



## **Evaluación del efecto de la glicerina en la estabilidad de color de una resina nano-híbrida sometida a un agente pigmentante: estudio experimental in vitro**

**Autores:** Fabiana Lazuta, Becaria de Posgrado de la SGCyT UNNE

Juan J. Christiani. Profesor Titular Preclínica de Prótesis

**Autor de correspondencia:** [flazuta@odn.unne.edu.ar](mailto:flazuta@odn.unne.edu.ar)

**Lugar:** Facultad de Odontología de la U.N.N.E

### **RESUMEN**

La estabilidad del color de las resinas compuestas es un factor determinante en la longevidad y éxito estético de las restauraciones dentales. Durante la fotopolimerización, la interacción del oxígeno atmosférico con los radicales libres genera una capa inhibida de oxígeno (OIL, Oxygen Inhibition Layer), que disminuye el grado de conversión superficial y aumenta la susceptibilidad a la pigmentación. Se realizó un estudio experimental in vitro con 40 discos de resina compuesta nano-híbrida Brillant NG® (Coltene) color A2, divididos en dos grupos: Grupo A (sin aplicación de glicerina) y Grupo B (con aplicación de glicerina Dickinson® antes de la fotopolimerización). Las muestras se almacenaron en agua destilada a 37 °C durante 24 h y posteriormente fueron sumergidas en Coca-Cola® durante 30 días. La variación de color ( $\Delta E$ ) se analizó mediante ANOVA y prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ). El Grupo A presentó una variación de color media de  $\Delta E = 4,82 \pm 0,50$ , clínicamente inaceptable, mientras que el Grupo B exhibió  $\Delta E = 2,45 \pm 0,35$ , dentro de los límites clínicamente aceptables ( $\Delta E \leq 3,3$ ).

**PALABRAS CLAVE:** Glicerina, Fotocurado, Capa de inhibición por oxígeno

### **INTRODUCCIÓN**

La estética de las restauraciones dentales adhesivas representa un aspecto esencial para la satisfacción del paciente y el mantenimiento a largo plazo del tratamiento restaurador. Las resinas

compuestas actuales, especialmente las nano-híbridas, combinan matriz de monómeros con cargas inorgánicas de tamaño nanométrico para mejorar sus propiedades mecánicas y ópticas (por ejemplo, mayor translucidez, menor desgaste) (insertar referencia reciente). Sin embargo, uno de los problemas persistentes en restauraciones de resina es la alteración del color con el tiempo, debido a factores intrínsecos y extrínsecos (alimentación, bebidas pigmentantes, hábitos de higiene, deterioro de la matriz resinosa) (insertar referencia)<sup>1-3</sup>.

Durante el proceso de fotopolimerización, los radicales libres generados por el fotoiniciador (por ejemplo, camforoquinona) deben reaccionar con los monómeros para formar la red polimérica. No obstante, la difusión de oxígeno desde la atmósfera hacia la superficie del material inhibe esta reacción, formándose la denominada capa inhibida de oxígeno (OIL, por sus siglas en inglés: oxygen inhibited layer). Esta capa se caracteriza por presentar una menor conversión de doble enlaces, una red polimérica menos densa y una mayor proporción de monómeros residuales, lo cual incrementa la absorción de colorantes y la susceptibilidad al desgaste superficial<sup>3</sup>.

En la práctica clínica, se ha demostrado que la presencia de OIL puede afectar negativamente la dureza superficial, la rugosidad, la adaptación marginal y la estabilidad del color de las restauraciones (Borges et al., 2021). Para mitigar este efecto, se han propuesto técnicas como la aplicación de una tira de matriz (Mylar) o el uso de un agente de barrera líquido, como la glicerina, sobre la última capa de resina antes de su fotopolimerización final, con el objetivo de minimizar la interacción del oxígeno con la superficie. La literatura muestra que la glicerina mejora la dureza superficial de la resina y reduce la formación de la OIL, aunque su efecto específico sobre la estabilidad de color frente a agentes pigmentantes no ha sido suficientemente explorado<sup>4-6</sup>.

Por tanto, el presente estudio experimental in vitro tiene como objetivo evaluar si la aplicación de glicerina sobre la última capa de una resina compuesta nano-híbrida mejora la estabilidad del color tras inmersión en una bebida carbonatada. Se plantea la hipótesis de que el uso de glicerina reduce la variación de color ( $\Delta E$ ) respecto al procedimiento convencional sin glicerina.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

Se diseñó un estudio experimental in vitro, comparativo, con dos grupos que difieren en la aplicación de glicerina. La variable dependiente principal es la variación de color ( $\Delta E$ ) medida mediante el sistema CIE  $L^* a^* b^*$ .

Muestra: se confeccionaron 40 discos de resina compuesta nano-híbrida (Brillant NG®, Coltene) en tono A2, con dimensiones estandarizadas: diámetro de 25 mm y espesor de 2 mm. Las dimensiones fueron determinadas para facilitar la manipulación y la medición del color, en concordancia con estudios previos de inmersión de discos de resina (referencia reciente).

Asignación en grupos:

- Grupo A (control): 20 discos sin aplicación de glicerina ( $n = 20$ ).
- Grupo B (experimental): 20 discos con aplicación de glicerina (Dickinson®) antes de la fotopolimerización de la última capa ( $n = 20$ ).

Procedimiento experimental:

1. Confección de las muestras: Se utilizaron moldes metálicos para asegurar homogeneidad en diámetro y espesor. Se colocó la resina en incrementos, cada capa fotopolimerizada durante 20 segundos con una lámpara LED (Woodpecker O Light®, rango de irradiancia 1000-1500 mW/cm<sup>2</sup>).
2. Aplicación de glicerina: Para el grupo experimental (B) se aplicó una fina capa de glicerina con microbrush® sobre la última capa antes de la fotopolimerización final, con el fin de crear una barrera frente al oxígeno atmosférico (inhibidor de la capa).
3. Almacenamiento inicial: Tras la polimerización, todas las muestras se inmersaron en agua destilada a 37 °C durante 24 h, simulando condiciones intraorales de hidratación y estabilización de la resina.

4. Exposición al agente pigmentante: Luego se sumergieron ambas series de muestras en Coca-Cola® a 37 °C durante un periodo de 30 días continuos, con cambio del líquido cada 48 h para mantener la carga de pigmentos activa.

5. Medición de color: Se midieron los valores de L\*, a\*, b\* al inicio (T<sub>0</sub>) y al final del periodo de inmersión (T<sub>1</sub>) con un colorímetro Beley® modelo WR10QC previamente calibrado. Se calculó la diferencia de color ΔE según la fórmula estándar:

$$\Delta E = \sqrt{(L^*_1 - L^*_0)^2 + (a^*_1 - a^*_0)^2 + (b^*_1 - b^*_0)^2}$$

Análisis estadístico: Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) para comparar los valores medios de ΔE entre los dos grupos, seguido por la prueba post-hoc de Tukey para diferencias múltiples, con un nivel de significancia α = 0,05. Se utilizó el software IBM SPSS Statistics 20.0.

## RESULTADOS:

Los resultados demostraron diferencias significativas entre los grupos. El grupo control (sin glicerina) presentó una media de ΔE = 4,82 ± 0,50, lo que implica una variación de color clínicamente inaceptable (> 3,3). En contraste, el grupo con aplicación de glicerina mostró una media de ΔE = 2,45 ± 0,35, lo que se encuentra dentro del rango clínicamente aceptable (≤ 3,3). El análisis por ANOVA indicó p < 0,05 para la comparación entre grupos, y la prueba de Tukey confirmó que la diferencia entre grupo A y B era estadísticamente significativa, como se observa en la tabla 1.

**Tabla 1. Análisis estadístico entre grupos**

| Grupo             | ΔE (media ± DE) | Interpretación clínica |
|-------------------|-----------------|------------------------|
| A (sin glicerina) | 4,82 ± 0,50     | Inaceptable (> 3,3)    |
| B (con glicerina) | 2,45 ± 0,35     | Aceptable (≤ 3,3)      |

El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ), confirmando que la glicerina disminuyó la pigmentación inducida.

No se observaron efectos adversos o datos aberrantes que hicieran necesario un análisis adicional de subgrupos. Los valores de desviación estándar moderados indican una variabilidad aceptable del experimento.

Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la aplicación de glicerina reduce la variabilidad de color inducida por la inmersión en agente pigmentante en una resina compuesta nano-híbrida.

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que la aplicación de glicerina durante la fotopolimerización final reduce significativamente la variación de color en una resina compuesta nano-híbrida expuesta a un agente pigmentante. Estos hallazgos concuerdan con investigaciones previas que describen el papel crítico de la capa inhibida de oxígeno en la disminución del grado de conversión superficial y en la mayor susceptibilidad a la absorción de colorantes<sup>7</sup>.

En particular, Ferreto-Gutiérrez y Hernández-Mata explicaron detalladamente la estructura físico-matemática de la OIL en polímeros dentales, señalando que la difusión de oxígeno atmosférico limita de manera significativa la densidad de reticulación del polímero y favorece la presencia de monómeros residuales, los cuales incrementan la pigmentación superficial. Los resultados del presente estudio respaldan este mecanismo, ya que la barrera proporcionada por la glicerina redujo la variación de color de forma clínicamente relevante<sup>2</sup>.

En relación con las propiedades superficiales, Park y Lee (2011) demostraron que la aplicación de glicerina antes del fotocurado final aumenta la dureza superficial de la resina compuesta debido a la disminución de la OIL. De manera complementaria, el estudio informó que los recubrimientos anti-inhibición, incluida la glicerina, reducen la liberación de monómeros y mejoran la microdureza, lo cual sugiere una mayor resistencia a la degradación y a la captación de pigmentos. Aunque en dicho estudio el efecto sobre la decoloración fue dependiente del tipo de resina

evaluada, se observó una tendencia general hacia menor cambio de color cuando la superficie se protegía del oxígeno<sup>3</sup>.

