

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



EFECTO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO PERUANO SOBRE EL STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 35668 IN VITRO UCSM AREQUIPA 2009

TESIS PRESENTADA POR EL BACHILLER:
TALAVERA RUBIN JOSEPH

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:
CIRUJANO DENTISTA

AREQUIPA - PERU:

2009



En agradecimiento especial por su
invalorable colaboración a la Dra.
Ruth Álvarez Monge



Dedicado:

A Carmela Ureta Romaní

A mi madre Arleni Rubin Ureta por su
esfuerzo, sacrificio, y apoyo.

Al Dr Herman Rubin Ureta por su
gran apoyo durante mis años de
estudios.

A mis hermanos.

ÍNDICE

RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
CAPITULO I	
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	15
1.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA	15
1.2. ENUNCIADO	17
1.3. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	17
A. Área de conocimiento	17
B. Tipo de Problema	17
C. Nivel Investigativo del Problema	17
D. Análisis de Variables	18
E. Interrogantes Básicas	19
F. Tipo de investigación	20
G. Nivel de Investigación	21
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	21

2. OBJETIVOS	24
3. MARCO TEORICO	25
3.1. ESQUEMAS Y CONCEPTOS BÁSICOS	25
3.1.1. PROPÓLEO	25
3.1.1.1. Definición	25
3.1.1.2. Historia	26
3.1.1.3. Etimología	27
3.1.1.4. Composición Química y Origen Botánico	27
3.1.1.5. Características Físico Químicas	35
3.1.1.6. Actividad Biológica	36
3.1.1.7. Mecanismo de Acción	39
3.1.1.8. Uso del Propóleo en Odontología	41
3.1.1.9. Reacciones Adversas	42
3.1.1.10. Parámetros de Calidad	43

3.1.2.	STREPTOCOCCUS MUTANS	44
	3.1.2.1. Genero Streptococcus	44
	3.1.2.2. Características Generales	45
	3.1.2.3. In Vitro	46
	3.1.2.4. Clasificación	47
	3.1.2.5. Grupo Viridans	50
	3.1.2.6. Streptococcus Mutans	52
	3.1.2.7. Características del S. Mutans	60
	3.1.2.8. Adquisición del S. Mutans	61
3.1.3.	PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS	62
	3.1.3.1. Métodos de Análisis de Sensibilidad Antimicrobiana	63
	A) C.M.I	65
	B) C.M.B.	66
	3.1.3.2. Pruebas de Sensibilidad	67
	3.1.3.2.1. Pruebas de Sensibilidad por Dilución	67
	1) Dilución en Agar	67
	2) Dilución en Caldo	70

	3.1.3.2.2. Pruebas de Sensibilidad por Difusión.	71
	3.1.3.2.2.1. Pruebas de Sensibilidad por Difusión en Agar con Discos	73
	1) Puntos Críticos	77
	2) Halo de Inhibición	78
	3.1.3.3. Interpretación del Antibiograma	79
	3.1.3.4. Método de E-Test	80
	3.1.3.5. Métodos Automatizados	81
3.1.4.	CLORHEXIDINA	82
	3.1.4.1. Descripción	82
	3.1.4.2. Mecanismos de Acción	83
	3.1.4.3. Reacciones Adversas	84
	3.1.4.4. Usos en Odontología	86
3.1.5.	ANTECEDENTES INVESTIGATORIOS	87
	3.1.5.1. Antecedentes Locales	87
	3.1.5.2. Antecedentes Nacionales	88
	3.1.5.3. Antecedentes Internacionales	90

4. HIPOTESIS

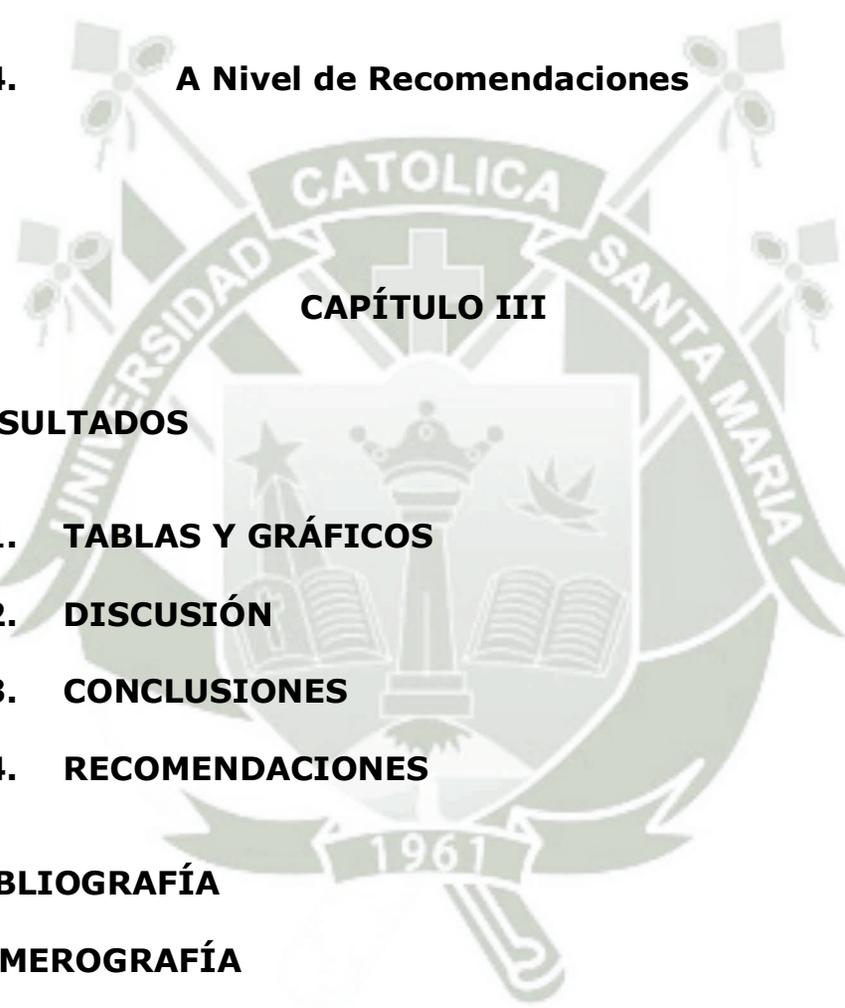
93

CAPÍTULO II

**1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE
VERIFICACIÓN**

1.1	TÉCNICA	95
1.2	INSTRUMENTOS	95
1.2.1.	Instrumento Documental	97
1.3.	MATERIALES Y MÉTODO	97
1.3.1.	Material Biológico	97
1.3.2.	Material de Laboratorio	97
1.3.3.	Medios de Cultivo	99
1.4.	TÉCNICA	99
1.4.1.	Elaboración del Extracto Etanólico de Propóleo	99
1.4.2.	Reconstitución de las Cepas ATCC 35668	103

1.5.	PRUEBA DE SENSIBILIDAD BACTERIANA.	104
	A) Determinación de la C.M.I.	104
	B) Determinación de la C.M.B.	106
1.6.	DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR HALOS DE INHIBICIÓN	107
2.	CAMPO DE VERIFICACIÓN	109
2.1.	Ubicación Espacial	109
2.2.	Ubicación Temporal	110
2.3.	Unidades de Estudio	111
3.	ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN	111
3.1.	Organización	111
3.2.	Recursos	112
3.3.	Validación de datos	113

4.	ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS	113
4.1.	A Nivel de Sistematización	113
4.2.	A Nivel de Estudios de Datos	120
4.3.	A Nivel de Conclusiones	122
4.4.	A Nivel de Recomendaciones	122
 CAPÍTULO III		
1.	RESULTADOS	
1.1.	TABLAS Y GRÁFICOS	124
1.2.	DISCUSIÓN	147
1.3.	CONCLUSIONES	154
1.4.	RECOMENDACIONES	156
2.	BIBLIOGRAFÍA	157
3.	HEMEROGRAFÍA	159
4.	INFOGRAFÍA	166
5.	ANEXOS	169
6.	SECUENCIA FOTOGRÁFICA	172

RESUMEN

Con el objeto de determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano (EPPP) producido en la ciudad de Arequipa; mediante el método de difusión en placa se usó las cepas *Streptococcus Mutans* ATCC 35668, para enfrentarlo a la solución Madre con una concentración de "50gr/100ml" relación p/v del EPPP.

Se determino la C.M.I. y la C.MB. encontrándose resultados positivos en diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% comparándola con el testigo Clorhexidina al 0,05%

Se determinó que la acción antibacteriana del EPPP contra *S. Mutans* muestra una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, tal acción antibacteriana en las diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% es significativa; Se concluye que EPPP en solución madre al 100% tiene una mejor acción antibacteriana contra *S. mutans* y presento un promedio de halo inhibitorio de 16.13mm frente al *S. Mutans*, demostrando una sensibilidad intermedia.

ABSTRACT

With the intention and order to determine the antibacterial action of ethanolic extract of Peruvian propolis (EEPP) originally and produced in the city of Arequipa; using the method of diffusion in Plate the vine-stocks *Streptococcus Mutans* ATCC 35668, were used, and faced to confront the solution with a concentration of "50gr/100ml" relationship w/v of EEPP.

It was determined C.M.I. and C.M.B. found positive results in dilutions of 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100% compared with the control chlorhexidine 0.05%.

It was found and determined that the antibacterial action of the EEPP against *S. Mutans* shows a greater tendency of inversely proportional activity in its dilutions. such action on the dilutions of antibacterial 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100% is significant in EEPP is concluded that 100% stock solution has a better antibacterial activity against *S. Mutans* and presented an average of 16.13mm inhibitory halo against *S. Mutans*, demonstrating intermediate sensitivity.

INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad que no ha disminuido en nuestro entorno, así lo demuestran distintos estudios epidemiológicos.

Además la enfermedad tiende a agruparse en determinados conjuntos de la población que denominamos "población de riesgo".

Aparte de no haber un cambio cuantitativo en la enfermedad, tampoco se han producido cambios cualitativos en cuanto al tipo, extensión y localización de las lesiones de caries.

La prevención es cualquier medida que permita reducir la probabilidad de aparición de una afección o enfermedad, o bien aminorar o interrumpir la progresión de la enfermedad. Se trata pues, no solo de evitar la enfermedad o afección, sino también, una vez aparecida, de detener su curso hasta conseguir la curación, o en caso de imposibilidad, retardar su progresión el máximo posible.

