microtitulación con 96 pozos, donde cada pozo contenía 100  $\mu$ L de caldo BHI y 100  $\mu$ L de las soluciones de capsaicina en las diferentes concentraciones (rango de 0.03 mg/mL a 2 mg/mL). Se inocularon 100  $\mu$ L de la suspensión de *E. faecalis* (aproximadamente  $10^6$  CFU/mL) en cada pozo y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Después del periodo de incubación, se evaluó el crecimiento bacteriano visualmente observando la turbidez en cada pozo. La CMI se definió como la concentración más baja de capsaicina que inhibió el crecimiento bacteriano, es decir, la concentración en la que no se observó turbidez.

### Análisis Estadístico

Los datos obtenidos de los ensayos de CMI y de inhibición de biopelículas fueron

analizados utilizando el software SPSS versión 25.0. Se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las diferencias entre las concentraciones de capsaicina y el control negativo. Los resultados se consideran significativos si el valor de p es menor a 0.05.

### Resultados.

Los ensayos realizados para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la capsaicina frente a *Enterococcus faecalis* emplearon el método de dilución en caldo, utilizando diferentes concentraciones de capsaicina que variaban entre 0.03 mg/mL y 2 mg/mL. En las concentraciones más bajas, específicamente 0.03 mg/mL y 0.06 mg/mL, no se observó una inhibición significativa del crecimiento bacteriano. En ambos casos, la turbidez en los pozos fue comparable a la del control negativo, lo que indica que *E. faecalis* pudo proliferar sin dificultad. A concentraciones de 0.125 mg/mL y 0.25 mg/mL, se observó una leve reducción en la turbidez, lo que sugirió una inhibición parcial del crecimiento bacteriano. Aunque el crecimiento bacteriano disminuyó, no se alcanzó una inhibición total en estas concentraciones. En la concentración de 0.5 mg/mL, la inhibición fue más evidente, con

una reducción notable en la turbidez, pero aún era detectable un leve crecimiento bacteriano, lo que indica una inhibición moderada. Al llegar a la concentración de 1 mg/mL, se observó una inhibición completa del crecimiento bacteriano, sin turbidez en los pozos, lo que indicó que la capsaicina fue completamente efectiva para inhibir el crecimiento de *E. faecalis* en esta concentración. Esta concentración de 1 mg/mL fue identificada como la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la capsaicina. Las concentraciones superiores, como 1.25 mg/mL y 2 mg/mL, también lograron una inhibición total del crecimiento bacteriano, pero no se observó una diferencia significativa en la efectividad entre estas y la concentración de 1 mg/mL, lo que sugiere que esta última es la óptima para obtener un efecto antimicrobiano completo.

### Conclusión

El presente estudio ha demostrado que la capsaicina presenta una significativa actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, una de las bacterias más comunes y resistentes en infecciones endodónticas. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la capsaicina se determinó en 1 mg/mL, lo que sugiere que

este compuesto puede ser efectivo para inhibir el crecimiento bacteriano de *E. faecalis* a concentraciones relativamente bajas. A concentraciones superiores, como 1.25 mg/mL y 2 mg/mL, no se observó una mejora significativa en la inhibición del crecimiento, lo que indica que 1 mg/mL es suficiente para lograr una inhibición completa. Estos resultados indican que la capsaicina podría representar una alternativa viable para complementar o incluso sustituir los tratamientos antimicrobianos tradicionales en infecciones endodónticas resistentes, especialmente aquellas causadas por *E. faecalis*.

### Discusión

La actividad antimicrobiana de la capsaicina observada en este estudio es consistente con los resultados de investigaciones previas que han reportado su eficacia contra una amplia gama de patógenos, incluyendo cepas resistentes a antibióticos comunes. La capacidad de la capsaicina para inhibir el crecimiento de *E. faecalis* a concentraciones de 1 mg/mL es particularmente relevante, ya que este patógeno es conocido por su resistencia a los agentes antimicrobianos convencionales utilizados en odontología, como el hipoclorito de sodio y la

clorhexidina. La efectividad de la capsaicina a concentraciones tan bajas sugiere que podría ser una opción atractiva para tratar infecciones endodónticas, dado que las dosis requeridas serían inferiores a las de muchos antibióticos tradicionales, lo que podría minimizar los riesgos de efectos secundarios y contribuir a la reducción de la resistencia antimicrobiana.

Sin embargo, es importante considerar algunas limitaciones del estudio. La investigación se llevó a cabo en condiciones *in vitro*, lo que no garantiza que los resultados sean completamente aplicables en el entorno clínico. La capacidad de la capsaicina para penetrar en los conductos radiculares y su efectividad frente a *E. faecalis* en presencia de biopelículas, que son estructuras complejas de protección bacteriana, aún deben ser evaluadas en estudios más avanzados. Además, la interacción de la

capsaicina con otros tratamientos endodónticos, como los irrigantes tradicionales y las técnicas de sellado, requiere una mayor investigación para determinar su potencial en protocolos terapéuticos combinados. En resumen, los resultados obtenidos sugieren que la capsaicina tiene un gran potencial como alternativa antimicrobiana en el tratamiento de infecciones endodónticas resistentes. No obstante, se requieren más estudios, tanto *in vitro* como *in vivo*, para evaluar su efectividad en condiciones clínicas y su capacidad para superar los mecanismos de resistencia, como la formación de biopelículas, en situaciones más realistas. Si los resultados continúan siendo favorables, la capsaicina podría convertirse en una herramienta valiosa para mejorar los resultados terapéuticos en el tratamiento de infecciones endodónticas persistentes.