Sin embargo, no todos los hallazgos en la literatura son consistentes con la mejora cromática. Borges et al. (2021) evaluaron el uso de glicerina y pulido inmediato tras la inmersión en café, encontrando que la glicerina aumentó el grado de conversión, pero no redujo significativamente la variación de color en todas las resinas probadas<sup>1</sup>.

Considerando estas variaciones, los resultados sugieren que el efecto beneficioso de la glicerina podría ser más evidente en condiciones donde el agente pigmentante ejerce un efecto erosivo además del cromático, como ocurre con bebidas carbonatadas, que pueden facilitar la penetración de pigmentos en la matriz resinosa<sup>9</sup>.

Desde el punto de vista clínico, la aplicación de glicerina representa un procedimiento accesible, económico y fácilmente integrable a la rutina operatoria, particularmente útil en zonas de difícil acceso para el acabado-pulido o en restauraciones donde la eliminación mecánica de la OIL es limitada. La mejora en la estabilidad del color observada en este estudio refuerza su potencial utilidad en la optimización de los resultados estéticos a largo plazo<sup>7-8</sup>.

Entre las limitaciones del estudio se destaca su naturaleza in vitro, que no reproduce completamente las condiciones bucales reales (ciclos térmicos, biofilm, abrasión por cepillado, variaciones de pH y fuerzas mecánicas). Asimismo, se evaluó un único tipo de resina y un único agente pigmentante, por lo que los resultados no pueden generalizarse a todos los materiales ni escenarios clínicos<sup>10-11</sup>.

Futuras investigaciones deberían incluir ensayos clínicos, análisis de diferentes protocolos de acabado-pulido, resinas con diversas composiciones y exposición a múltiples agentes pigmentantes (vino tinto, té, tabaco, yerba mate), así como estudios en tiempos prolongados que permitan evaluar la estabilidad cromática en escenarios clínicos reales.

## CONCLUSIÓN:

La aplicación de glicerina sobre la última capa de una resina compuesta nano-híbrida durante la fotopolimerización redujo de forma significativa la variación de color ( $\Delta E$ ) tras inmersión en bebida carbonatada, alcanzando valores clínicamente aceptables ( $\Delta E \leq 3,3$ ). Este procedimiento simple, económico y de bajo riesgo puede considerarse una estrategia práctica para mejorar la estabilidad del color de las restauraciones dentales y, por ende, aumentar su durabilidad estética. Se recomienda su implementación clínica, junto con protocolos adecuados de acabado-pulido, y su evaluación en estudios clínicos a largo plazo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Borges M.G., Silva G.R., Neves F.T., Soares C.J., Faria-e-Silva A.L., Carvalho R.F., Menezes M.S. Oxygen inhibition of surface composites and its correlation with degree of conversion and color stability. *Braz Dent J.* 2021;32(1):91-97. doi:10.1590/0103-6440202103641. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/0103-6440202103641>
2. Ferreto-Gutiérrez, I., y Hernández-Nata, A. Mathematical-Physical Description of the Oxygen-Inhibited Layer (OIL) in Nanofilled Dental Polymers. *Odovtos International Journal of Dental Sciences*, 2023,26(1), 65-75. <https://doi.org/10.15517/ijds.2023.56092>
3. Park H-H., Lee I-B. Effect of glycerin on the surface hardness of composites after curing. *J Korean Acad Conserv Dent.* 2011;36(6):483-489. <https://doi.org/10.5395/JKACD.2011.36.6.483>
4. Spear Education. Why you should be using glycerin on your composite restorations. 2015. Disponible en: <https://www.speareducation.com/2015/09/why-you-should-be-using-glycerin-on-your-composite-restorations>
5. lie N, Stawarczyk B. Resin composites: Properties and practical recommendations. *Dent Mater.* 2020;36(1):8-16.
6. Fronza BM, Ayres A, Goulart M, et al. Novel nano-hybrid composites: clinical relevance and properties. *Clin Oral Investig.* 2021; 25:1135–1145.

7. Erdemir U, Yildiz E, Ozel S. Color stability of composite resins after exposure to different staining solutions. *Oper Dent*. 2020;45(3):234–243.
8. Baracco B, Craparo A, et al. Factors influencing color stability of resin-based composites. *J Esthet Restor Dent*. 2021; 33:318–326.
9. Pereira R, Lima D, et al. Influence of air-inhibition coatings on monomer release, microhardness and discoloration. *Dent Mater*. 2020;36: e1–e12.
10. Tuncer S, Karaman E. Effect of glycerin barrier on color stability and surface roughness of different composites. *J Esthet Restor Dent*. 2022;34(2):295–302.
11. Alharbi A, Ardu S, Bortolotto T, Krejci I. Influence of oxygen-inhibiting techniques on composite surface properties. *Clin Oral Investig*. 2023; 27:593–601.

## **Cualidades terapéuticas del *Aloe vera* como medicación intraconducto en Endodoncia.**

**Autores:** Montiel NB<sup>1</sup>, Avalos Llano KR<sup>2</sup>, Rocha MT<sup>3</sup>, Galiana MB<sup>4</sup>, Lugo de Langué CD<sup>5</sup>, Graciela M. Gualdoni<sup>6</sup>.

1-Especialista en Endodoncia. Docente Auxiliar. Endodoncia. FOUNNE.

2- Dra. en Química. Jefe de trabajos Prácticos. Bromatología y Nutrición. FACENA.

3-Dra. en Odontología. Profesora Adjunta. Farmacología. Facultad de Medicina de la UNNE.

4-Dra en Odontología. Jefe de trabajos prácticos. Endodoncia. FOUNNE.

5- Dr en Odontología. Jefe de trabajos prácticos. Endodoncia. FOUNNE.

6- Especialista en Endodoncia. Profesora titular en Endodoncia. FOUNNE.

**Autor de correspondencia.** Natalia Belén Montiel. Correo electrónico:

[nbmontiel@odn.unne.edu.ar](mailto:nbmontiel@odn.unne.edu.ar) [natybelenmontiel@hotmail.com](mailto:natybelenmontiel@hotmail.com)

**Lugar:** Facultad de Odontología de la U.N.N.E

### **RESUMEN**

En endodoncia el control de la infección bacteriana es uno de los pilares fundamentales que busca contribuir positivamente para lograr éxito del tratamiento. El uso de medicación intraconducto es un complemento y coadyuvante de las terapias endodónticas, donde el hidróxido de calcio sigue siendo una de las alternativas más utilizadas. Con el advenimiento de la fitoterapia el uso de plantas medicinales, como el *Aloe vera* se introdujo como posibilidad terapéutica por sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas y reparativas. El presente trabajo expresa las cualidades del *Aloe vera* como medicación intraconducto especialmente en su acción antibacteriana dada la presencia de componentes bioactivos como glucomananos, antraquinonas, compuestos fenólicos. Se realizó una búsqueda en las bases de datos Ebsco, Scielo, PubMed, Google Académico, utilizando los términos “sábila”, “*aloe vera*”, “composición química”, “terapéutica”. Seleccionando aquellos

artículos que brindaban información de los usos del aloe vera y detalles de sus efectos terapéuticos en el campo de la Endodoncia. Diversos estudios in vitro demuestran el efecto antibacteriano y bactericida sobre microorganismos implicados en afecciones pulpares y periapicales. Además el gel presenta características de viscosidad que favorecen la inserción y difusión hacia el interior del sistema radicular. Los resultados in vitro de diversos estudios muestran un uso prometedor y alentador del aloe vera como medicación intraconducto que debe ser profundizado con estudios clínicos que muestren evidencia para validar su eficacia frente a medicaciones convencionales.

**PALABRAS CLAVE:** sábila, aloe vera Barbadensis, componentes químicos, terapéutica

## INTRODUCCIÓN

La endodoncia es una disciplina, rama de la odontología que consiste en el estudio, diagnóstico, prevención y tratamiento de afecciones que comprometen al tejido pulpar y periapical. Los tratamientos endodónticos incluyen procedimientos terapéuticos que implican la limpieza, desinfección del sistema de conductos radiculares para lograr una preparación óptima que cree un espacio apto para recibir posteriormente una obturación adecuada que rellene el sistema de conductos radiculares permitiendo la mantención del órgano dental en boca y contribuyendo a mantener la integridad del sistema estomatognático.

Durante las intervenciones endodónticas se pueden dar situaciones que requieran el uso de una medicación intraconducto. La misma consiste en la aplicación de un medicamento en el interior del canal radicular para contribuir y potenciar los mecanismos de desinfección, efectos antibacterianos y favorecedores de la reparación tisular.

Los microorganismos remanentes pueden ubicarse en áreas del sistema de conductos radiculares que son inaccesibles al alcance de la instrumentación y de la irrigación<sup>(1)</sup>. Estas áreas son las zonas apicales, complejidades anatómicas, túbulos dentinarios, conductos laterales, accesorios, istmos y deltas apicales que pueden escapar de la acción mecánica y química de los procedimientos

endodónticos lo que hace necesario el empleo de medicamentos intraconductos como una estrategia entre sesiones para propiciar una reducción adicional de la carga bacteriana <sup>(2)</sup>.

Existen además otras variables que pueden afectar el resultado de los tratamientos endodónticos, factores intraoperatorios como técnica de irrigación el tamaño de la preparación apical, el uso de medicamentos intracanal, el número de citas necesarias para completar el tratamiento. Factores microbianos y del huésped también muestran un rol en los pronósticos de los casos clínicos. El grado de pérdida de hueso perirradicular, la presencia de dolor preoperatorio, la virulencia y longevidad de la infección. Numerosas condiciones médicas que reducen la capacidad del sistema inmunitario e influyen en la curación de los tejidos periapicales <sup>(1)</sup>. Todas estas situaciones deben ser analizadas y consideradas al momento de planificar las estrategias de desinfección para optimizar las posibilidades de curación.