Teniendo en cuenta a los tres pilares fundamentales en los que se basa la prevención de la caries dental que son la protección del diente la reducción de la presencia del sustrato para las bacterias y la eliminación de la placa bacteriana por medios físicos o químicos; se debe realizar cualquier tipo de investigación para tratar de resolver el problema.

Por desgracia la enfermedad no muestra índices de reducción considerables en nuestro país a pesar de la fluorización de la sal de cocina, y la promoción de la eliminación de placa bacteriana por medios mecánicos como es el cepillado dental. Lamentablemente, algunas personas no acceden a este tipo de sal y otros no regularizan el control de su higiene bucal

Por tal motivo, en la actualidad existen los agentes antimicrobianos, llamados colutorios, que inhiben químicamente la formación o proliferación de la placa.

La caries dental está relacionada con la presencia de distintos ácidos resultantes del metabolismo de los microorganismos presentes en la placa bacteriana.

Los microorganismos patógenos de la placa bacteriana son el *Streptococcus Mutans* y Lactobacilos. Se ha demostrado que existe relación entre el *Streptococcus Mutans* y el riesgo de caries y, sobre todo, la relación entre ausencia de caries y bajos niveles de *Streptococcus Mutans*. Por tanto el primer paso de prevención de la enfermedad debe ser controlar la infección producida por este patógeno.

En los pacientes que encontramos gran actividad de caries debemos eliminar en primer lugar las cavidades para eliminar el ecosistema que

favorece la proliferación de estos microorganismos patógenos, al mismo tiempo que se deben utilizar antimicrobianos y remineralizadores que frenen la desmineralización que producen estos patógenos. El uso de la clorhexidina, que hasta hace poco solo se utilizaba para tratamientos gingivales, se ha demostrado eficaz para disminuir el número de colonias de *Streptococcus Mutans*.

Se puede utilizar en colutorios, geles de aplicación profesional y últimamente también como barnices. En una revisión de la literatura, Emilson concluye que la mayor disminución en el número de *Streptococcus Mutans* se consiguió mediante la utilización de un barniz de clorhexidina, seguida por la utilización de geles y colutorios. Esto es principalmente para los pacientes con alto riesgo de caries²⁸.

Desafortunadamente la clorhexidina presenta efectos secundarios adversos, como disgeusia y tinción dental, razones que limitan su utilización. Cabe resaltar entonces que el hallazgo del agente antiplaca ideal aún constituye un reto para los investigadores.

Hemerografía

28. Emilson CG, Fornell J. Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, oral hygiene, and caries. Scand J Dent Res. 1976 Sep;84(5):308-19.

De esa búsqueda, desde hace años viene creciendo la corriente que propone la utilización de productos naturales como solución a los problemas médicos y odontológicos. La medicina alternativa presenta a la Odontología, entre otros, al Propóleo como solución a diversos problemas de salud oral. De ahí que existe una gama de estudios sobre Propóleo de origen extranjero que comprueban su acción antibacteriana en el laboratorio contra bacterias Grampositivas: *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis* y hongos como la *Candida albicans*.



CAPÍTULO I



1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

El descubrimiento del problema que nos ocupa ha surgido gracias a la curiosidad personal por conocer más acerca de la interacción del Propóleo frente al *Streptococcus Mutans*. Para así poder conocer la actividad antibacteriana del mismo sobre esta bacteria.

El *S. Mutans* es el principal microorganismo implicado en el desarrollo de la caries dental, afecta a un gran número de personas en nuestro país, según estudios epidemiológicos nacionales del perfil de la salud bucal, se estima que 65% de los niños menores de cinco años ya presentan caries, así como el 87.8% de los menores de 12 años. El 95% de la población mayor de 20 posee historia de caries de acuerdo a estadísticas del Ministerio de Salud.¹ Estos datos convierten a esta patología en un problema de salud pública.

Infografía

1. Ministerio de Salud del Perú - [Plan de Salud Bucal 2005](#).

La implementación de nuevos métodos para disminuir la prevalencia e incidencia de esta enfermedad son necesarias, por lo cual es preciso tener alternativas preventivas y terapéuticas; una de las alternativas que se ofrecen es el uso de Propóleo ya que ha demostrado propiedades terapéuticas. Múltiples estudios bacteriológicos *in vivo* e *in vitro* confirmaron su acción antibacteriana.

La resolución del problema nos puede conllevar a proponer al Propóleo producido en Perú como una alternativa ante la lucha contra una enfermedad multifactorial, como lo es la caries que es de alta incidencia.

En tal sentido el objetivo de la investigación sería determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico de Propóleo peruano (EEPP) sobre las cepas de *S. Mutans*, teniendo a la Clorhexidina al 0,05 % como referente.

1.2. ENUNCIADO

**Efecto del Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Sobre el
Streptococcus Mutans ATCC 35668 In vitro UCSM Arequipa 2009**

1.3. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

A. Área de Conocimiento

Área General: Ciencias de la Salud

Área Específica: Odontología

Especialidad: Microbiología Oral

Línea o Tópico: Bacteriología

B. Tipo de Problema

Laboratorial

C.- Nivel Investigativo del Problema

Experimental.

D.- Análisis de Variables:

	VARIABLES	INDICADORES	SUB INDICADORES
Var. Ind.	Extracto Etanólico de Propóleo	Niveles de Concentración	Porcentaje de Concentración
Var. Dep.	<i>Streptococcus Mutans</i>	Concentración Mínima Inhibitoria	Inhibición del crecimiento bacteriano
		Concentración Mínima Bacteriostática	Muerte Bacteriana
		Halo inhibitorio	Susceptible
			Intermedio
Resistente			

E.- Interrogantes Básicas:

E.1.- ¿Cómo se presenta la inhibición por acción del Extracto Etanólico de Propóleo Peruano en el *Streptococcus Mutans* (grupo experimental)?

E.2.- ¿Cómo se presenta la inhibición por acción de la Clorhexidina en el *Streptococcus Mutans* (grupo control)?

E.3.- ¿Existen diferencias o semejanzas en la inhibición entre el grupo experimental versus el grupo control?

F.- Tipo de Investigación:

Experimental, in Vitro, prospectivo, longitudinal, laboratorial.

Experimental: Porque el investigador manipula las condiciones de la investigación, y compara los resultados con otro grupo llamado control.

In Vitro: Porque el estudio se realiza en medios de cultivos controlados que servirán para el desarrollo de las bacterias, y se maneja todo en un laboratorio.

Prospectivo: Porque el tipo de dato es primario, los mismos que serán registrados conforme la ocurrencia de los hechos.

Longitudinal: Las variables de estudio serán observadas en distintas etapas a lo largo de un tiempo determinado

Laboratorial: Porque el ámbito de recolección de datos se realiza en un Laboratorio

G.- Nivel de Investigación:

Experimental *in vitro*.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.

A) Originalidad:

El presente problema es original, ya que no se han realizado estudios en nuestro medio determinando la acción antibacteriana del Propóleo sobre el Streptococcus Mutans.

B) Actualidad:

En la actualidad la Medicina alternativa es una muy buena opción para el tratamiento de diferentes enfermedades teniendo en cuenta que más de un cuarto de medicamentos existentes en el mercado son de origen botánico. El Propóleo aparece como una opción para inhibir la formación de colonias de microorganismos patógenos y así poder disminuir el índice de caries.

C) Relevancia Personal:

El siguiente estudio me ayudara a obtener el título profesional de Cirujano Dentista.

D) Contribución:

Al saber que la caries dental es la enfermedad bucal más frecuente en Perú, es un gran reto el proponer una nueva alternativa natural para la prevención del desarrollo de la caries.

Cabe destacar que el uso del Propóleo se ha dado más para las enfermedades de las vías respiratorias y no han sido adquiridos para combatir otro tipo de enfermedad.

Esta alternativa que es el uso de Propóleo, se da por varios objetivos, como puede ser, el acceso que las personas puedan tener hacia él ya que es relativamente económico, un producto totalmente natural que desde varios años ha sido aceptada en el ámbito de la medicina naturista. Pudiendo así elaborar enjuagues, geles o pastas a base de Propóleo para el uso masivo en la población.

E) Factibilidad:

Es factible realizar esta investigación ya que se cuenta con la disponibilidad de unidades de estudio, tiempo y dominio del tema por ser contemporáneo. Los cuales serán financiados por el investigador.

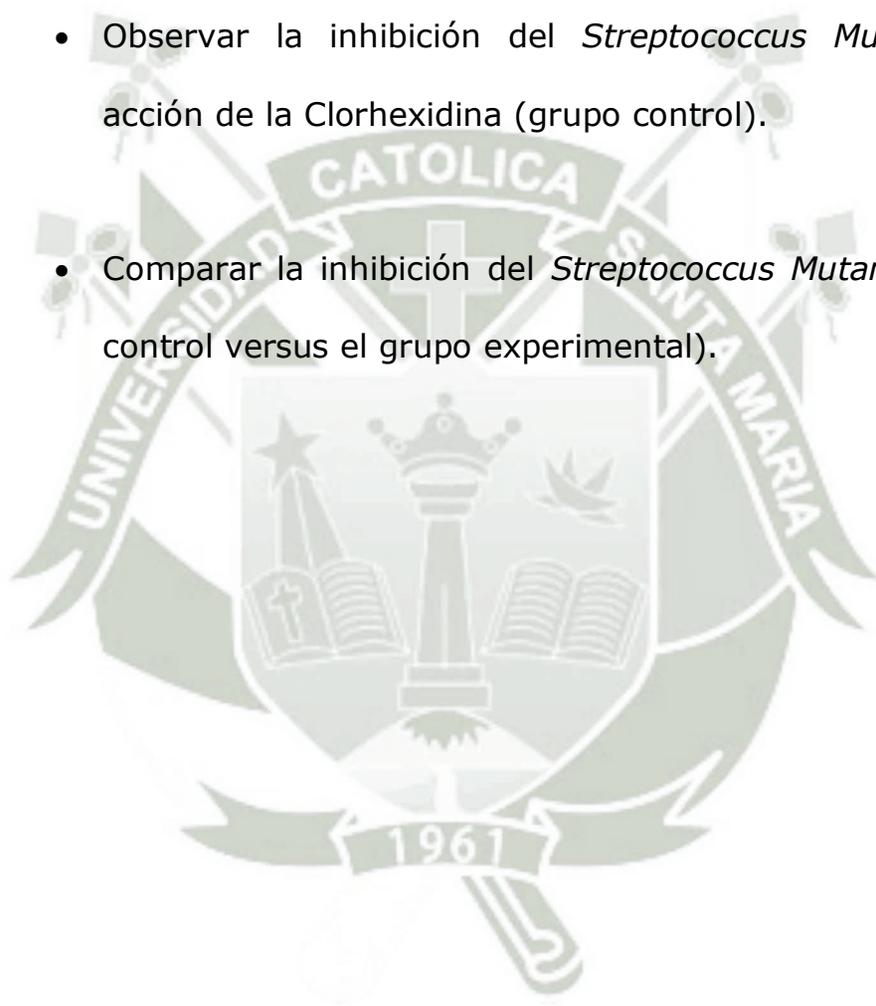
F) Importancia Académica y Profesional:

Se da un aporte cognoscitivo a la profesión de odontología, para así en un futuro poder desarrollar productos a base de Propóleo que se vuelvan en un medio adecuado para el tratamiento y prevención de la caries dental.



