

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE CELULASA SOBRE BIOFILM DE ENTEROCOCCUS FAECALIS MEDIANTE REACCIÓN COLORIMÉTRICA



Jessica Leticia González Borjas¹, Selene Velázquez Moreno²,
Karla Patricia Navarrete Olvera², Ana María González Amaro², Daniel Pacheco Carmona³.

¹Facultad de Ciencias Químicas, ²Facultad de Estomatología,
³Instituto de Metalurgia, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

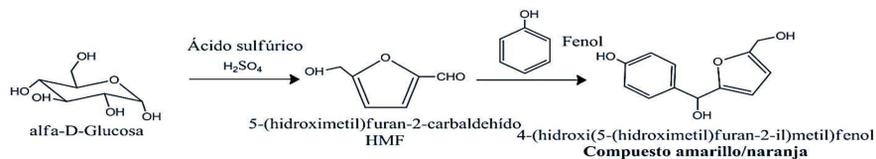
INTRODUCCIÓN

Distintos estudios sugieren que la verdadera causa de fracaso endodóntico es el biofilm. Este presenta una composición del 80-85% de sustancia extracelular polimérica de la cual el polisacárido presente mayoritariamente es celulosa y solo un 15-20% de células. Entre los polisacáridos presentes mayoritariamente es la celulosa; motivo por el cual el uso de enzimas es una novedosa opción para su degradación.

OBJETIVO

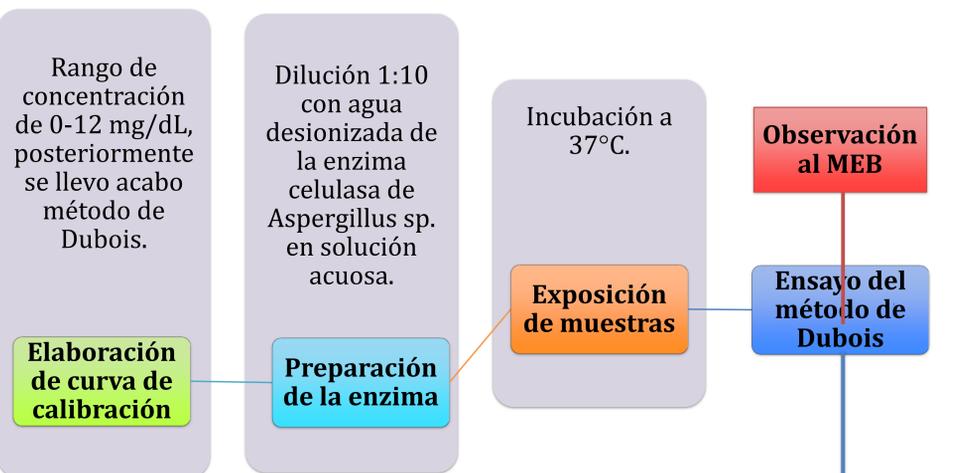
Evaluar mediante una reacción colorimétrica la actividad enzimática de la celulasa durante un periodo de exposición sobre la matriz extracelular polimérica del biofilm de *Enterococcus faecalis* en ápices radiculares de dientes extraídos.

Mediante el método de Dubois es posible realizar la determinación de glucosa liberada por la acción de la enzima celulasa, en la cual se propone la formación compuestos de color amarillo/naranja que se pueden leer por espectroscopia UV-Vis.



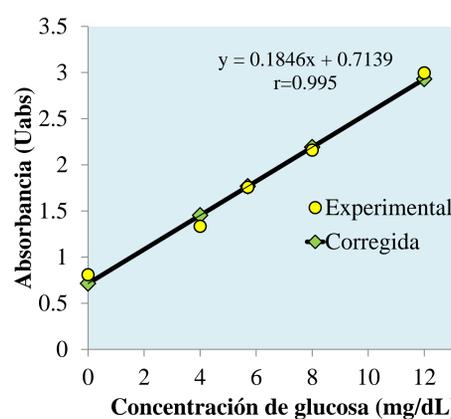
METODOLOGÍA

Se utilizaron 4 ápices radiculares de dientes anteriores extraídos; en los cuales se formó biofilm por flujo continuo dentro de cámara de anaerobiosis inoculados con *E. faecalis*, obtenidos en el Laboratorio multidisciplinario de Investigación de la Maestría en Endodoncia, UASLP