El propósito del siguiente trabajo es destacar las cualidades terapéuticas de los componentes del gel de aloe vera como medicación intraconducto.

Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Ebsco, Scielo, PubMed, Google Académico, utilizando los términos “sábila”, “gel de aloe”, “composición química”; “terapéutica”. Seleccionando aquellos artículos que brindaban información de los usos del aloe vera y detalles de sus efectos terapéuticos en el campo de la Endodoncia.

## DESARROLLO

La medicación intraconducto (MIC) consiste en la colocación de un medicamento en el interior del sistema de conductos radiculares (SCR) con la intención de lograr efectos terapéuticos locales. Diversos estudios fundamentan su uso ya que su aplicación entre sesiones contribuye a eliminar el mayor número de bacterias que se localizan en el interior del SCR y que no son tratadas con los mecanismos de limpieza y conformación (2). El medicamento tiene la habilidad de disolverse y difundir en el interior del SCR estableciendo contacto con los microorganismos situados en el interior de los túbulos dentinarios, lo que propiciará una acción exitosa del medicamento (2).

Cabe destacar que la capacidad de difusión de la MIC está en relación al contacto directo de la medicación con la pared dentinaria (2). Por ello es de suma importancia asegurar la eliminación de restos de tejido pulpar y la capa de smear layer para aumentar la permeabilidad del túbulo dentinario.

El vehículo empleado con la medicación intraconducto también aporta un valor significativo en la difusión del medicamento dentro del túbulo dentinario (3).

La pasta alcalina a base de hidróxido de calcio mezclado con diversos vehículos se utiliza ampliamente como medicación intraconducto. El hidróxido de calcio (CaOH) disminuye la inflamación periapical, reduce el dolor posoperatorio y estimula la reparación periapical (2). Dada su alcalinidad, capacidad de disolución de los tejidos, capacidad de neutralizar endotoxinas y propiedades antibacterianas, varios estudios encuentran ventajas considerándolo como medicamento de elección (1).

El aloe vera (AL) es un gel y puede usarse como medicamento intraconducto. El aloe vera es biocompatible y no presenta problemas de toxicidad a largo plazo adyacentes a los tejidos que rodean la raíz (4, 5,6).

En la medicina actualmente la fitoterapia, una práctica que hace uso de preparados a base de plantas medicinales (7) para su uso dentro del campo de la salud, en tratamientos preventivos y de enfermedades (8). Se considera como alternativa debido a los efectos secundarios de las drogas sintéticas.

Así mismo en el campo de la Endodoncia el uso de medicamentos herbales comienza a considerarse debido a la toxicidad de fármacos sintéticos que aumentan la resistencia bacteriana. Destacándose además que los medicamentos herbales son económicos, están disponibles y son menos tóxicos, tienen propiedades terapéuticas y son bien recibidos por el paciente (9,10). En consecuencia, los medicamentos naturales y / o herbales son cada vez más populares en endodoncia (11,12).

Numerosos estudios expresan las propiedades antibacterianas y antiinflamatorias de los medicamentos naturales que demuestran diversos beneficios como menor toxicidad, menor resistencia microbiana, menor costo y mayor disponibilidad (11,13, 14). Dentro de los cuales se

incluyen los siguientes medicamentos naturales como el propóleo, el carvacrol el comino el jengibre, el aloe vera (5,11, 14, 15) y la curcumina.

En consecuencia, los medicamentos naturales y/ o herbales son cada vez más populares en endodoncia (11,12).

El aloe vera es una planta medicinal de amplio uso terapéutico debido a los beneficios otorgados por sus componentes constituyentes. Por sus propiedades humectantes, analgésicas, antiinflamatorias, inhibidoras del dolor, bactericidas, anti fúngicas, antivirales y cicatrizantes (16, 17,18) se ha usado por años en la medicina tradicional (19,20).

El Aloe vera (o aloe barbadensis) es una planta de la familia liliáceas, rica en nutrientes y compuestos activos como vitaminas, enzimas, minerales, lignina, aminoácidos (15). Es un medicamento natural que con efectos antiinflamatorios, antibacterianos con capacidad de regeneración tisular y capaz de crear una barrera mineralizada (5, 11, 14). Dentro de sus componentes las aloinas y las barbadoinas son responsables de sus efectos antibacterianos (15).

El aloe vera se presenta como un compuesto herbal antibacteriano, antiviral, antifúngico y antiinflamatorio con efectos inhibidores sobre patógenos orales como faecalis, Streptococcus pyogenes y Candida albican. acción está dada por los compuestos fenólicos de antraquinona presentes en la planta (21,22).

La presencia de azúcares en su composición, monosacáridos (glucosa y fructosa) y polisacáridos ( glucomanosa o acemanano) contribuyen a sus efectos positivos en el sistema inmunológico con propiedades inmunomoduladoras aumentando el nivel de anticuerpos, aumentando la acción de linfocitos T y de glóbulos blancos conduciendo a una mayor cicatrización de heridas (23,24).

Ciertos estudios manifiestan que las propiedades antibacterianas del aloe vera son mejores que las del hidróxido de calcio. Tiene un fuerte efecto antibacteriano en comparación con el hidróxido de calcio como antioxidante y reduce la producción de radicales libres, siendo su citotoxicidad menor que la del hidróxido de calcio (9, 22, 25,26).

El aloe vera es un gel, biocompatible, no presenta problemas de toxicidad a largo plazo adyacentes a los tejidos que rodean la raíz y puede usarse como medicamento intraconducto (4,5).

Souza Bautista et al. realizaron un estudio utilizando los vehículos agua destilada, propilenglicol y aloe vera; que permitieron la difusión de iones hidroxilos hacia los túbulos dentinarios(3). En un estudio in vitro se utilizó el gel de aloe vera como vehículo de pasta alcalina midiendo la difusión iónica de calcio y oxhidrúlos donde se concluyó que se logra un pH alcalino que podría ser de gran importancia debido a la acción antibacteriana que ejercería y por las características difusionales que ofrece lo hacen apto para ser utilizado como un posible vehículo de pastas alcalinas(27).

Otro estudio evaluó el efecto antibacteriano de diferentes medicamentos intraconductos (solución salina, hidróxido de calcio, Aloe vera, Ricinus communis y extracto de limón) sobre piezas dentarias inoculadas e incubadas por 21 días con el *Enterococcus faecalis*. Después de 7 días de la colocación del medicamento intraconducto, se evaluó la eficacia del medicamento intraconducto contra *E. faecalis* mediante microscopía confocal, cuyos resultados reportaron que el hidróxido de calcio presentó la menor cantidad de bacterias vivas, seguido de A. vera, limón, R. communis y solución salina (control). No hubo diferencias significativas entre el hidróxido de calcio, A. vera y limón.

Galiana M et al. realizaron un estudio in vitro donde se utilizaron formulaciones de pastas alcalinas adicionadas con diferentes concentraciones de gel de aloe vera con propilenglicol y polietilenglicol (al 50%, 80% y 100%) para probar la eficacia antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* concluyéndose que las formulaciones que presentaban aloe vera al 80 y 100% presentaron mejor eficacia (28).

Así mismo Ghasemi et al realizaron un estudio que respalda la eficacia antibacteriana del aloe vera como material antimicrobiano natural en la medicación intraconducto donde se observó la eliminación de biopelículas de *E. faecalis* en la 4ta. y 6 ta. semana de desarrollo mediante el método de recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) (29). Esto coincide con otro estudio in vitro realizado por Bukhari et al et al. donde se comparó la eficacia antibacteriana como medicación intraconducto del Aloe vera (AV) y del hidróxido de calcio frente al *Enterococcus faecalis*, destacándose como una alternativa viable, opción biocompatible con bajo riesgo de toxicidad aunque no superior respecto al hidróxido de calcio (6).

## DISCUSIÓN

La eliminación de bacterias de los conductos radiculares infectados es una tarea compleja. El medicamento intraconducto desempeña un papel fundamental en el éxito del tratamiento de conductos radiculares. Ante el aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos, existe un gran interés en el desarrollo de otras clases de antimicrobianos para el control de las infecciones en el uso de medicamentos intraconducto a base de hierbas que permiten creer en resultados prometedores en estudios *in vitro*, y enfatizar en estudios *in vivo* para obtener una mejor evidencia científica que se ve limitada debido a consideraciones éticas (30).

El aumento constante de cepas resistentes a los antibióticos y los efectos secundarios causados por los fármacos sintéticos ha impulsado a los investigadores a buscar alternativas herbales en endodoncia (31).

Bukhari et al expresan que el aloe vera tiene una eficacia antimicrobiana comparable a la de CaOH, lo cual es apreciable para su uso como medicación intraconducto (6). Así mismo Tariq et al. en su estudio encontraron una eficacia superior o igual a la de CaOH y solución salina pero menor que la del hidróxido de calcio asociado a clorhexidina (CHX) e hipoclorito de sodio (NaOCl). Esto coincide con los resultados de Ghasemi et al. que expresan que AV muestra una actividad antibacteriana significativa, especialmente en biofilms maduros, aunque inferior a la de CHX y NaOCl (29).

Kurian et al también manifiestan que el aloe vera puede plantearse como alternativa de medicación intraconducto para casos resistentes y retratamiento. Sus estudios mostraron al quinto y séptimo día de evaluación la actividad antibacteriana fue mayor que la del hidróxido de calcio (32).