2. OBJETIVOS:

- Evaluar la inhibición del *Streptococcus Mutans* por acción del Extracto Etanólico de Propóleo Peruano (grupo experimental).
- Observar la inhibición del *Streptococcus Mutans* por acción de la Clorhexidina (grupo control).
- Comparar la inhibición del *Streptococcus Mutans* (grupo control versus el grupo experimental).



3. MARCO TEÓRICO:

3.1. ESQUEMAS Y CONCEPTOS BÁSICOS

3.1.1. PROPÓLEO

3.1.1.1. DEFINICIÓN

El propóleo o también conocido como própolis es una resina gomosa cerosa de composición compleja y consistencia viscosa que las abejas elaboran a partir de partículas resinosas de diferentes vegetales y que utilizan en la construcción, reparación y protección de la colmena.

Las abejas lo obtienen por adición de cera y secreciones salivales al material resinoso, gomoso o balsámico que recolectan de yemas, brotes y heridas de diversas plantas.⁵

En la colmena, las abejas utilizan el Propóleo con diversos fines tales como: Cerrar grietas, reducir al mínimo las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan introducido en la colmena evitando su descomposición, consolidar componentes estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones.

Infografía

5.- El Propóleo o Própolis www.universodontologico.550m.com

3.1.1.2. HISTORIA

Es larga la historia de la domesticación de las abejas por parte del hombre, quien se ha esmerado en la explotación de los productos fabricados por el insecto.

Es así que el uso del propóleo por parte del hombre data del año 300 a. de C., época en que ya era utilizado en la elaboración de remedios en la medicina tradicional a lo igual que en el embalsamamiento de cuerpos por la cultura egipcia. Sin embargo sólo en los últimos 50 años se ha realizado la gran mayoría de los estudios tendientes a determinar la composición química, propiedades farmacológicas y en general el uso farmacológico comercial de los preparados a base de propóleos.

Dentro de los productos apícolas; los propóleos se destacan por sus variadas y disímiles propiedades biológicas, lo que ha permitido que en los últimos años se haya incrementado su utilización en fitomedicina. Es por lo tanto una materia prima valiosa para la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos.

3.1.1.3. ETIMOLOGÍA

La palabra propóleo es de origen griego: pro (delante o antes) y polis (ciudad), lo que significaría "protección de la ciudad"

3.1.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ORIGEN BOTÁNICO.

- **Origen Botánico:**

El propóleo es recolectado por las abejas de las sustancias resinosas exudadas por las yemas y cortezas de algunas plantas, y posteriormente la procesan con sus mandíbulas.

De acuerdo a numerosos estudios, se ha determinado que los constituyentes principales del Propóleo son las ceras, resinas, bálsamos, aceites esenciales y polen (además de impurezas mecánicas). La proporción de cada componente es variable y depende tanto de la época de recolección como del origen vegetal de la resina, así como también de la raza de las abejas que lo produce.

Los compuestos en propóleos sin procesamiento se originan de tres fuentes principales: exudado de plantas colectados por las abejas, productos metabólicos secretados por el

insecto y, materiales introducidos durante la elaboración del producto.⁸

El estándar de calidad vigente para el propóleo es la identificación botánica y las pruebas cromatográficas que corroboran la procedencia del propóleo. Una técnica muy útil e informativa para determinar el origen botánico del propóleo; consiste en el análisis microscópico de los granos de polen y de fragmentos de hojas u otros restos dejados por las abejas durante la recolección del exudado de planta, los cuales son frecuentes contaminantes. La estructura de la exina que es la cubierta externa del polen, es una característica de la especie de planta que le da origen y sirve para realizar un análisis taxonómico.

- **Composición Química:**

El propóleo es una sustancia soluble en solventes orgánicos como: alcohol, benceno, acetona y éter. Su composición es muy compleja, ya han sido identificados más de 150 constituyentes

Bibliografía

8.- PROST. JEAN P.: Conocimiento de la Abeja, Manejo de la Colmena y su Productos Derivados

Sin embargo una composición representativa del propóleo pudiera ser: cera 30%, resinas y bálsamos 55%, aceites 10% y polen 5%. También posee ácidos grasos saturados.¹⁷

En general, revisiones sobre la composición química de propóleos dan cuenta de los siguientes grupos químicos: Aldehídos, ácidos y ésteres alifáticos, amino ácidos, ácidos y ésteres aromáticos, chalconas y dihidrochalconas, flavanonas, flavonas, flavonoides, ácidos grasos, cetonas, terpenoides, esteroides y azúcares.

El grupo más importante de compuestos encontrado en el propóleo son los denominados fenoles, los cuales, constituyen más del 50% del peso total.

Las propiedades médicas del propóleo son atribuidas principalmente a la presencia de estas sustancias.

Más aún, la literatura apunta que algunas de las actividades pueden ser fuertemente relacionadas a los flavonoides, el principal compuesto fenólico del propóleo.¹⁹ La composición cualitativa principal del propóleo puede resumirse en:

Hemerografía

17.- GONZÁLEZ, A. Y BERNAL, R. **Propóleos: un camino hacia la salud.** 132 p.

19. - KONIG, B. **Plant sources of Propolis**

- **Aminoácidos**

Aunque los niveles son bajos en torno de 0,40%, consideran que éstos son aportados por las abejas a través del polen.

- **Ácidos Aromáticos y esteres**

Principalmente ácido benzoico, ácido cafeico, ácido ferúlico, provenientes de los exudados de las yemas vegetales.

- **Flavonas y flavononas**

Originarias de los exudados vegetales y que tienen elevada actividad biológica, entre las cuales resaltan: pinocembrina, quercitina, galangina, pinostrobrina.

- **Terpenoides**

También provienen de exudados vegetales, son los responsables del aroma del propóleo, destacan limoneno, cimeno y estireno.

- Fenoles

Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido al menos a un grupo funcional hidroxilo. Muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo.

Los compuestos fenólicos de las plantas son un grupo heterogéneo de productos con más de 10.000 compuestos. Algunos son solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua, y otros son polímeros muy grandes e insolubles.

Este grupo también juega una variedad muy heterogénea de roles en las plantas.

Muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen soporte mecánico a la planta, otros atraen polinizadores o dispersores de frutos,

algunos de ellos absorben la radiación ultravioleta, o actúan como agentes alelopáticos (por ejemplo reducen el crecimiento de plantas competidoras que estén cerca).

- **Los flavonoides**

Los flavonoides son un gran grupo de sustancias vegetales que fueron descubiertas por el premio Nobel en Bioquímica Dr. Albert Szent-Gyorgi, quien les denominó como "vitamina P". El Dr. Szent-Gyorgi descubrió que los flavonoides favorecen la función de la vitamina C, mejorando su absorción y protegiéndola de la oxidación.

Son pigmentos vegetales usados por los botánicos para clasificación taxonómica; estos son sintetizados a partir del aminoácido fenilalanina, que generalmente exhiben brillantes colores como el de los pétalos de las flores. La mayoría de las veces emiten fluorescencia cuando son excitados por la luz U.V., (respuesta adaptativa de las plantas a la intensa radiación U.V.); se localizan en las células de las plantas verdes. Otra función dentro del mundo de las plantas parece ser la de atraer a los polinizadores hacia las flores o animales con alimentación

a base de frutos con la intención que puedan dispersar mejor las semillas.

También regulan el crecimiento de las plantas e influyen en otras células biológicas de diversas maneras.

Se han descubierto más de 600 flavonoides los cuales parecen tener un papel importante en la nutrición humana dado que presentan propiedades medicinales muy interesantes entre estas propiedades podríamos mencionar:

- **Propiedades antioxidantes:** La mayoría de ellos principalmente las catequinas del té verde con alta capacidad de neutralizar los radicales libres e impedir los perniciosos efectos que producen en nuestro organismo.
- **Propiedades anticancerígenas:** Muchos flavonoides se han mostrado eficaces frente a la reproducción de células cancerígenas inhibiendo su reproducción.
- **Propiedades antiinflamatorias y analgésicas:** La hesperidina y otros flavonoides presentan propiedades antiinflamatorias y analgésicas, utilizándose para el tratamiento contra la artritis.

Los flavonoides inhiben o destruyen muchas especies bacterianas, inhiben importantes enzimas virales, tales como la transcriptasa reversa y otras diversas proteasas,

Y además, destruyen algunos importantes protozoos.

Poseen actividad antialérgica, antiinflamatoria, antioxidante, captadora de radicales libres, antimutagénica y moduladora de actividad enzimática.

Se puede decir que aportan grandes beneficios para la salud al actuar como agentes quimiopreventivos del cáncer; su toxicidad a células animales es baja.

Muchos profesionales están incrementando el uso de flavonoides puros para tratar muchas importantes enfermedades, debido a su comprobada habilidad de inhibir enzimas específicas, simular algunas hormonas y neurotransmisores, y eliminar radicales libres. ¹⁸

18. - **GRENAWAY, T.; SCAYBROOK, T. AND WHATLEY, F.** *The composition and plant origins of propolis:*

26.-Alejandro Martínez M., Químico *M. Sc.*, Doctor en Ciencias, **FLAVONOIDES** Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia Medellín Colombia – 2005

3.1.1.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

El Propóleo es un material fuertemente adhesivo. Al analizar las propiedades físicas de una muestra de Própolis de Argentina, determinaron lo siguiente: ¹¹

A.- Características Organolépticas:

El 100% presentó estructura homogénea, el 45% presentó un aspecto de trozos irregulares con brillo, el 30 % con poco brillo, y el resto trozos irregulares opacos.

Los ensayos de consistencia mostraron que el 45% de las muestras eran poco blandas, el 40% duras y solamente un 15% blandas. Con respecto al color, el 65% de las muestras presentaron color marrón oscuro, un 20% marrón claro con tintes amarillos, un 10% con tintes castaños.