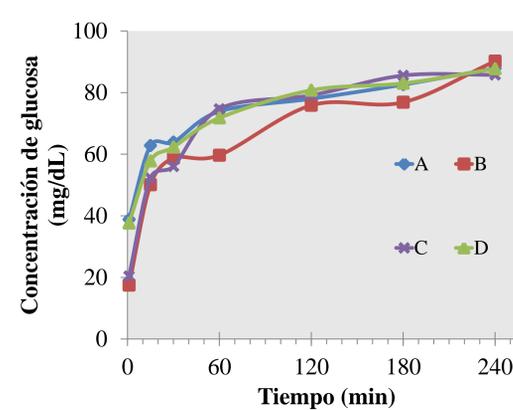


RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la curva de calibración de glucosa fueron ajustados usando el método de regresión lineal con un coeficiente de correlación de 0.995. El límite de detección fue de 1.589 mg/dL, el límite de cuantificación de 5.298 mg/dL.



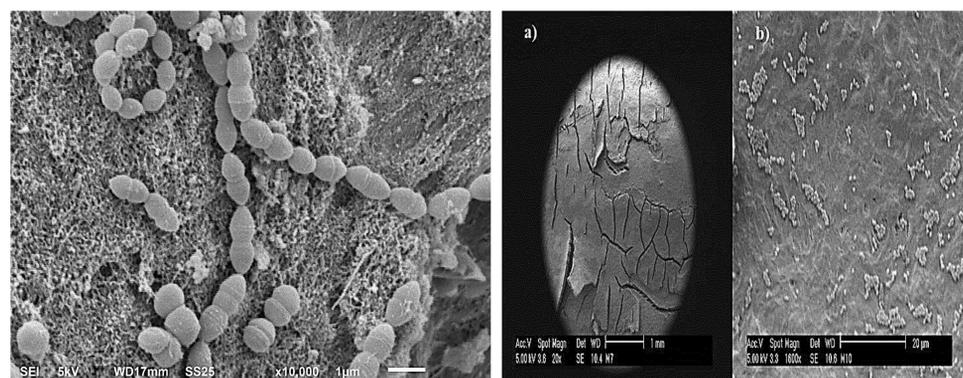
Curva de calibración de glucosa



Liberación de glucosa por la celulasa en el tiempo

Las medias de las concentraciones de glucosa liberada a los 15, 30, 60, 120, 180 y 240 min fueron de: 55.746, 60.248, 70.01, 78.437, 81.991 y 87.896 mg/dL respectivamente.

Al MEB (Microscopio Electrónico de Barrido) se observó fragmentación del ápice, no se encontró matriz extracelular polimérica del biofilm, algunas células de *Enterococcus faecalis* se encontraron metabólicamente activas y su presencia estaba disminuida.



Ápice con formación de biofilm sin exposición a enzima

a) Fragmentación y b) Presencia de *Enterococcus faecalis*, no se observa matriz extracelular polimérica. MEB

CONCLUSIONES

La celulasa resultó ser eficaz ya que hidrolizó en un periodo de exposición de 4 horas la celulosa presente en el biofilm de *Enterococcus faecalis* obteniéndose una media de concentración de glucosa hasta de 87.896 mg/dL. En imágenes del MEB no se observa la presencia de matriz extracelular con lo que se comprueba su degradación, y la convierte en una novedosa opción de empleo en Endodoncia; sin embargo es necesario el análisis de las ventajas y desventajas de su incorporación a la clínica.

BIBLIOGRAFÍA

- DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, PA & SMITH, F. (1957). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28 (3), 350-356.
- GÓMEZ-ÁLVAREZ, G., GÓMEZ-MARTÍN, C. & MENA-ÁLVAREZ, J. (2015). La importancia del biofilm y su eliminación en endodoncia. *Cient. Dent*, 12(1), 39-44.
- JÁCOME-ESPADAS, A., GONZÁLEZ-AMARO, A.M., MÉNDEZ-GONZÁLEZ, M.A., ARAUJO-ANDRADE, C. & FRAUSTO-REYES, C. (2014). Caracterización química de biofilm extrarradicular mediante Espectroscopia Vibracional Raman [Tesis]. Maestría en Endodoncia. Facultad de Estomatología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.