Eskandarinezhad et al. compararon CaOH, curcumina y AV como medicamentos intraconducto contra biopelículas de *E. faecalis*, donde se observó una disminución de la presencia de *E. faecalis* respecto al grupo control. La curcumina, el CaOH y el AV mostraron una actividad antibacteriana del 99,5 %, 99,41 % y 98,79 %, respectivamente mostrando el uso potencial del AV en la terapia endodóntica como un complemento o sustituto útil de los medicamentos tradicionales. También destaca la capacidad de la planta para aumentar gradualmente la actividad antibacteriana contra biopelículas persistentes (33). Sin embargo, en otro estudio *in vivo* Digole P et al. compararon

AV, curcumina y CaOH como medicación intracanal. Los resultados mostraron que la curcumina presentó la mayor eficacia antimicrobiana, seguida de CaOH y luego AV (34). Así mismo Patil et al. Compararon la eficacia antimicrobiana de AV, CaOH, extracto de Curcuma longa y extracto de hongos. Encontraron que C. longa mostró la mayor reducción de unidades formadoras de colonias (CFU), seguida de CaOH y luego AV (35). Contrastando con las conclusiones anteriores el Aloe vera presenta propiedades bactericidas superiores o similares a las de la solución salina y el CaOH, pero la CHX, el NaOCl y el propóleo mostraron mayores propiedades antibacterianas contra E. faecalis que el Aloe vera según una revisión realizada por Tariq et al (36).

### **CONCLUSIÓN:**

Numerosos estudios expresan las propiedades terapéuticas de los compuestos naturales en el campo de la salud. El Aloe vera se presenta como una propuesta terapéutica válida en el campo de la endodoncia. Sus componentes presentan efectos antibacterianos que son prometedores y crean la posibilidad de aplicación clínica a futuro. La mayoría de estudios expresan su efecto positivo sobre la eficacia bacteriana. Si bien existen pocos estudios in vivo, se deben profundizar conocimientos en este aspecto para determinar su uso potencial como medicación intraconducto en endodoncia.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA**

- 1-Zapata RO, Noblett WC, Perez Ron A, Zhou Y, Vera J. Estado actual y direcciones futuras de los medicamentos intracanales. Int Endod J. 2022;55(Suppl 3):613-36.
- 2- Jimenez Rojas LF, Juarez MP, Ferreira Alves FR. Capacidad de penetración y difusión de la medicación intraconducto en túbulos dentinales, conductos laterales e istmos: una revisión sistemática. Int J Odontostomat. 2021;15(3):727-33.
- 3-Silva A, Brasil E, Souza S, Gomes J, Vaz I, Fontes M. Antimicrobial effect and transdental diffusion of new intracanal formulations containing nitrofurantoin or doxycycline. Braz Dent J. 2014;25(5):425-9.

- 4-Songsiripradubboon S, Kladkaew S, Trairatvorakul C, et al. Stimulation of dentinogenic activity in pulp by acemannan in teeth with lipopolysaccharide-induced pulp inflammation. *J Endod.* 2017;43(7):1097-103. doi:10.1016/j.joen.2017.01.037.
- 5-Carvalho NC, Guedes SAG, Albuquerque-Júnior RLC, et al. Analysis of Aloe vera cytotoxicity and genotoxicity associated with endodontic medication and laser photobiomodulation. *J Photochem Photobiol B.* 2018;178:348-54. doi:10.1016/j.jphotobiol.2017.11.027.
- 6- Bukhari SH, Abraham D, Mahesh S. The efficacy of Aloe vera against *Enterococcus faecalis* as an intracanal medicament: a systematic review and meta-analysis. *Cureus.* 2024;16(9):e70140. doi:10.7759/cureus.70140.
- 7-Karimi N, Ghanbarzadeh B, Hamishehkar H, Mehramuz B, Kafil HS. Antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of turmeric extract-loaded nanostructured lipid carrier (NLC). *Colloid Interface Sci Commun.* 2018; 22:18-24. doi:10.1016/j.colcom.2017.11.006.
- 8-Galleguillos MA, Fernandez Da Silva R. Aplicación terapéutica del Aloe vera L. en odontología. *Salus.* 2013;17(3):42-50.
- 9-Vasudeva A, Sinha DJ, Tyagi SP, Singh NN, Garg P, Upadhyay D. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine gel, calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Singapore Dent J.* 2017;38:39-44. doi:10.1016/j.sdj.2017.06.001.
- 10-Jaidka S, Somani R, Singh DJ, Sheikh T, Chaudhary N, Basheer A. Herbal combat against *E. faecalis*: an in vitro study. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2017; 7(3):178-81. doi:10.1016/j.jobcr.2017.08.001.
- 11-Sowjanya J, Chandana C. Antimicrobial efficacy of calcium hydroxide, propolis, and Aloe vera as intracanal medicament: a review. *J Adv Pharm Edu Res.* 2017; 7(3).
- 12-Borges AH, Guedes OA, Volpato LER, Siebert Filho G, Borba AM, Zina O, et al. Physicochemical properties of MTA and Portland cement after addition of Aloe vera. *Iran Endod J.* 2017; 12(3):312-6.

13-Saha S, Nair R, Asrani H. Comparative evaluation of propolis, metronidazole with chlorhexidine, calcium hydroxide and Curcuma longa extract as intracanal medicament against *E. faecalis*: an in vitro study. *J Clin Diagn Res*. 2015; 9(11):ZC19-23.

14-de Bretas LP, de Lima CO, Raposo NRB, Aarestrup BJV, do Prado M, Neiva C. Antimicrobial activity and biocompatibility of a calcium hydroxide and Aloe vera-based intracanal medication. *Rev Bras Odontol*. 2017; 74(3):180-6.

15-Kusuma CS, Manjunath V, Gehlot PM. Comparative evaluation of neem, Aloe vera, chlorhexidine and calcium hydroxide as an intracanal medicament against *E. faecalis*: an in vitro study. *J Clin Diagn Res*. 2018;12(3).

16-Salehi B, Albayrak S, Antolak H, Kregiel D, Pawlikowska E, Sharifi-Rad M, et al. Aloe genus plants: from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(9):2843. Doi: 10.3390/ijms19092843.

17-Alven S, Khwaza V, Oyediji OO, Aderibigbe BA. Polymer-based scaffolds loaded with Aloe vera extract for the treatment of wounds. *Pharmaceutics*. 2021; 13(7):961. Doi:10.3390/pharmaceutics13070961.

18-Liu C, Cui Y, Pi F, Cheng Y, Guo Y, Qian H. Extraction, purification, structural characteristics, biological activities and pharmacological applications of acemannan, a polysaccharide from Aloe vera: a review. *Molecules*. 2019; 24(8):1554. Doi: 10.3390/molecules24081554.

19-Chi Leung-Hi P, Weng YW, Ng FSF, et al. Preparation and characterization of chitosan/sodium alginate (CSA) microcapsule containing Cortex Moutan. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2013; 434:95-101.

20-Guo X, Mei N. Aloe vera: a review of toxicity and adverse clinical effects. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2016;34(2):77-96. doi:10.1080/10590501.2016.1166826.

21-Amjed S, Junaid K, Jafar J, Amjed F, Javed S, Amjed F, et al. Detection of antibacterial activities of Miswak, Kalonji and Aloe vera against oral pathogens & anti-proliferative activity against cancer cell line. *BMC Complement Altern Med*. 2017; 17(1):265. Doi:10.1186/s12906-017-1778-0.

- 22-Khatri SG, Samuel SR, Acharya S, Patil ST. Antiplatelet, antifungal effectiveness of Aloe vera among intellectually disabled adolescents: pilot study. *Pediatr Dent*. 2017; 39(7):434-8.
- 23-Mangaiyarkarasi SP, Manigandan T, Elumalai M, Cholan PK, Kaur RP. Benefits of Aloe vera in dentistry. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015;7(Suppl 1):S255-9. doi:10.4103/0975-7406.155943.
- 24- Montiel NB, Rocha MT, Galiana MB, Lugo de Langhe CD, GualdoniGM. Componentes del gel de aloe vera y su relación con efectos terapéuticos: una alternativa para su uso en la aplicación clínica. *Revisión. REDI*. 2022;6(1).
- 25- Varadan P, Ganesh A, Konindala R, Nagendrababu V, Ashok R, Deivanayagam K. Comparison of the antibacterial efficacy of alexidine and chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Cureus*. 2017; 9(10):e1805. doi:10.7759/cureus.1805.
- 26- Jain S, Rathod N, Nagi R, et al. Antibacterial effect of Aloe vera gel against oral pathogens: an in vitro study. *J Clin Diagn Res*. 2016; 10(11):ZC41-4. doi:10.7860/JCDR/2016/21450.8890.
- 27-Montiel NB, Finte SB, Avalos Llano KR, Rocha MT. Comparación in vitro de la difusión iónica de pastas de hidróxido de calcio usadas como medicación intraconducto con diferentes vehículos. *Rev Esp Endod*. 2015; 33(1):19-23.
- 28- Galiana MB, Karaben V, Ortega SM, Britos MR, Galiana AV, Montiel NB, et al. Efecto antibacteriano de pastas alcalinas adicionadas con Aloe vera frente al *Enterococcus faecalis*. *Rev Canal Abierto*. 2019; 39:10-15.
- 29-Ghasemi N, Behnezhad M, Asgharzadeh M, Zeinalzadeh E, Kafil HS. Antibacterial properties of Aloe vera on intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* biofilm at different stages of development. *Int J Dent*. 2020;2020:8855277. doi:10.1155/2020/8855277.
- 30-Kishan KV, Shah NC, Das DT, Parikh M. Herbal medicaments in endodontics - current guidelines for in vivo studies in India. *J Conserv Dent*. 2019; 22(5):411-4. doi:10.4103/JCD.JCD\_169\_19.
- 31-Ambareen Z, Chinappa A. Cuidemos el planeta: mantengamos limpio el conducto radicular. *Int J Dent Sci Res*. 2014; 2:21-5.