El olor del 75% de las mismas fue resinoso y el sabor de la totalidad de los propóleos fue picante.

Hemerografía

11. Zulma Moreno H. OD.1, Patricia Martínez A. OD.1, Judith Figueroa. **Efecto antimicrobiano In vitro de Propóleos Argentinos, Colombianos y Cubano sobre Streptococcus Mutans ATCC 25175.**

B.- Punto de fusión:

Los valores encontrados en estudio fluctuaron entre los 64°C y 89.5°C, con un promedio de 70°C.

C.- Impurezas mecánicas, ceras y resinas:

El valor medio de impurezas mecánicas analizadas fue de 24,063%, contenido de cera promedio, de 30,048% y el porcentaje de resinas, 44,770%.

D.- Índices de oxidación, compuestos fenólicos y flavonoides:

El rango de valores del índice de oxidación osciló entre los 4 y 18 segundos, el promedio fue de 9,8 segundos.

3.1.1.6. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Las propiedades farmacológicas del Propóleo son bien conocidas y están documentadas.

La literatura actual señala propiedades antibacterianas, fungicidas, antivirales, analgésicas, antiinflamatorias,

antiulcerosas, cicatrizantes, inmunoestimulantes, antioxidantes y anticariogénicas.

Si bien cada uno de los componentes de los propóleos puede presentar una buena actividad biológica; ninguno de ellos individualmente presenta una actividad mayor que la mezcla de todos ellos. Además, independiente del origen geográfico del propóleo, todos los propóleos presentan una actividad microbiológica bastante similar, por lo que el propóleo tiene un gran valor como la mezcla de compuestos que es y no como una fuente para el descubrimiento de un nuevo y poderoso compuesto con actividad antibacteriana, antifúngica o antiviral.

Las actividades biológicas de algunos de los más importantes flavonoides componentes del propóleo son: ¹⁸

- **Pinocembrina:**

Actividad antibacteriana, fungicida, y utilidad como anestésico local.

Hemerografía

18. - GRENAWAY, T.; SCAYBROOK, T. AND WHATLEY, F.. The composition and plant origins of propolis: a Report of work at Oxford. University of Oxford. Oxford, England. 1990

- **Acacetina:**

Propiedades antiinflamatorias.

- **Conferido:**

Promisorio agente anticarcinogénico al inducir directamente quinona reductasa y otras enzimas protectoras, sin promover la activación de otros carcinógenos.

- **Galangina:**

Es uno de los flavonoides que con mayor frecuencia se han encontrado en propóleos, presenta actividad antimutagénica, Antioxidante, secuestrador de radicales libres y modulador de actividad de enzimas metabólicas, pero se le destaca principalmente por su capacidad antigenotóxica como un potente agente quimioprotector frente al cáncer. Además posee actividad antibacteriana.

- **Actividad Antibacteriana**

Destaca principalmente en el control de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei* y *Proteus vulgaris*.

La actividad antibacteriana del propóleo es mucho más notable sobre las bacterias grampositivas que sobre las gramnegativas.

- **Actividad antimicótica:**

La pinocembrina presente en el propóleo es el principal responsable de esta actividad, principalmente en algunas cepas del género *Candida*.

- **Actividad antiparasitaria:**

Efectividad contra la *Giardia lamblia*, y como control en 67% de *Eimeria* spp. (coccidiosis) en conejos y aves.

3.1.1.7. MECANISMO DE ACCIÓN

El mecanismo de acción antimicrobiano del propóleo es complejo y no está completamente entendido. La actividad en contra de los microorganismos está más relacionada al efecto sinérgico de los flavonoides (y otros fenoles).

Se observó que la acción antibacteriana utilizaba varios mecanismos, tales como la formación de complejos streptocócicos pseudomulticelulares, desorganización del

citoplasma, de la membrana plasmática, y de la pared celular, bacteriolisis parcial, e inhibición de la síntesis de proteínas.²⁵

Además se observó una inhibición de la división celular en presencia del propóleo, y este hecho sugirió que el propóleo podría actuar inhibiendo la replicación del RNA polimerasa a través de DNA e indirectamente, afectando la división celular.⁶



Hemerografía

6. Dr. Pablo Ignacio Del río Martínez. **Actividad Biocida de un Própolis Chileno frente Porphyromonas Gingivales Estudio in Vitro.** Facultad de Odontología Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile, 2006

25. Takaisikikuni N, Schilcher H. (1994). **Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance.** Planta Med 60: 222-227

3.1.1.8. USO DE PROPÓLEO EN ODONTOLOGÍA

El uso clínico del própolis en odontología es conocido desde la antigüedad.

Los extractos alcohólicos de própolis poseen una acción anestésica local, atribuible a sus contenidos en pinocembrina y ésteres de cafeato. Los efectos cariostáticos dependen de su composición.

El extracto etanólico de propóleo brasileño, rico en pinocembrina y galangina, inhibe la actividad de la glucosiltransferasa y el crecimiento del *Streptococcus mutans* y de otros patógenos de la cavidad oral.

La histología dental demuestra que la pasta dental a base de propóleo inhibe el crecimiento bacteriano y estimula la reparación de la dentina. Sin embargo, los colutorios a base de propóleos no impiden la formación de placa dental.²²

Hemerografía

22.- MARCUCCI MC, FERRERES F, GARCÍA-VIGUERA C, BANKOVA VS, DE CASTRO SL, DANTAS AP. **Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities.** *J Ethnopharmacol* 2001

3.1.1.9. REACCIONES ADVERSAS

Las reacciones adversas a la aplicación local de propóleo son escasas y se refieren generalmente a reacciones alérgicas de hipersensibilidad de tipo dermatitis de contacto. Se han descrito hasta la fecha un total de 250 casos de alergias por dermatitis de contacto al propóleo. Los reportes generalmente se describen como dermatitis en las zonas palmares y dedos, correspondiente a la manipulación de partes de la colmena que contienen propóleo.

No hay que negar que también se hayan visto reacciones alérgicas en la mucosa oral, (mucositis orales agudas) con ulceraciones, debido a la ingesta de grageas o gotas de propóleo.

El principal agente sensibilizante descubierto en la composición de propóleo corresponde a 3-metil-2-butenil cafeato y feniletil cafeato. Posiblemente existan otros alérgenos no descubiertos a la fecha.²³

La dosis de toxicidad aguda es $> 10,57$ g/kg de peso, con una sensibilidad cutánea a la exposición directa de 32 mg de muestra.⁴

3.1.1.10. PARÁMETROS DE CALIDAD

Aun cuando existen diversos parámetros de calidad en los propóleos los valores varían según la técnica y origen geográfico, no obstante deben de cumplir los siguientes requisitos:

- Porcentaje de flavonoides, el cual debe tener un mínimo de 0,75%.
- Porcentaje de sólidos solubles, mínimo de 40%
- Porcentaje de cera, máximo de 20%
- Presentar actividad antimicrobiana
- Índice de oxidación máximo de 22 segundos

Estos parámetros llevan a considerar al propóleo de una calidad aceptable.

Hemerografía

23.-Gulbahar O, Ozturk G, Erdem N, Kazandi A, Kokuludag . Psoriasiform contact dermatitis due to propolis in a beekeeper. ***Annals of Allergy, Asthma and Immunology*** (2005).

4.- López del Villar J, Ubillús CM. ***Estandarización del propóleos del Valle de Oxapampa, Departamento de Pasco (Perú) como materia prima para su utilización a nivel industrial.*** [Tesis Título de Químico Farmacéutico]. Facultad de Farmacia y Bioquímica: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2004.

11.-Zulma Moreno H. OD.1, Patricia Martínez A. OD.1, Judith Figueroa. ***Efecto antimicrobiano In vitro de Propóleos Argentinos, Colombianos y Cubano sobre Streptococcus Mutans ATCC 25175.***

3.1.2. STREPTOCOCCUS MUTANS

3.1.2.1. GENERO STREPTOCOCCUS¹²

Los Streptococcus son microorganismos sumamente difundidos y la cavidad oral aloja gran número de especies de este género; tienen forma esférica y están agrupados en cadenas de longitud variable. Se aislaron por primera vez de exudados purulentos en 1874.

Se les denominó estreptococos de la raíz griega streptus por lo flexible, encontrados en heridas infectadas, erisipela, fiebre puerperal y en fiebre escarlatina.

Los estreptococos forman el grupo, más numeroso en la cavidad oral, promediando en la mayoría, casi la mitad de las cuentas variables de saliva y dorso de lengua, y aproximadamente $\frac{1}{4}$ de las cuentas variables de la placa y del surco gingival.

Bibliografía

12.- LOESCHE WJ. *Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease*. In: *Baron's Medical Microbiology* pag 365

3.1.2.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El género estreptococos pertenece a la familia de las estreptococaceas.

Tienen forma esférica y están agrupados en cadenas de longitud variable, cada uno de los elementos aisladamente tienen un diámetro que oscila entre 0,6 y 1 μ m

Son grampositivos y no esporulados, carecen de flagelos de modo que son inmóviles, presentan prolongaciones extracelulares del tipo de las fimbrias y pueden tener capsula, no presentan esporas, se agrupan formando pares o cadenas de diferentes largos.

Son aerobios aunque pueden desarrollarse en condiciones anaerobias a veces incluso mejor que en aerobiosis (aerobios y anaerobios facultativos), carecen de catalasa (salvo una excepción), su tolerancia al oxígeno se debe a las peroxidasa flavinicas y pseudocatalasas. Presentan un metabolismo fermentativo y producen esencialmente ácido láctico (homofermentativos).⁵

Con respecto al hombre, los hay patógenos y oportunistas que forman parte de la microbiota normal. Pueden provocar

distintas patologías como consecuencia de sus productos o por el hecho de ser bastante resistentes a la fagocitosis¹.

Su hábitat es de amplia distribución: comensales en tracto respiratorio genital, digestivo y en piel. Pueden ser potencialmente patógenos y hay cerca de 20 especies.

3.1.2.3. IN VITRO

La ausencia de peroxidasas flavinicas y pseudocatalasas en algunos casos y la producción de peróxido de hidrogeno en otros suponen unas condiciones desfavorables que in vitro pueden evitarse con la adición de sangre en los cultivos cuya catalasa descompondrían el agua oxigenada. En cualquier caso su crecimiento al aire se ve favorecido por una atmosfera del 5-10% de CO₂.⁵

Bibliografía

5.- LIÉBANA UREÑA JOSÉ: Microbiología oral. Pag. 325

La génesis de ácidos (ácido Láctico) que el descenso del pH provocaría su autólisis, de ahí que los medios de cultivo deban ir tamponados, especialmente si contienen azúcar y líquidos. En los caldos de crecimiento es muy variable, desde turbidez homogénea a granular pasando por formas de cometa y depósitos en el fondo o en las paredes, su temperatura óptima de desarrollo es de 36 ± 1 °C y en relación con las condiciones de cultivo son muy variables, desde los más exigentes, hasta los que incluso se desarrollan en condiciones hostiles.