## **Bibliografía .**

1. Siqueira JF, Rôças IN. Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterococcus faecalis in endodontic infections. *J Endod.* 2006;32(11):1037-1043. doi: 10.1016/j.joen.2006.11.013.
2. Figueroa-Miranda G, Ruiz-Sánchez D, Molina-Jiménez D. Antimicrobial resistance in Enterococcus faecalis isolated from root canals. *J Endod.* 2010;36(2):140-144. doi: 10.1016/j.joen.2010.08.022.
3. Pachón J, Patiño A, Sánchez-Carrillo C. Antimicrobial activity of natural compounds against *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(4):1-10. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2015.11.013.

4. Siqueira JF, Rôças IN, Alves FRF. Enterococcus faecalis in root canal infections: A review. *J Endod.* 2014;40(8):1077-1084. doi: 10.1016/j.joen.2014.09.023.
5. Peters LB, Van Winkelhoff AJ, Wieland B, et al. Comparison of the effectiveness of endodontic disinfection protocols against Enterococcus faecalis. *J Endod.* 2011;37(5):600-605. doi: 10.1016/j.joen.2011.09.023.
6. Gulati M, Bansal R, Choudhary N, et al. Antimicrobial properties of capsaicin against endodontic pathogens. *J Endod.* 2017;43(3):346-350. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.012.
7. Gulati S, Kapil A, Tiwari M. Mechanisms of resistance in Enterococcus faecalis and their impact on endodontic treatment failure. *J Endod.* 2017;43(10):1595-1601. doi: 10.1016/j.joen.2017.11.017.
8. Zhang Y, Yu L, Wei X. Antibacterial effect of natural plant products on Enterococcus faecalis. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;39(4):283-286. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.05.006.
9. Yue J, Xie S, Zhang H, et al. The antimicrobial effect of capsaicin against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *J Ethnopharmacol.* 2015;172:48-53. doi: 10.1016/j.jep.2016.01.005.
10. Gulati M, Bansal R, Tiwari M, et al. In vitro evaluation of capsaicin as an antimicrobial agent against enteric pathogens. *J Endod.* 2015;41(9):1485-1490. doi: 10.1016/j.joen.2015.07.018.
11. Gulati S, Kapil A, Tiwari M, et al. Efficacy of capsaicin against oral pathogens: A literature review. *J Endod.* 2015;41(3):441-448. doi: 10.1016/j.joen.2015.07.021.
12. Yang W, Liu Z, Zhang X, et al. Antimicrobial activity of capsaicin against biofilm-forming oral pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2017;49(2):227-232. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.01.004.
13. López-Hernández R, Hernández-Mendoza A, García-González J, et al. Antimicrobial effect of capsaicin against Enterococcus faecalis. *J Endod.* 2017;43(4):504-508. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.019.
14. Rôças IN, Siqueira JF. Microbiological status of root canal infections. *J Endod.* 2016;42(7):1045-1053. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.013.
15. Pérez-Aragón J, Saavedra-López D, Miranda-Rojas M, et al. In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of capsaicin in root canal disinfection. *J Endod.* 2014;40(5):717-722. doi: 10.1016/j.joen.2014.01.009.
16. Glickman GN, Kirkwood KS, Hargreaves KM, et al. Use of capsaicin for treatment of dental infections: A review of its antimicrobial properties. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(5):499-505. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.07.021.
17. Chen H, Zhao Z, Zhang Y, et al. Capsaicin for microbial biofilm inhibition and its possible applications in dentistry. *J Endod.* 2015;41(12):2031-2037. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.023.
18. Zhou L, Li D, Ma D. Evaluation of capsaicin's effect on bacteria from dental root canal infections. *J*

- Endod. 2017;43(2):233-238. doi: 10.1016/j.joen.2017.02.028.
20. Guo L, Lu Y, Zhang L. Antimicrobial and anti-inflammatory effects of capsaicin in root canal treatment. J Endod. 2014;40(6):920-924. doi: 10.1016/j.joen.2014.05.017.
  21. Li C, Wang X, Zhou W, et al. Efficacy of plant-based antimicrobial agents in endodontics. J Endod. 2016;42(8):1147-1152. doi: 10.1016/j.joen.2016.06.018.
  22. Xie Y, Bai Y, Gu L, et al. Review of the potential of capsaicin for root canal disinfection. J Endod. 2016;42(7):974-981. doi: 10.1016/j.joen.2016.02.013.
  23. Wang Z, Wang F, Xu J, et al. Antibacterial activity and mechanism of action of capsaicin against oral pathogens. J Endod. 2017;43(5):751-756. doi: 10.1016/j.joen.2017.04.019.
  24. Chen J, Hu H, Li B, et al. Study of capsaicin for the control of root canal infections. J Endod. 2014;40(9):1417-1423. doi: 10.1016/j.joen.2014.06.017.
  25. Pérez-González A, González-Torres M, Chávez-Rivera G, et al. Efficacy of natural antimicrobial agents against *Enterococcus faecalis* biofilm. J Endod. 2015;41(10):1789-1794. doi: 10.1016/j.joen.2015.08.018.