- 32-Kurian B, Swapna DV, Nadig RR, Ranjini MA, Rashmi K, Bolar SR. Efficacy of calcium hydroxide, mushroom, and Aloe vera as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Endodontology*. 2016; 28(2):137-42. doi:10.4103/0970-7212.195427.
- 33-Eskandarinezhad M, Barhaghi MHS, Allameh K, Sadrhaghighi A, Katebi K. The comparison of calcium hydroxide, curcumin, and Aloe vera antibacterial effects on 6-week-old *Enterococcus faecalis* biofilm as an intracanal medicament: an in vitro study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2022; 19:14. doi:10.4103/1735-3327.338777.
- 34- Digole VR, Dua P, Shergill SPS, Pathak P, Kumar V, Prakash P. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of calcium hydroxide, curcumin and aloe vera as an intracanal medicament: An in-vivo study. *IP Indian J Conserv Endod*. 2020; 5(3):114-119. doi:10.18231/j.ijce.2020.027.
- 35- Patil V, Akal N, Biradar S, Ratnakar P, Rairam S, Batta O. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of mushroom, Aloe vera, and Curcuma longa with calcium hydroxide as an intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2022; 25(4):415-419. doi: 10.4103/jcd.jcd\_208\_22.
- 36- Tariq R, Khurshid Z, Farooqui WA, Adanir N. Anti-bacterial efficacy of Aloe vera against *E. faecalis* in comparison to other intracanal medicaments: A systematic review and meta-analysis. *Saudi Dent J*. 2023; 35(5):451-467. doi: 10.1016/j.sdentj.2023.05.007.

## **Extractos etanólicos de propóleos contra *Candida albicans*: actividad antifúngica, biofilm y adhesión en materiales protésicos.**

**Autores:** Huber LB<sup>1</sup>, López Vallejos MJ<sup>2</sup>, Galiana MB<sup>3</sup>.

1- JTP. Unidad Curricular: Clínica Integral Adulto. Coordinadora del Laboratorio de Investigación y desarrollo. Área Fitodontología

2-. JTP. Unidad Curricular: Cirugía Dentomaxilar. Integrante del Laboratorio de Investigación y desarrollo. Área Fitodontología

3- Dra en Odontología. Jefe de trabajos prácticos. Endodoncia. FOUNNE. Integrante del Laboratorio de Investigación y desarrollo. Área Fitodontología

**Autor de correspondencia.** Laura Huber, Dirección postal: Argentina, Corrientes, Av. Libertad 5450. CP: 3400. Teléfono: +54 0379 4457992. +54 3794655741. Email: [lbhuber@odn.unne.edu.ar](mailto:lbhuber@odn.unne.edu.ar)

**Lugar:** Facultad de Odontología de la U.N.N.E

### **RESUMEN**

El propóleos, un fitofármaco de origen mixto, vegetal y animal, que es utilizado ampliamente debido a su compleja composición química, existiendo particularidades fitodemográficas que la diferencian en sus principios activos. La posibilidad del uso de propóleos en odontología ha alcanzado un alto desarrollo en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas aprovechando al máximo sus propiedades. Entre éstas se pueden destacar las actividades bacteriostáticas, bactericida, fungistática, fungicida, virustática, viricida, antioxidante, antitumoral, cicatrizante, entre otras. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de propóleos (EEP) sobre *Cándida albicans*, evaluar la capacidad formadora de biofilms y su adherencia a las resinas acrílicas. Se utilizó EEP al 80% para prueba de difusión en agar con discos y pocillos con el fin de determinar la sensibilidad y por medio de los

métodos de la policubeta, del tubo y agar rojo congo para observar la capacidad de formación de biofilms y la adherencia a la superficie de resinas acrílicas. La actividad inhibitoria se demostró con halos  $>$  a 10mm, se observó la capacidad de las cepas en producir biofilms y su adhesión con los métodos mencionados. A partir de este trabajo podemos concluir que el EEP obtenido tiene actividad antifúngica in vitro sobre *Candida albicans* spp aislada de pacientes con candidiasis oral, observándose que estas levaduras son formadoras de biofilms microbiano con la capacidad de adherirse a diferentes superficies.

**PALABRAS CLAVE:** *Cándida Albicans* – Propóleos – Actividad antifúngica – Biofilms

## INTRODUCCIÓN

El género *Candida* comprende más de 150 especies cuya principal característica es la ausencia de reproducción sexual (1), con un modo de desarrollo predominantemente unicelular. Solo una docena de estas especies poseen la capacidad de adaptarse a 37 °C y actuar como patógenos oportunistas en humanos, entre ellas *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* y *C. parapsilosis* (2,3). Estas levaduras presentan un marcado dimorfismo celular y, en el tejido infectado, coexisten tanto formas levaduriformes como filamentosas, lo cual constituye un rasgo clave de su virulencia (4,5).

*C. albicans* se caracteriza además por su capacidad de formar biofilms (6), los cuales presentan una arquitectura tridimensional compleja y altamente organizada. La formación de biofilms representa un importante factor de patogenicidad, ya que confiere tolerancia a diversas terapias antifúngicas mediante la limitación de la penetración de fármacos a través de la matriz extracelular (7). Adicionalmente, el crecimiento en forma de biofilm protege a las células fúngicas de la respuesta inmune del hospedador y promueve la diferenciación fenotípica asociada a la tolerancia antifúngica (8).

En la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, numerosos investigadores han

evaluado la actividad antifúngica de productos naturales sobre *Candida* spp., destacándose entre ellos el propóleo. Este fitofármaco de origen mixto, vegetal y animal, es una resina compleja cuya composición química varía según factores geográficos y botánicos, determinando diferencias significativas en sus principios activos (9–11). En Odontología, el uso del propóleo ha cobrado creciente interés debido a sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antifúngicas. Se ha demostrado que flavonoides como la pinocembrina y la galangina, así como el éster fenético del ácido cafeico (CAPE), poseen actividad antifúngica mediante mecanismos asociados a la inhibición de la ARN-polimerasa y alteraciones en membranas y paredes celulares (12,13).

Diversos estudios *in vitro* recientes han confirmado la eficacia antifúngica del propóleo frente a *Candida albicans*, incluyendo su actividad inhibitoria del crecimiento, la formación de biofilms y la adhesión a superficies protésicas y acrílicas, lo que refuerza su potencial aplicación clínica en el manejo de la candidiasis oral (14–16-17).

El objetivo del este trabajo fue determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de propóleo (EEP) sobre *Candida albicans* ssp, evaluar la capacidad formadora de biofilms de esta cepa y su adherencia a diferentes superficies.

## DESARROLLO

Los extractos se obtuvieron por maceración simple utilizando etanol 80% como solvente de extracción y un 20% de materia bruta prima de propóleo procedente de Mendoza, Argentina, que fueron rotoevaporados para los ensayos de susceptibilidad. Para el aislamiento microbiano se tomaron muestras con hisopo estéril de la mucosa palatina de pacientes con Estomatitis Subplaca y fueron trasladadas en medios de transporte (Culturette, Eurotubo®), la identificación se realizó mediante las características fenotípicas, como la descripción de la macro y micromorfología, la tipificación auxanográfica y el medio diferencial CHROM agar *Candida*. Las cepas identificadas se conservaron a -80° C utilizando medio nutritivo adicionado con 30% de glicerol. Una vez identificada se estandarizó el Inóculo de *Candida albicans*, en suspensión de

levaduras en fase logarítmica, a la turbidez correspondiente al tubo 1 del nefelómetro de Mac Farland para los ensayos de sensibilidad in vitro mediante pruebas de difusión en agar con pocillos y discos impregnados.

En una caja de Petri con 20 mL de agar Sabouraud se realizaron perforaciones con un sacabocados de 5 mm de diámetro y se realizó la siembra en superficie con hisopo estéril, en cada una se colocaron 10 µL del extracto de al 20%, además, previamente fueron impregnados discos de papel Whatman N° 4 de 5 mm de diámetro, con 10 µl del extracto, se dejaron secar en estufa a 37° C durante 24 horas y fueron colocados en la placa. Para descartar el efecto del solvente se realizó un blanco con alcohol de 80°. Las placas se incubaron en estufa a 35-37 °C durante 48 horas en condiciones aeróbicas.

Para evaluar la capacidad de las cepas aisladas de producir biofilms se utilizaron:

**1.Método de la policubeta:** donde la cepa fue inoculada en 10 mL de caldo Sabouraud adicionado con 1% de glucosa e incubado a 37 °C durante 24 horas, luego en el próximo tubo se diluyó (1:100) en 10 mL de medio y por último se agregó a 2 tubos con estas disoluciones 500 µl de extracto etanólico de propóleos (EEP). Alícuotas de estas suspensiones se inocularon en pocillos de policubetas de poliestireno que fueron incubados a 37 °C durante 24 horas. Para el revelado, los pocillos se lavaron suavemente cuatro veces con solución fisiológica estéril, se fijó con una solución de acetato de sodio al 2% y se dejó secar en posición invertida durante 1 hora. Las células adheridas se colorearon con una solución de cristal violeta al 0,2% durante 5 minutos, el exceso de colorante se eliminó por dos lavados con solución fisiológica estéril. Los resultados se expresaron como: 0- no formador, 1- formador de biofilms. Se empleó un control negativo de medio sin inocular.

**2- Método del tubo:** una ansada de cultivo se inoculó en tubos de 10 mL caldo Sabouraud adicionado con 1% de glucosa e incubado a 37 °C durante 24 horas. Luego del período de incubación los tubos fueron lavados suavemente cuatro veces con solución fisiológica estéril, secada en posición invertida durante 1 hora y teñida con una solución de cristal violeta al 0,2%, el exceso de colorante se eliminó por dos lavados con solución

fisiológica estéril. Los resultados se expresaron como: 0- no formador, 1- formador de biofilms. Se emplearon un control de medio sin inocular.