3.1.2.4. CLASIFICACIÓN:

- **Clasificación por acción Hemolítica⁵**

En 1919 Brown, describió los tipos de estreptococos de acuerdo a su acción sobre los eritrocitos dadas por las hemolisinas.

Dependiendo de su acción hemolítica sobre sangre entera en un medio agar se divide en:

- **Alfa (α)-hemolíticos.-** Causan una zona interna de decoloración verde conteniendo eritrocitos desintegrados (1 a 2mm de diámetro). El grupo de los *Streptococcus Viridans* (del latín *viridis*) son los representantes clásicos de este grupo, de ellos el *S. Salivarius* es el más común. Hemólisis alfa incompleta con halo verde (*S. Pneumoniae*)
- **Beta (β)-hemolíticos.-** Producen una zona amplia de hemólisis completa (alrededor de toda la colonia de 2 a 4mm) causado por las estreptolisinas. *S Pyogenes* es el más conocido. hemólisis completa (*S. Equi*)
- **Gama (γ)-hemolíticos.-** no producen hemólisis, el más conocido *S. Faecalis*.

Bibliografía

5.- LIÉBANA UREÑA JOSÉ: Microbiología oral, pag 326

- **Clasificación según Lancefield (Inmunológica)**

Con letras desde A --> V, basado en las características de sus ácidos teicoicos que pueden ser determinadas mediante anticuerpos basado en la presencia del Compuesto C, que es un aminoazúcar de la pared, que varía de aminoácidos según el grupo de Streptococcus y se identifican por precipitación al enfrentar el Compuesto C con sueros antígenos, preparados de conejos. Dentro de los grupos se describen tipos designados con N° según se identifiquen ciertas sustancias que se encuentran en la membrana y en la pared denominadas Proteína. M y Proteína. T, se hace por aglutinación. ⁵

- **Grupo A.-** *Streptococcus Pyogenes* Principalmente afecta al hombre --> Escarlatina y Erisipela en el hombre
- **Grupo B.-** *Streptococcus Pneumonia*,
Streptococcus agalactiae

➤ **Grupo C.-** Estreptococos Beta hemolítico, Existen varias especies como: *Streptococcus zooepidemicus* afecta al equino principalmente

➤ **Grupo D.-** Estreptococos *Streptococcus Faecalis*, *Bovis* y *Equinus*.

Son bacterias intestinales, algunas especies son móviles a este grupo pertenecen los enterococos generalmente comensales en intestino de animales

➤ **Grupo E.-** Estreptococos, se aíslan de la leche

3.1.2.5. STREPTOCOCCUS DEL GRUPO VIRIDANS

Existe una especie de *Streptococcus* que se clasifica diferente, ya que al no poseer el compuesto C esta fuera de la clasificación de Lancefield.⁵

Bibliografía

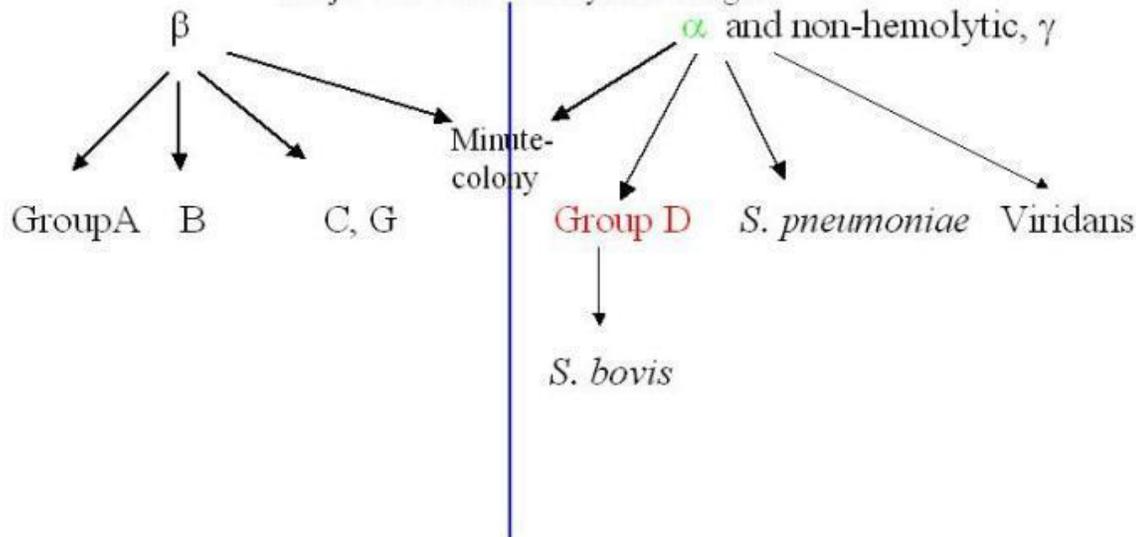
5.- LIÉBANA UREÑA JOSÉ: Microbiología oral, pag 328

Streptococcus classification

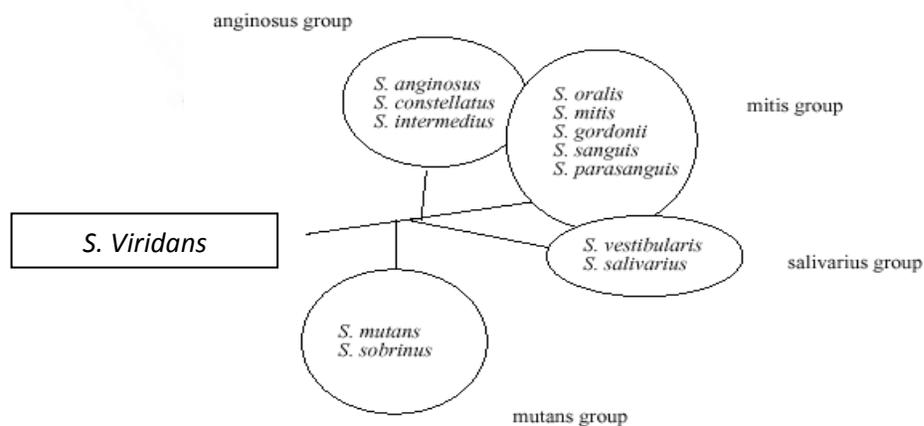
Hemolysis on Agar plates containing Sheep Blood

Lancefield Groups (A, B... T)

Major cell-wall carbohydrate antigens



(c) 2004, Joan Meccas, Ph.D.



Habitualmente (α) hemolíticos y difícilmente diferenciables por los serogrupos de Lancefield y por las pruebas fisiológicas clásicas. A nivel ecológico estos son los más importantes en la cavidad oral.

Los *S. Viridans* se parecen a los neumococos tanto en cultivos como en coloración Gram pero a diferencia de ellos no poseen sistemas autolíticos bien desarrollados y no son lisados por las sales biliarias. Estas bacterias son exigentes y crecen solo en caldo de infusión de corazón o en medios ricos en proteínas. Son micro aerofilos y acidofilos.

Fuera del ámbito oral, estos estreptococos participan cada vez más en procesos sistemáticos y focales, su mayor importancia radica en su relación con las endocarditis subagudas.

Las especies más reconocidas se han dividido de acuerdo a la capacidad de fermentar manitol y sorbitol y a la síntesis de dextranos y levanos a partir de sacarosa en grupos de los cuales los más comunes son *S. salivarius*, *S milleri*, *S. mitis*, *S. sanguis*, y *S Mutans*.⁴

Bibliografía

4.- BURNETT George. "**Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la Boca**" pag. 284

3.1.2.6. STREPTOCOCCUS MUTANS¹²

Según el sistema de clasificación universalmente aceptado para las bacterias (Bergey's manual of Determinate Bacterology), las especies del grupo *Mutans* corresponden a las siguientes categorías:

- **Reino** Procaryotae
- **División** II (Bacterias)
- **Sección** XIV (Cocos)
- **Familia** Streptococcus
- **Especies** *S. Mutans*, *S. Rattus*, *S. cricetus*,
S. Ferus, *S. Downei* y *S. Macacae*

A los microorganismos que producen caries se les denomina cariogénicos.

El *Streptococcus Mutans* es considerado el principal agente etiológico de caries dental, en humanos se aísla en el 70 a 90% de la población no desdentada y resistente a la caries (portadores) y animales experimentales.

Bibliografía

12.- LOESCHE WJ. **Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. In: Baron's Medical Microbiology** pag 367

Se considera el microorganismo cariogénico por excelencia. Por su especial capacidad de colonizar superficies duras se aísla en la cavidad oral, sobre todo a partir de placas supragingivales, radiculares y saliva, en cuyo caso su origen es secundario a la localización en las placas. Igualmente su papel es importante en las endocarditis subagudas representando entre el 7-14% de todas las originadas por los estreptococos. Los *Lactobacillus* son las bacterias que prosperan en el medio carioso y contribuyen a la progresión de la enfermedad.

En 1924 Clark aisló organismos a partir de lesiones cariosas que denominó *S. Mutans* debido a que con la coloración de Gram se observaban de forma más ovalada que redondeada, (forma típica de los estreptococos), por lo que considero que eran formas mutantes de este género.³

Las células de *S. Mutans* son cocos Gram positivos, presentan un diámetro de 0.5 a 0.75 micrómetros y se disponen en cadenas.

Bibliografía

3.NEGRONI, MARTA: **Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica**, pag.203

Esta bacteria es microaerofila. Para poder crecer y desarrollarse "In Vitro" necesita medios enriquecidos y un ambiente de baja tensión de oxígeno.

Algunas características fenotípicas de estas bacterias son determinantes en su cariogénicidad. Su capacidad de virulencia está asociada a varios factores, como su poder ácidogeno, ya que metaboliza hidratos de carbono a ácidos; tiene poder acidofílico, pues es capaz de mantenerse metabólicamente activo a pesar de un pH bajo.