**3- Método del Rojo Congo:** placas conteniendo medio Agar Rojo Congo, 10 g/l de agar y 8 g/l de rojo congo, fueron inoculadas con *C. albicans* e incubadas a 37°C durante 24 horas. La aparición de colonias negras con una consistencia cristalina y seca indicó la capacidad de la cepa de producir biofilms.

Para determinar la capacidad de las cepas de adherirse a diferentes superficies inertes se aplicó el método del tubo modificado, con la adición de placas de acrílico al caldo de cultivo Sabouraud. Para el revelado del biofilms se colocaron las placas en tubos estériles y se continuó repitiendo el mismo procedimiento citado anteriormente.

Los resultados de los halos de inhibición obtenidos por la técnica de difusión en agar por discos impregnados y pocillos se presentan en tablas y figuras, presentando media y desvío estándar. La comparación de las medias de discos y pocillos se realizó por medio de la T de Student para un  $p < 0.05$  utilizando programa Infostat 2006.

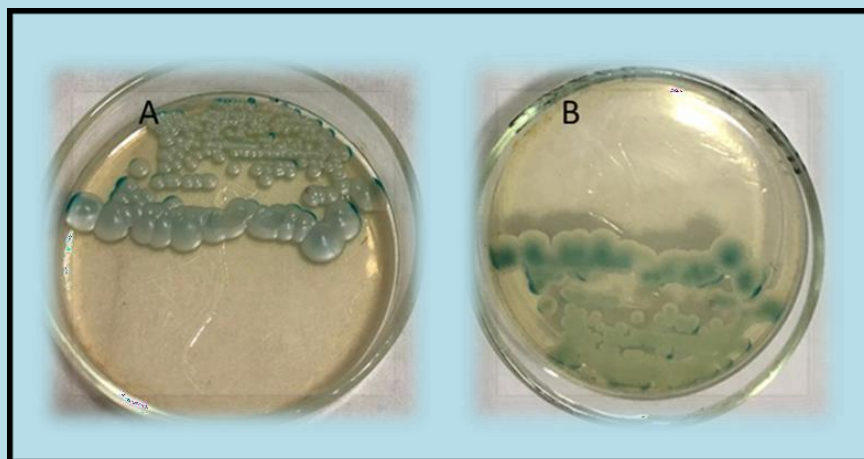
## RESULTADOS

Todas las muestras obtenidas de la cavidad bucal de la zona palatina de los pacientes fueron identificadas como *Cándida albicans* según técnica descrita, Fig. 1.

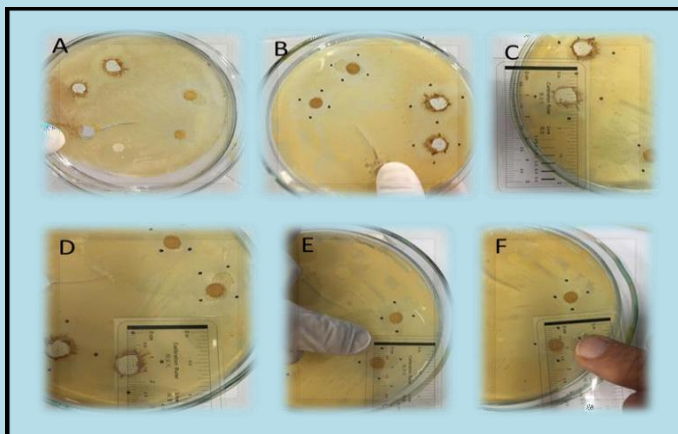
Mediante la prueba de difusión en agar con pocillos y discos impregnados, se determinó la actividad inhibitoria del EEP frente a la cepa *Cándida albicans*, Fig 2. Se tomó como parámetro un halo de inhibición  $> 10\text{mm}$  como susceptible y  $< 10\text{ mm}$  como no susceptible. Se pudo observar que en ambas técnicas el halo de inhibición del EEP sobre el crecimiento de *C. albicans* fue  $> 10\text{mm}$ , reportando la susceptibilidad del microorganismo frente al producto natural. Así mismo el halo de inhibición obtenido a partir de la técnica de pocillo fue superior al de los discos impregnados. En la Tabla 1 se muestran las mediciones de las pruebas realizadas en las dos técnicas y su media y desvío. En la Tabla 2 la comparación de medias de las 2 técnicas.

En la Fig. 3 se observa la evaluación de capacidad de formación de biofilms por el método de la policubeta. En la técnica del tubo, Fig. 4, se observó formación de biofilms en los tubos sembrados con la cepa en estudio. Los resultados obtenidos para evidenciar la presencia de colonias negras coincidentes con cepas formadoras de biofilms fueron positivos para esta cepa, se pudo confirmar la capacidad de las colonias aisladas en el presente trabajo. En cuanto a la formación de biofilms en las placas acrílicas el revelado demostró la capacidad de la cepa para adherirse a la superficie de la resina acrílica, Fig. 5

**Figura 1:** Resultados de la identificación de especie de *Candida albicans* por método de Chrom agar. A: vista superior de la placa y B: vista inferior de la placa.



**Figura 2:** Prueba de difusión en agar por método de pocillos y discos impregnados. A: observación de los resultados de la inhibición, B: marcación de los límites de los halos de discos y pocillos, C, D, E y F: medición con regla milimetrada en los dos sentidos.

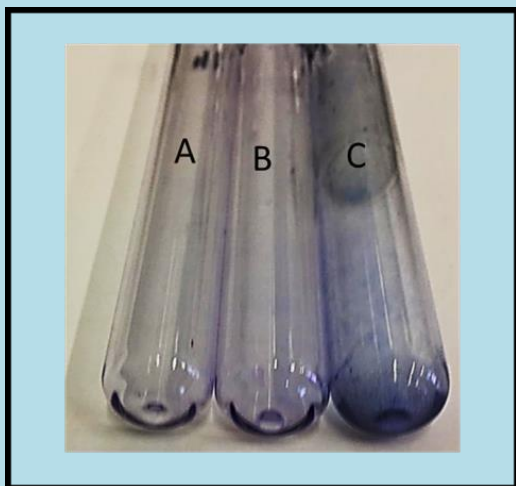


**Figura 3:** Método de policubeta A) Suspensiones inoculadas en la policubeta. 1: medio fresco sin inocular, 2: suspensión de *C. albicans* spp en medio, 3: suspensión 1/100 de *C. albicans* sp en medio, 4: suspensión de *C. albicans* spp más EEP y 5: suspensión 1/100 de *C. albicans* spp más EEP. a, b, c: por triplicado. B) Resultado de la policubeta. 1: a, b y c no formador de biofilms, 2 y 3: a, b y c formador de biofilms y 4 y 5: a, b y c cubeta con tinción positiva.

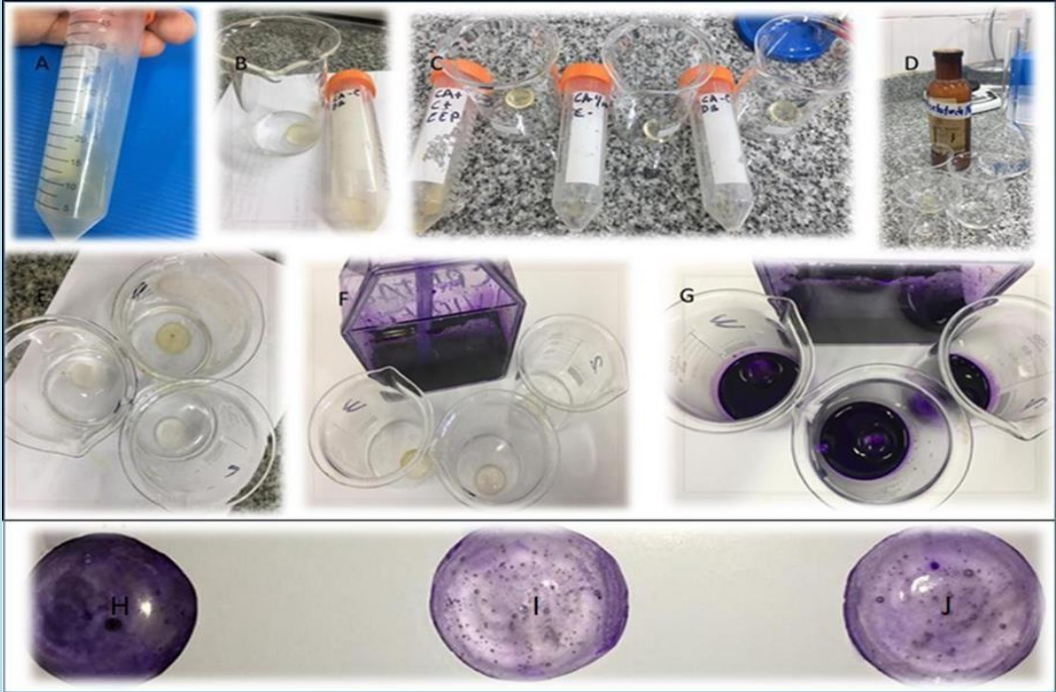


**Figura 4:** Resultado de la tinción de los tubos de vidrio para evaluar la formación de biofilms. A: tubo de vidrio inoculado con 1/100 de *C. albicans*, B: tubo de vidrio inoculado con *C. albicans* y C: tubo de vidrio inoculado con

C albicans más EEP.



**Figura 5:** Técnica de adherencia a las resinas acrílicas. A: tubos estériles con medio incubado con *C albicans*, B: placa de acrílico transparente incubado por 24 horas, C: lavado con solución fisiológica de las placas de acrílico, D: placas de acrílicos fijadas con acetato de sodio al 0,2%, E: secado de las placas, F: preparación del colorante y G: tinción con cristal violeta.



**Tabla 1:** Medición de halos de inhibición para el EEP frente a *Candida albicans*. Promedio total de difusión con técnica de pocillo= 21.9. Promedio total difusión con discos de papel = 14m

| Ensayo                  | Diám. Der -izq | Diám. sup – Inf. | Promedio |
|-------------------------|----------------|------------------|----------|
| Difusión con pocillos 1 | 22,5 mm        | 20.5mm           | 21.5mm   |
| Difusión con pocillo 2  | 21mm           | 24mm             | 22.5mm   |
| Difusión con pocillo 3  | 23mm           | 22mm             | 22.5mm   |
| Difusión con pocillo 4  | 19.5mm         | 23mm             | 21.2mm   |
| Difusión con papel 1    | 16mm           | 13.5mm           | 14.7mm   |

|                      |               |               |               |
|----------------------|---------------|---------------|---------------|
| Difusión con papel 2 | <b>16mm</b>   | <b>17.5mm</b> | <b>16.7mm</b> |
| Difusión con papel 3 | <b>12mm</b>   | <b>11.5mm</b> | <b>11.7mm</b> |
| Difusión con papel 4 | <b>12.5mm</b> | <b>13.5mm</b> | <b>13mm</b>   |

**Tabla 2:** Prueba T para comparar medias de las pruebas de pocillos y discos.

| Variable                 | n        | Media        | D.E         | LI (95)      | LS (95)      | T            | P(bilateral)      |
|--------------------------|----------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-------------------|
| <b>Promedio pocillos</b> | <b>4</b> | <b>21.93</b> | <b>0.68</b> | <b>20.85</b> | <b>23.00</b> | <b>66.95</b> | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>Promedio discos</b>   | <b>4</b> | <b>14.03</b> | <b>2.17</b> | <b>10.58</b> | <b>17.47</b> | <b>12.95</b> | <b>0,0010</b>     |

## DISCUSION

En el presente estudio se demostró la actividad inhibitoria in vitro del extracto etanólico de propóleos (EEP) frente a *Cándida albicans*, con halos de inhibición de 21,9 mm en la técnica de pocillos y 14 mm en discos impregnados. La mayor difusión observada en pocillos coincide con reportes recientes que indican que en los discos parte de los compuestos fenólicos puede quedar retenida en la matriz del papel, reduciendo su disponibilidad antifúngica (18). Resultados similares fueron publicados por PrataViera et al. (2022), quienes observaron mayor efecto antifúngico del EEP frente a *C. albicans* cuando el extracto se aplicó en pocillos en comparación con discos debido a la liberación más eficiente de flavonoides y CAPE (19).

Estudios contemporáneos confirman la efectividad del propóleo como agente antifúngico. Rodríguez-Canales et al. (2023) demostraron halos superiores a 15 mm frente a *C. albicans* con extractos etanólicos latinoamericanos, mientras que Mohammadi (2021) registró efectos fungistáticos y fungicidas dependientes de la concentración y del origen geográfico del propóleo (20,21). De manera similar, De Farias et al. (2020) reportaron que el EEP inhibe la formación de hifas y genera desorganización celular, atribuyendo esta acción a los flavonoides pinocembrina, galangina y CAPE (22).

Otras investigaciones recientes compararon la acción del propóleo con antifúngicos convencionales. Castillo-Hernández et al. (2022) informaron que combinaciones de EEP con fluconazol potencian el efecto antifúngico frente a cepas resistentes, mientras que Ribeiro et al. (2021) demostraron que el propóleo muestra una CIM comparable a la de nistatina en cepas clínicas de *C. albicans* (23,24). Estos datos respaldan los resultados obtenidos en este estudio y confirman que el propóleo representa una alternativa terapéutica viable para el manejo de la candidiasis oral, especialmente ante el aumento de la resistencia antifúngica documentada desde 2020 (Arastehfar, et.,al 2020).

Respecto a la capacidad formadora de biofilms, en este estudio se corroboró la producción de biofilms en 24 horas mediante las técnicas de tubo, policubeta y agar rojo Congo. Este hallazgo coincide con investigaciones recientes que describen la rápida maduración de biofilms de *C. albicans*, los cuales adquieren estructura tridimensional en menos de un día, aumentando su resistencia a agentes antimicrobianos. Rossoni et al. (2021) destacaron que la formación de biofilms constituye el principal mecanismo de virulencia de *C. albicans* y explicaron que su matriz extracelular reduce la penetración de antifúngicos y protege al microorganismo frente a la respuesta inmune.

En relación con la adhesión a superficies acrílicas, los resultados observados también coinciden con literatura reciente. Un estudio de Wang et al. (2020) demostró que la rugosidad superficial del acrílico favorece la adhesión de *C. albicans* y potencia la formación de biofilms, lo que explica la colonización observada en las placas de resina utilizadas en este trabajo (28). Además, Pineda et al. (2021) confirmaron que *C. albicans*

muestra mayor afinidad por acrílicos de polimetilmetacrilato (PMMA) y por poliamidas, debido a sus características hidrofóbicas y microtopográficas (29).

Por su parte, Cavalheiro y Teixeira (2021) indicaron que la colonización de *Candida* puede presentarse tanto en biofilms monoespecíficos como mixtos, coexistiendo con bacterias orales en condiciones de desbalance microbiológico, lo que incrementa la resistencia y persistencia clínica de las lesiones (30). Esto respalda la importancia de evaluar la interacción de *C. albicans* con biomateriales odontológicos como parte del análisis de su patogenicidad.

Ante la diversidad de métodos disponibles para evaluar la formación de biofilms y la adhesión fúngica, los procedimientos empleados en este estudio —incluyendo tinciones con cristal violeta y rojo Congo— han sido validados recientemente por investigaciones *in vitro* como técnicas confiables y reproducibles para la cuantificación de biomasa fúngica adherida (31). En conjunto, los resultados obtenidos son consistentes con la literatura actual y fortalecen la evidencia sobre el potencial del propóleo como agente antifúngico y anti- biofilm en el ámbito odontológico.

## CONCLUSIÓN:

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que el extracto etanólico de propóleo (EEP) procedente de Mendoza presenta actividad antifúngica *in vitro* significativa frente a *Candida albicans* aislada de pacientes con candidiasis oral, evidenciada por halos de inhibición superiores a 10 mm en ambas metodologías empleadas. El método de pocillos mostró una difusión más eficiente del extracto en comparación con los discos impregnados. Asimismo, se verificó que *Candida albicans* posee elevada capacidad formadora de biofilms, confirmada mediante los métodos de policubeta, tubo y agar rojo Congo. La cepa también mostró fuerte adherencia a superficies acrílicas, lo que refuerza la relevancia clínica de su interacción con materiales odontológicos utilizados en prótesis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Wongsuk T, Pumeesat P, Luplertlop N. Candida albicans morphogenesis is controlled by various signaling pathways. J Mycol Med. 2020;30(1):100915. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.100915>
2. Noble SM, Gianetti BA, Witchley JN. Candida albicans cell-type switching and functional plasticity in host interactions. Nat Rev Microbiol. 2020;18(6):349–359. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0312-5>
3. Cavaleiro M, Teixeira MC. Candida Biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. Front Med. 2021;8:620284. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.620284>
4. Lamaris GA, Chamilos G. Understanding Candida albicans invasiveness: new insights. Med Mycol. 2021;59(3):235–243. <https://doi.org/10.1093/mmy/myaa070>
5. Rossoni RD, Barbosa JO, Vilela SF, Jorge AO, Junqueira JC. Candida albicans biofilms and their clinical impact. J Fungi. 2021;7(5):346. <https://doi.org/10.3390/jof7050346>
6. Lohse MB, Gulati M, Johnson AD, Nobile CJ. Development and regulation of Candida albicans biofilms. Curr Opin Microbiol. 2020;52:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.04.001>
7. Ribeiro M, Simões LC, Simões M. Antifungal effect of propolis on Candida albicans biofilms. Arch Oral Biol. 2021;122:104979. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104979>
8. Piccinelli AL, Mencherini T, Celano R, Mouhoubi-Tafinine Z, Dugay A, et al. Chemical and functional profiling of propolis. Molecules. 2022;27(3):613. <https://doi.org/10.3390/molecules27030613>
9. Bankova V, Popova M, Trusheva B. New trends in propolis research. Apidologie. 2021;52:63–79. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00774-9>
10. Tran TD, Ton ND, Ly BV, Le KM, et al. Polyphenol-rich propolis: Antimicrobial mechanisms and clinical potential. J Appl Microbiol. 2023;134(5):lxad067. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxad067>
11. Rodríguez-Canales M, et al. In vitro antifungal activity of ethanolic propolis extract against Candida albicans. BMC Microbiol. 2023;23:112. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02830-3>
12. Mohammadi F, Javidi E, et al. Antifungal effects of propolis on Candida species: A systematic review. J Med Life. 2021;14(3):350–358. <https://doi.org/10.25122/jml->

- 2020-0132
13. PrataViera L, et al. Comparative antifungal activity of red propolis and nystatin against *Candida* species. *J Apic Res.* 2022;61(4):413–420.  
<https://doi.org/10.1080/00218839.2021.2022760>
  14. De Farias N, et al. Antifungal activity of Brazilian propolis on *Candida albicans* biofilms. *Herb Med.* 2020;23:100376.  
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2020.100376>
  15. Castillo-Hernández R, et al. Potentiation of fluconazole by propolis extract against resistant *Candida albicans*. *Odovtos.* 2022;24(1):45–54.  
<https://doi.org/10.15517/odovtos.v24i1.49076>
  16. Ribeiro R, et al. In vitro comparison of propolis and nystatin against *Candida albicans*. *Arch Oral Biol.* 2021;126:105118.  
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105118>
  17. Arastehfar A, Gabaldón T, et al. *Candida albicans* resistance patterns in the post-2020 era. *Microbiol Spectr.* 2021;9(2):e0031521. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00315-21>
  18. Costa MI, et al. Methodological variables in diffusion assays with natural antifungals. *J Fungi.* 2021;7(7):553. <https://doi.org/10.3390/jof7070553>
  19. PrataViera L, et al. Enhanced diffusion of propolis in agar well diffusion compared to disks. *J Apic Res.* 2022;61(4):421.
  20. Frontini M, et al. Effects of propolis polyphenols on *Candida albicans* morphology. *Med Mycol.* 2022;60(2):myac008.
  21. Wang Y, Xu J, et al. Surface roughness of acrylic resins influences *Candida albicans* adhesion. *J Prosthodont.* 2020;29(5):445–451. <https://doi.org/10.1111/jopr.13174>
  22. Pineda S, Mosquera J. Adhesion of *Candida albicans* to PMMA and polyamide resins. *Biosalud.* 2021;20(1):55–65.
  23. Teixeira MC, et al. Mixed-species biofilms in oral candidiasis: interactions and resistance. *J Oral Microbiol.* 2022;14(1):2073145.  
<https://doi.org/10.1080/20002297.2022.2073145>
  24. de Faria AF, et al. Crystal violet and Congo red as reliable quantification methods for fungal biofilms. *J Microbiol Methods.* 2021; 185:106229.