Las propiedades de patogenicidad de estas bacterias permiten su adaptación y crecimiento sobre la película adquirida del esmalte y así la colonización del diente. En esta etapa influyen también factores exógenos como el consumo de sacarosa en la dieta. Para que el *S. Mutans* se disemine entre las superficies dentarias debe estar presente en cantidad suficiente en la saliva.⁴

Bibliografía

- 4.- BURNETT GEORGE W. B.A., SCHERP HENRY W., B.S.: **Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca**
pag. 290
- 5.- LIÉBANA UREÑA JOSÉ: **Microbiología oral** pag. 330

Hay que destacar que el *S. Mutans* posee los polisacáridos parietales c, e y f y proteínas asociadas a la mureina conocidas como antígenos I/II (o también como B, P1 o Pac).⁵

Estas proteínas u otras similares participan en procesos adhesivos:

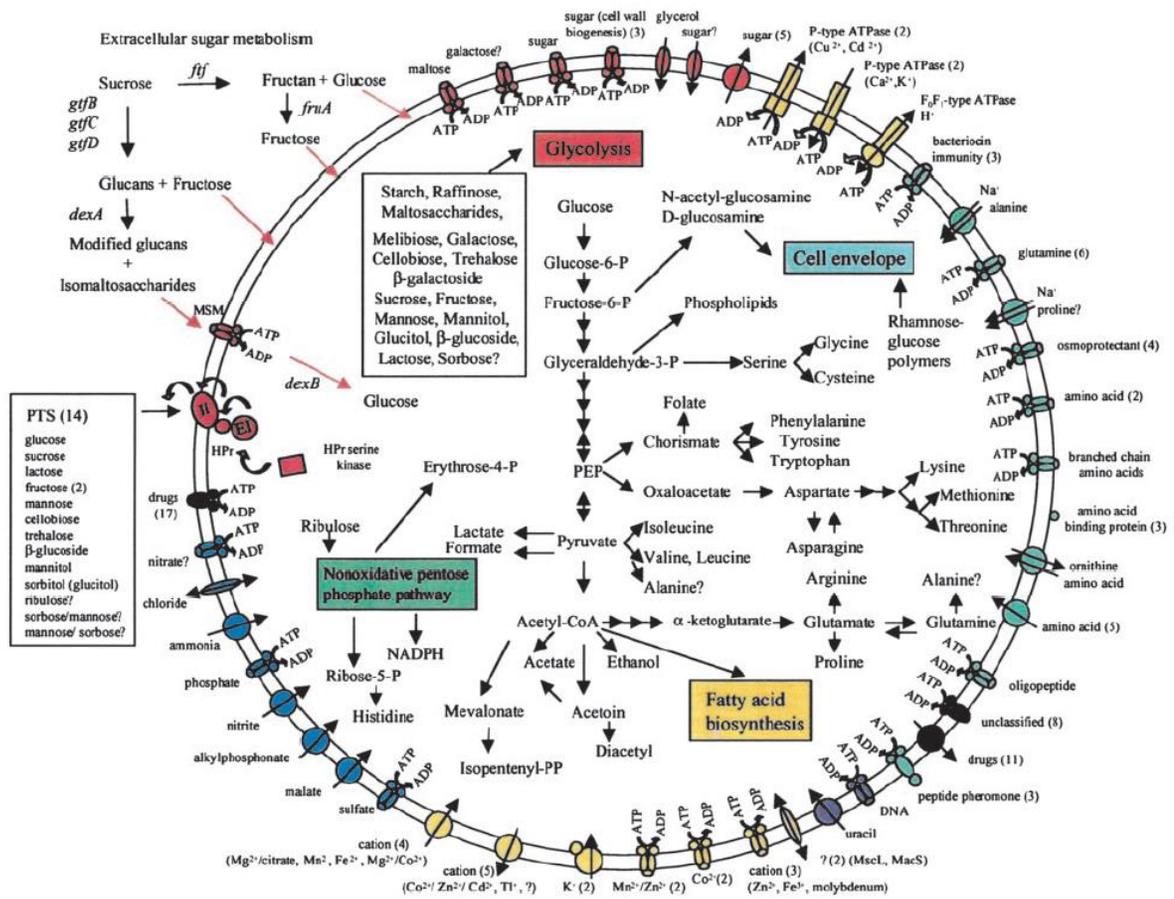
- a) Como Adhesinas** Interactuando con receptores de la película adquirida, tales como proteínas ricas en prolina.
- b) Glucosiltransferasas Y Receptoras De Glucanos** en fenómenos agregativos y coagregativos entre bacterias que colonizan los dientes.

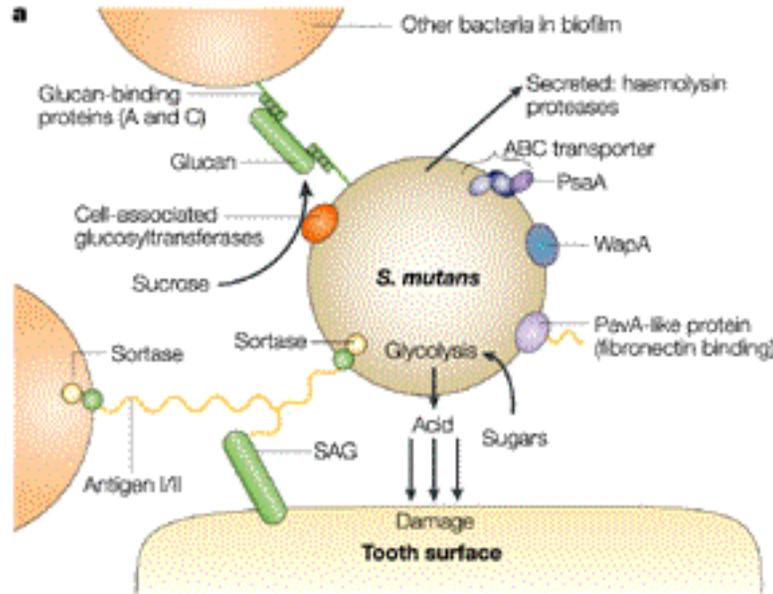
El *S. Mutans* puede sintetizar polímeros extra celulares solubles (dextranos, fructanos) e insolubles (mutanos) a partir de la sacarosa. Los polímeros insolubles desempeñan un papel fundamental en la adhesión de *S. Mutans* a la superficie dentaria. Por ese motivo no se lo aísla de la cavidad bucal antes de la erupción de los dientes temporarios.³

Bibliografía

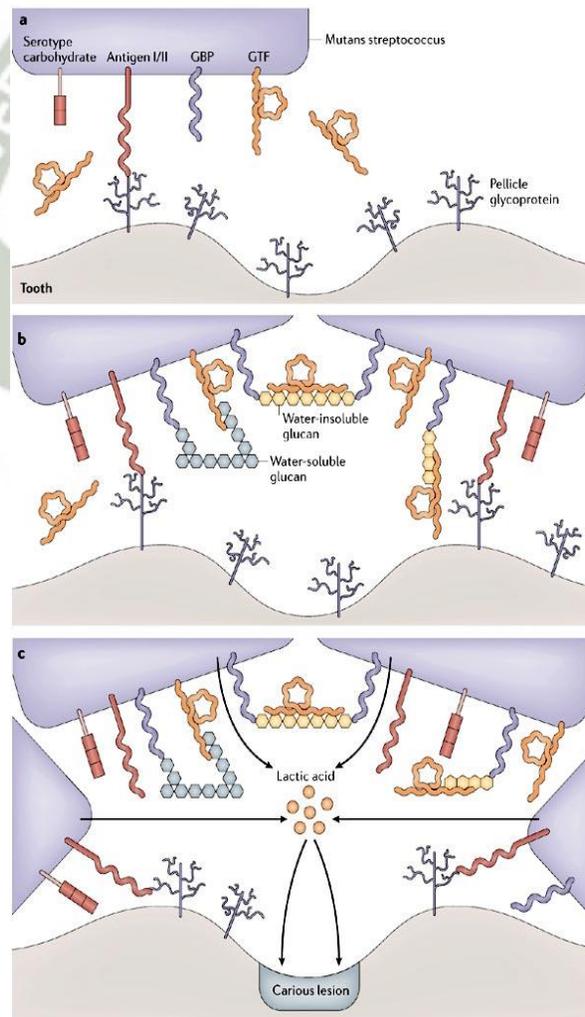
3.- NEGRONI, MARTA: Microbiología estomatológica fundamentos y guía práctica pag.203

S. Mutans





Acción cariogénica del *S. Mutans*



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

- **La Relación *S. Mutans* – Caries** ²³

Se fundamenta en las siguientes características:

- Incremento cuantitativo en sujetos predispuestos o con caries activa.
- Capacidad de inducción de la enfermedad en animales de experimentación.
- Protección de los mismos cuando están inmunizados frente a antígenos del microorganismo y los factores de virulencia relacionados con dichos procesos.

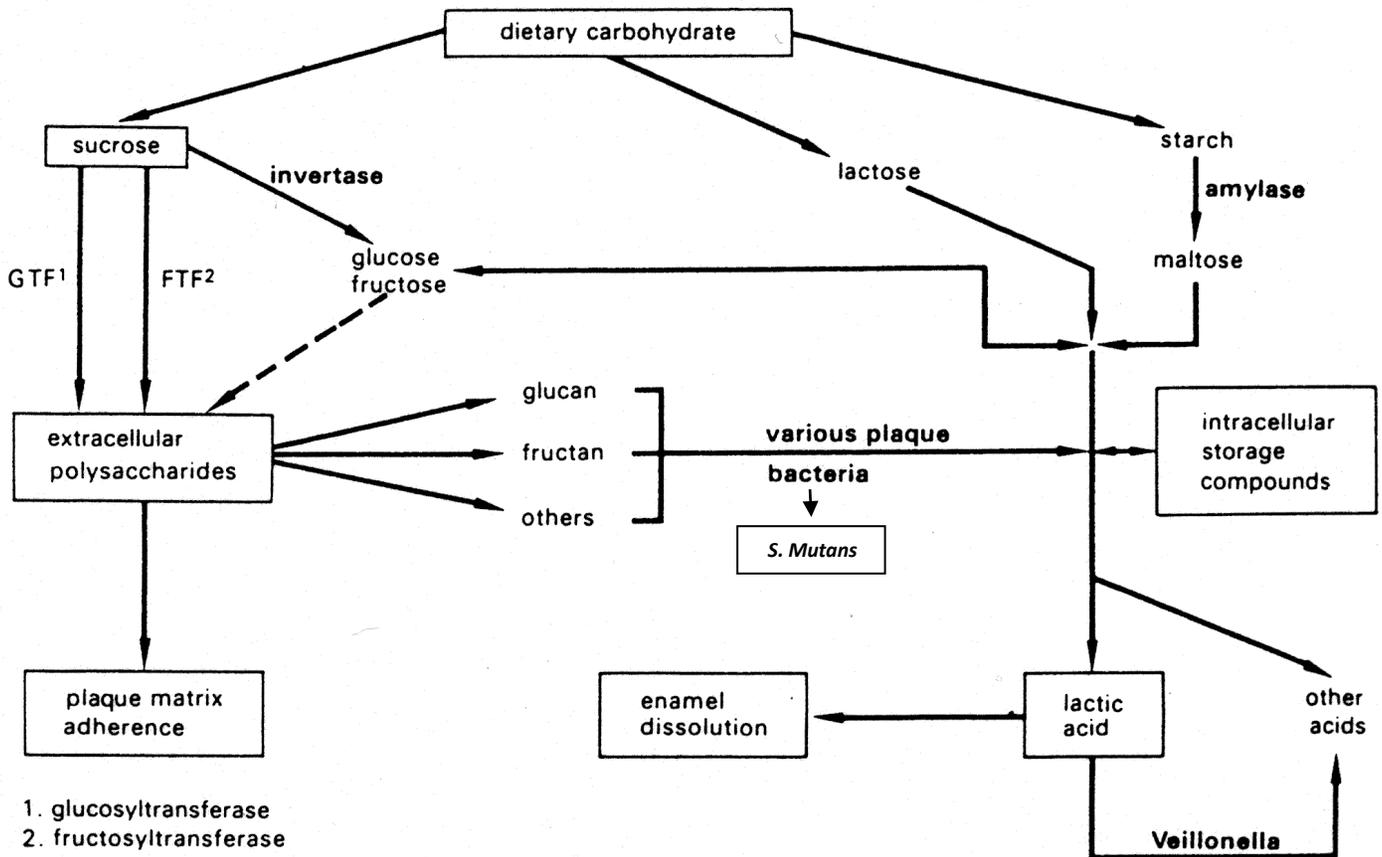
- **Factores de Cariogenecidad** ²³

- Síntesis de polisacáridos intracelulares
- Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos solubles e insolubles y fructanos.
- Movilización de polisacáridos intracelulares por glucógeno fosforilasa y extracelulares solubles por dextranasas y fructanasas.
- Poder acidogeno, acidofilo y acidurico, inicio de crecimiento a pH 5 y corto efecto post-pH

- Hemerografía

- 23.- **Streptococcus Mutans: Su Relación Con La Actividad Cariogenica.** Rev Cubana Estomatoli

FACTORES DE CARIOGENECIDAD DEL *S. MUTANS*

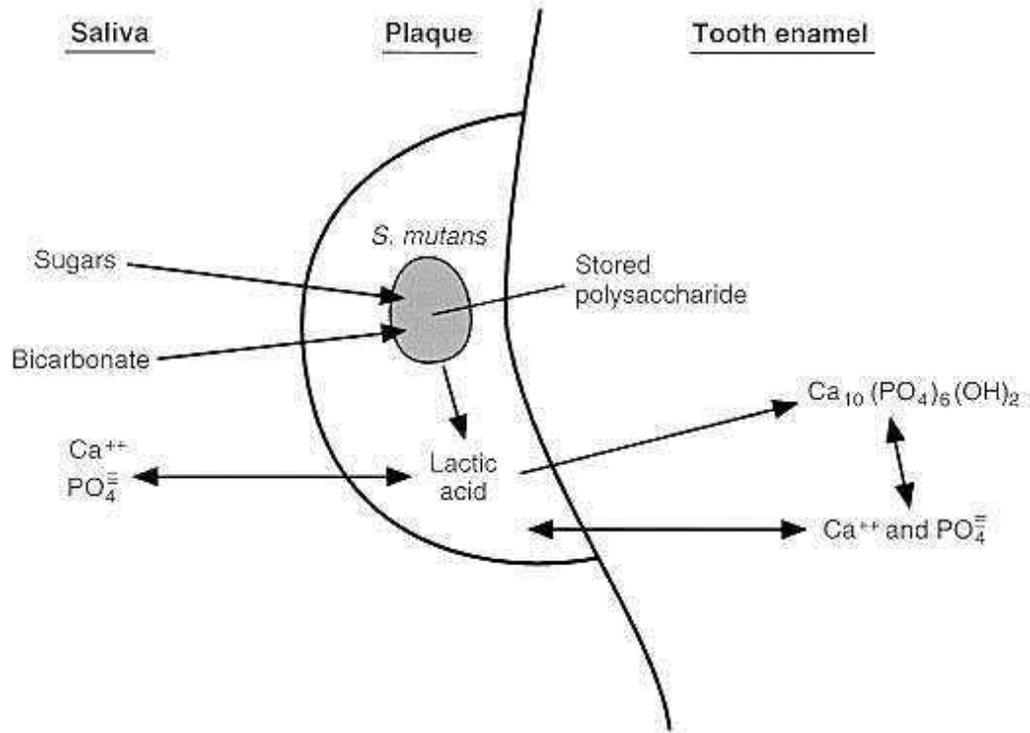


- Importante capacidad adhesiva por las proteínas parietales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, y agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos
- Producción de bacteriocinas con actividad sobre otras bacterias grampositivas que podrían tener una significación ecológica, aunque no está demostrada *in vivo* su importancia como factor selectivo de la microbiota.

- **La Relación Del *S Mutans* - Placa Bacteriana**²³

La habilidad de *S. Mutans*, en cuanto a su participación en la formación de placa bacteriana, está relacionada con la producción de las glucosiltransferasas, enzimas que tiene un rol principal en las interacciones adhesivas y expresión de virulencia de estos microorganismos debido a que catalizan la síntesis de polisacáridos extracelulares (glucanos solubles e insolubles en agua) que promueven la adhesión de estreptococos cariogénicos en la superficie del diente. Dichas enzimas proporcionan a la célula un sustrato de donde a

Relación Del *S. Mutans* - Placa Bacteriana



partir del metabolismo producen principalmente ácido láctico, el cual es fundamental en su virulencia debido a que aparentemente es el ácido más potente que interviene en la desmineralización del diente. Otra característica es su corto efecto post-pH que se define como el tiempo necesario para recuperar su actividad de crecimiento habitual, tras estar sometido a un bajo pH, este vuelve a la normalidad. Por lo tanto no es de extrañar que estas especies bacterianas sean las que consignan alcanzar más rápidamente el pH crítico para iniciar el proceso de desmineralización.

Los estreptococos del grupo *Mutans* son genéticamente heterogéneos y pueden ser subdivididos en distintos tipos. Esto ha sido posible por medio del estudio de estructuras antigénicas.

En 1933 Lancefield describió por primera vez un método para la clasificación de los estreptococos dentro de 13 grupos designados de la letra "a" hasta la "o" que se usa hasta la actualidad.

Hemorografía

23.- **Streptococcus Mutans: Su Relación Con La Actividad Cariogénica.** Rev Cubana Estomatol

El método incluye reacciones serológicas de los extractos de la pared bacteriana con antisueros.

De acuerdo a este esquema el *S. Mutans* se ha clasificado dentro de 8 serotipos, designados con las letras "a" (*S. Cricetus*) proveniente de aislados de hámsteres de laboratorio; serotipo "b" (*S. Rattus*) proveniente de aislados de ratas de laboratorio; serotipo "c", "e", "f" (*S. Mutans*) provienen de aislados de humanos siendo el "c" el de mayor prevalencia en el mundo; serotipo "d" que le sigue en frecuencia, "g" (*S. Sobrinus*), serotipo "h" (*S. Downei*)

S. Ferus es aislado de ratas salvajes, posee serotipo "c" sin embargo su origen genético no está relacionado con *S. Mutans* al igual que el *S. Macacae*, también con serotipo "c" pero con características diferentes al *S. Mutans*.

Estos tipos varían de acuerdo a sus reacciones serológicas bioquímicas y genéticas sin razón conocida.

3.1.2.7. CARACTERÍSTICAS DEL STREPTOCOCCUS MUTANS¹²

- 1.- Síntesis de polisacáridos intracelulares
- 2.- Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucano (insolubles) y fructanos (solubles).
- 3.- Movilización de polisacáridos extracelulares por glucógeno fosforilasa y extracelulares solubles por dextranasas y fructanasas.
- 4.- Poder acidogéno.
- 5.- Poder acidúrico.
- 6.- Poder acidófilo.
- 7.- Rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos.
- 8.- pueden conseguir el pH crítico para desmineralización del esmalte más rápidamente que cualquier otro microorganismo.
- 9.- Producción de polisacáridos extracelulares a partir de la sacarosa
- 10.- Corto efecto post - pH
- 11.- Importante capacidad adhesiva por las proteínas parietales que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos y agregativas a

través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos.

- 12.- Bacteriosinas con actividad sobre otras bacterias Gram positivas que podrían tener una significación ecológica.
- 13.- Es un formador homo fermentante de ácido láctico
- 14.- Coloniza en la superficie de los dientes.

3.1.2.8. **ADQUISICIÓN DEL STREPTOCOCCUS MUTANS⁶**

El *Streptococcus Mutans* no es encontrado en la cavidad oral antes de la erupción dental, debido a que el microorganismo requiere de la presencia de tejido duro no descamativo para su colonización.

La principal fuente de adquisición y transmisión de esta bacteria es a partir de la saliva de las madres. Se ha demostrado que el periodo exacto de colonización de esta bacteria es a los 26 meses de edad en lo que ha sido denominado ventana de inefectividad.

Bibliografía

6.- NOLTE WILLIAN: **microbiología odontológica pag. 287**

Hemerografía

12.- **Estudio comparativo de siete medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.** Facultad de odontología, Universidad Nacional de Colombia.

3.1.3. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

La determinación de la sensibilidad a los agentes antimicrobianos es una de las principales funciones de un laboratorio de enfermedades infecciosas. Esta función se vuelve de especial relevancia en una época como la actual, en la que las resistencias a los agentes antimicrobianos son elevadas y existe una gran discusión sobre la utilización de antibióticos en los animales. Por ello es fundamental que el laboratorio pueda aportar la información necesaria para llevar a término un tratamiento adecuado.

El principal objetivo de cualquier prueba de sensibilidad antimicrobiana es predecir cuál será el resultado de un tratamiento. En muchas ocasiones los resultados se expresan, para un patógeno aislado y analizado, de forma cualitativa: como "sensible" (en cuyo caso se supone que un tratamiento "estándar" con aquel compuesto producirá la curación), "resistente" (el antimicrobiano examinado no será eficaz en aquella patología) o "intermedio" (la efectividad de aquel compuesto dependerá de su localización o de la dosificación utilizada).