<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106229>



## PÉNFIGO VULGAR. REPORTE DE UN CASO CLÍNICO

### **Autores:**

Dr. Victor Ricardo Fernández.

Dra. Elena Soledad Ortiz Barreto.

Od. Esp. Jacqueline Roxana Du Bois Goitia.

**Autor de correspondencia:** Dr Víctor Fernández mail: vrfernandez@odn.unne.edu.ar

**Lugar:** Facultad de Odontología de la U.N.N.E

**RESUMEN:** Se presenta un caso clínico de un paciente de 52 años de edad sexo masculino residente en la Ciudad de Corrientes. El examen clínico y estomatológico evidenció lesiones ampollares compatibles con Pénfigo Vulgar y los estudios complementarios inmunológicos, biopsia excisional confirmaron el diagnóstico presuntivo.

El Pénfigo Vulgar se encuentra enmarcada dentro de las patologías cuyas manifestaciones clínicas son las ampollas localizadas en piel y mucosas, con alta frecuencia en mucosa bucal. Es primordial que el estomatólogo realice diagnóstico precoz de las lesiones iniciales que se observan en cavidad bucal y poder realizar un tratamiento multidisciplinario.

**PALABRAS CLAVE:** enfermedad ampollar- mucosas-cutáneas-premonitorio en boca

### **INTRODUCCIÓN**

El paciente ingresa a la consulta de atención privada, 52 años de edad, masculino cuyo domicilio es en Corrientes Capital. Fué fumador por 10 años de tabaco rubio, aproximadamente 20 cigarrillos por día. Dejó el hábito de fumar hace 5 años en promedio.

**ESTADO ACTUAL:** El individuo presentó lesiones cutáneas y mucosas, ala de la nariz, cuero cabelludo, mucosas bucal, labial y gingival. Las manifestaciones cutáneas del paciente abarcan las zonas anatómicas del cuero cabelludo, alas de la nariz, tabique nasal y espacio infraclavicular.

La ubicada en el cuero cabelludo en la línea media a la altura de la unión de ambos parietales se observa como una erosión en forma de C invertida hacia el hueso occipital. Con diámetro de 0,7 cm aproximadamente.



La lesión ubicada en el borde inferior del hueso propio de la nariz es una costra hemática, rojo parduzco, de 0,8 cm de diámetro, rodeada de un halo eritematoso.



La ubicada del lado derecho a 0,5 cm de la punta de la nariz, es una mácula de 0,5 cm de diámetro que en sus bordes posee una costra de 1mm.

La lesión ubicada en el ala de la nariz de lado izquierdo, a 2mm del surco nasogeniano, Mácula redondeada de 1,5 cm de diámetro, en su polo superior posee una costra hemática parduzca semilunar de 3mm de ancho.

A 5 cm del borde basilar de la mandíbula a la altura de los premolares se evidencia una mácula con erosión, ovalada, de 3mm de diámetro cuyo borde superior posee vestigios de una costra.

Al evertir el labio superior observamos una ampolla ubicada en el espacio interdentario de 21 y 22, ovalada, de 4mm de diámetro, que liberó su contenido, dejando residuos de su techo y zonas erosivas. También una ampolla ubicada a nivel del 23, redondeada, cuyo tamaño oscila en 4mm de diámetro, hacia mesial y distal vestigios del techo de la ampolla y en el centro zonas erosivas.



Al evertir el labio inferior en fondo de surco evidenciamos múltiples ampollas desde la pieza dentaria 34 a 44, con zonas hiperqueratósicas, blanquecinas. A nivel de la línea media dos ampollas que confluyeron. La ubicada a 2mm de la línea de Klein es ovalada, con su eje mayor sobre la línea media, de 1,5 cm, posee su techo, pero liberó su contenido, con una zona rojiza en su mitad mesial. La segunda ampolla se dispone a 45 grados respecto al fondo de surco, tiene forma de triángulo escaleno con su base mayor hacia la línea de Klein. La base mayor presenta en una zona el techo de la ampolla y hacia la semimucosa una zona erosiva de 3mm.



A la inspección intraoral se observa en ambas mucosas yugales erosiones e hiperqueratosis múltiples.

En la mucosa yugal izquierda en el tercio posterior y medio, se observa una hiperqueratosis a nivel de la línea de oclusión, es lineal de 1mm de ancho, en el hemisferio superior se observa una erosión sanguinolenta redondeada de 3mm de diámetro y en el hemisferio inferior una erosión sanguinolenta redondeada de 4 mm de diámetro.

En el espacio retrocomisural dos manchas parduzcas, la anterior ovalada de 2mm de diámetro, ligeramente amarronada, la posterior redondeada, de 3, 5 mm de diámetro con un punto central

negruzco.

En el hemisferio inferior se evidencia una ampolla ovalada cuyo eje mayor es vertical, de 3mm con una zona estrecha en la mitad de la lesión, sin halo eritematoso, con el techo intacto.



Del lado derecho, se presenta la mucosa yugal en sus tres tercios con traumatismo, a nivel de la línea de oclusión se evidencia una demarcada línea y hacia el tercio posterior de la cavidad bucal, por detrás del espacio retromolar, en paladar blando erosiones múltiples.



En Paladar duro se presenta con coloraciones blanquecinas que rodean a la encía marginal de las piezas dentarias 44 y 46.

En Piso de boca se observan múltiples hiperqueratosis blanquecinas. También a ambos lados del frenillo lingual en la cara ventral de la lengua, zonas eritematosas. De lado derecho se acentúan las hiperqueratosis.

## DISCUSION:

La enfermedad autoinmune de PV con predominio de lesiones mucosas están presentes autoanticuerpos contra Dsg3 (desmogleína); mientras que en el de afección mucocutánea se encuentran anticuerpos anti-Dsg1 y anti-Dsg3. En contraste, las ampollas flácidas encontradas únicamente en la piel de pacientes con pénfigo foliáceo están ocasionadas por la existencia de autoanticuerpos anti-Dsg1.<sup>1,2</sup>

En un estudio publicado por Scully y cols en 1999, se determina que una cuarta parte de los pacientes con lesiones en la cavidad oral desarrollan, en el transcurso del tiempo, lesiones en la piel, que llegan a manifestarse meses o años tras las lesiones intraorales <sup>7</sup>.

El caso clínico presentado evidenció lesiones bucales previo a las lesiones cutáneas aproximadamente 2 años. Podemos concluir que el Pénfigo vulgar requiere un tratamiento multidisciplinario en que el rol del estomatólogo es primordial para diagnosticar precozmente la enfermedad y poder paliar la sintomatología del enfermo.

Declaración de conflicto de intereses: no existen Fuentes de financiamiento: propias

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- 1- Spindler V, Waschke J. Pemphigus-A disease of desmosome dysfunction caused by multiple mechanisms. *Front Immunol* 2018 Feb 1;9:136. doi: 10.3389/fimmu.2018.00136. [ [Links](#) ]
- 2- Bascones MA, Llanes MF. *Medicina bucal*. Madrid: Ediciones Avances Médico- Dentales; 1991.
- 3- Martel P, Joly P. Pemphigus: autoimmune diseases of keratinocyte's adhesion molecules. *Clin Dermatol*. 2001; 19 (6): 662-674.
- 4- Venugopal SS, Murrell DF. Diagnosis and clinical features of pemphigus vulgaris. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2012; 32: 233-243.
- 5- Sciubba JJ. Oral mucosal diseases in the office setting. Part II: oral lichen planus, pemphigus vulgaris, and mucosal pemphigoid. *Gen Dent*. 2007; 55: 464-476.
- 6- Scully C, Paes De Almeida O, Porter SR, Gilkes JJ. Pemphigus vulgaris: the manifestations and long-term management of 55 patients with oral lesions. *Br J Dermatol*. 1999; 140: 84-89.
- 7- Bascones-Martínez A, Figuero-Ruiz E, Esparzo-Gómez G. Úlceras orales. *Med Clin*. 2005; 125 (15): 590-597.
- 8- Bermejo-Fenoll A, López-Jornet P. Diagnóstico de las enfermedades vesiculares y ampollares de la mucosa bucal: desórdenes de la cohesión intraepitelial y de la unión epiteliocnectiva. *Med Oral*. 1996; 1: 24-43
- 9- Fernández VR et al. Manifestaciones bucales y cutáneas del pénfigo vulgar. *Rev ADM*. 2016;73(1):28-32. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=63986>