Un segundo objetivo de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana es la de obtener series históricas que permiten predecir el comportamiento de un tratamiento cuando éste se hace de forma empírica.

Es importante que se realicen de un modo estandarizado ya que los resultados pueden variar mucho en función a las condiciones de trabajo (inoculo, medio de cultivo pH) De ahí que se recomiendan seguir las pautas indicadas por el NCCLS (National Comité for Clinical Laboratory Standards)¹³

3.1.3.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA

Existen distintos métodos de análisis de la sensibilidad antimicrobiana.

Podemos distinguir diferentes tipos de métodos en función de la técnica utilizada y de la información que dan, siendo los más importantes:

Bibliografía

13.- JOKLIK WOLFGANG K. ZINSSER Microbiología. Pag 1281

Método	Técnica	Información
Cualitativo	Antibiograma difusión de microdiscos (kirby-bauer)	<ul style="list-style-type: none"> - Resistencia - valor intermedio - sensibilidad
Semicuantitativo	Gradiente antibiótico (E-test)	Aproximación a la concentración mínima inhibitoria (CMI)
Cuantitativo	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dilución de caldo: <ul style="list-style-type: none"> - Macrodilución en tubo - Microdilución en placa 2. Dilución en agar 3. Sistemas automatizados (VITEK...) 	Determinación de la CMI

(Fuente: Dra Francisca Otaola Carrera, Universidad autónoma de Barcelona **Pruebas De Sensibilidad A Agentes Antimicrobiano.**)

Cada sistema tiene sus ventajas y sus inconvenientes: ¹⁰

El método de Kirby-Bauer es probablemente el más utilizado por su sencillez y, si se realiza correctamente, presenta una correlación muy buena con los métodos cuantitativos.

Algunos laboratorios trabajan con métodos semicuantitativos como el E-test. Estos sistemas son una modificación del método de Kirby-Bauer, en los que en lugar de discos se utilizan tiras de papel impregnadas con un gradiente del antibiótico, lo que permite una semi-cuantificación.

Los sistemas cuantitativos son los más exactos pero también los más laboriosos.

A) Concentración mínima inhibitoria (CMI)⁹

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de un agente antimicrobiano es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba.

Expresando la mínima cantidad de antibiótico necesario para impedir el crecimiento bacteriano, en un ensayo de laboratorio

Determinamos la concentración en el laboratorio incubando una cantidad conocida de bacterias con diluciones definidas del agente antimicrobiano. Utilizando los criterios de interpretación del NCCLS los resultados son interpretados como susceptible, intermedio o resistente. Las pruebas de la CMI pueden ser realizadas usando como medios de cultivo en caldo o agar, pero la microdilución en caldo es el método más utilizado en los laboratorios clínicos

B) Concentración mínima bactericida. (CMB)⁹

Concentración Mínima bactericida (CMB) o concentración letal mínima (CLM).

Es un indicador de la mínima cantidad de antibiótico, que reduce el recuento de microorganismos en un 99.9%, produciendo la MUERTE bacteriana; siendo medidas en cultivos microbiológicos.

También podemos interpretarlo como la mínima concentración del agente antibacteriano que permite sobrevivir a menos de 0,1 % del inóculo original.



Infografía

9.-Dra Francisca Otaola Carrera, Universidad autónoma de Barcelona **Pruebas De Sensibilidad A Agentes Antimicrobianos**

10.-Dr. Jose Francisco Gomez Piérola, Universidad nacional de Colombia **Conceptos Básicos De La Terapia Con Antibióticos**

3.1.3.2. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

3.1.3.2.1 PRUEBAS DE SENSIBILIDAD POR DILUCIÓN

Distinguimos dos tipos según se realicen en agar o en caldo y en este último, en tubo o por dilución.

1) Dilución en Agar ¹¹

Continúa siendo el método de referencia y consiste en la determinación de la CMI.

Consiste en valorar el crecimiento del microorganismo a analizar en una serie de diluciones de agar que contienen cantidades decrecientes del antimicrobiano elegido.

Habitualmente el medio utilizado es el agar Mueller-Hinton o el Isosensitest. El inóculo (cepa bacteriana) se debe dispensar en los pocillos de una microplaca conteniendo las diluciones de antibiótico para tener una concentración final de 5×10^5 UFC/ml en un volumen de entre 50 y 200 μ ml. Después de una incubación de 24hrs. a 37°C se determina la capacidad

de crecimiento de la bacteria en presencia del antimicrobiano para valoración de la turbidez del medio. La CMI se define como la máxima dilución de antimicrobiano en la que no hay crecimiento bacteriano.

Es necesario incluir un microorganismo de control, un cuidado del crecimiento bacteriano y atención en la pureza del inóculo.

Además se debe validar la densidad del inóculo realizando siembras de diluciones seriadas.

- **Puntos críticos**

a) Cantidad de inóculo: inóculos excesivos tienden a incrementar la CMI mientras que inóculos deficientes tienden a hacerla disminuir.

b) Pureza del inóculo: Un inóculo contaminado con un microorganismo diferente al que se quiere analizar anula la prueba.

Infografía

11.- Dra Elizabeth palavecino rosales Pontificia Universidad católica de Chile [interpretación de los métodos de susceptibilidad antimicrobiana](#)

c) Incubación: Incubaciones menores de 16hrs. o más de 24hrs. pueden dar lecturas erróneas. El uso de CO² puede alterar los resultados.

- **Preparación del medio.**

A partir del polvo valorado del antibiótico (no sirven las especialidades farmacéuticas, si no que se utiliza el polvo de una pureza conocida, que lo suele comercializar la casa comercial), se prepara en un disolvente adecuado una concentraciones decrecientes, de modo que al añadirlas al medio de cultivo quede la concentración que deseamos testar. Los disolventes

- **Inóculo**

Debe proceder de un cultivo joven y el modo de realizarlo esta estandarizado, puede afectar mucho a los resultados. Para ellos se siembran 4 o 5 colonias en un caldo, incubándolo por 24hrs., ajustando el inculo posteriormente al 0,5 de la escala de Mc Farland que corresponde con 10⁸ UFC/ml.

- **Lectura de resultados**

Tras la incubación de 24hrs. para la mayor parte de microorganismos. La CMI será aquella en que inhiba el crecimiento.

2) **Dilución en Caldo**

Básicamente es similar al anterior. La diferencia está en que las diluciones del antibiótico se realizan en un caldo y en que el inculo se añade con un micropipeta en lugar de con un replicador.

En este caso, en tubos (macrodilución) o microplacas (microdilución) contienen concentraciones crecientes de un determinado antibiótico.

El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pocillos de la microplaca y la CMI es determinada después de la incubación, de la misma forma descrita anteriormente para el método de la dilución en agar.

La lectura se realiza observando la turbidez tras la incubación.

3.1.3.2.2. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD POR DIFUSIÓN¹¹

La difusión por agar, continúa siendo el método más utilizado en microbiología, pues se obtienen resultados exactos y precisos mediante un método sencillo. Para ello se requiere que todos los detalles del procedimiento estén cuidadosamente controlados y sean uniformes.

Pueden utilizarse como métodos cuantitativos y cualitativos, que es lo más frecuente, informado los resultados de un antibiograma como resistentes, intermedios o sensibles según los diámetros de inhibición obtenidos.

Está basado en que al añadir el antibiótico contenido en un disco, va a difundir por el medio, produciendo un gradiente de concentración, según nos alejemos del lugar donde se sitúa el disco, la concentración ira decreciendo.

La distancia en la que se inhibe el crecimiento del microorganismo inoculado en el medio se denomina halo de inhibición, se mide en mm y es inversamente proporcional a la CMI.

Infografía

11.- Dra Elizabeth palavecino rosales Pontificia Universidad católica de Chile [interpretación de los métodos de susceptibilidad antimicrobiana](#)

- **Inóculo y medio¹⁴**

Se toma 4 o 5 colonias y se hacen crecer en caldo durante 2-5 horas, ajustando posteriormente el inóculo al 0.5 de la escala de Mc Farland.

Esta suspensión se debe inocular, en un tiempo inferior a 15 - 20 minutos, mediante una torunda escurrida por la placa con agar Mueller Hinton generalmente.

A continuación se le deja secar entre 3 y 5 minutos

- **Disco con antibiótico¹⁴**

Se añadirán los discos con la sustancia a evaluar antes que transcurra 15 minutos mediante pinzas estériles o mecánicamente.

Los discos llevan una determinada concentración de cada sustancia a evaluar y deben estar separados unos de otros, al menos 15 mm de distancia.

Es importante que el almacenamiento de los discos hasta su utilización sea el correcto (2-8°C o siguiendo las instrucciones del fabricante)

- **Lectura¹⁴**

La lectura suele realizarse tras la incubación en aerobiosis a las 24 horas. Se mide los mm de halo y se interpretan en función del antibiótico y del microorganismo.

3.1.3.2.2.1. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR CON DISCOS (BAUER – KIRBY)¹¹

El principio de las pruebas de difusión por disco ha sido utilizado por más de 70 años en los laboratorios de microbiología. Alexander Fleming utilizó una variante de esta técnica cuando trabajaba con la penicilina en los años cincuenta. En ese tiempo, había tantos procedimientos diferentes en uso como microbiólogos.

Los doctores Bauer, Kirby, Sherris y Turck probaron minuciosamente todas las variables involucradas en el proceso, tales como los medios de cultivo, la temperatura y el espesor del agar. En 1966, ellos publicaron su estudio primero describiendo la prueba que se usa en la actualidad. El NCCLS adoptó los pasos básicos del procedimiento descritos en el estudio de Bauer como el método de

referencia para difusión por disco. Estos pasos deben seguirse en **forma minuciosa** para obtener resultados precisos²⁷.

Esta prueba de sensibilidad es evaluada y revisada continuamente por El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio o Clinical and Laboratory standards Institute (CLSI), conocido anteriormente como la NCCLS (National Comite for Clinical Laboratory Standars).

Es el método más utilizado en microbiología, por obtener resultados exactos y precisos mediante un procedimiento sencillo.

La prueba de difusión en disco se basa en la capacidad de muchos agentes antimicrobianos de difundir en el agar creando un gradiente continuo de concentración. Si el disco que contiene el antibiótico se deposita sobre una placa recién inoculada, se producirá la inhibición del crecimiento del microorganismo analizado en un punto de la gradiente y dará como resultado un área concéntrica al disco de inhibición del crecimiento.

Bibliografía

14.- DELGADO IRIBARREN ALBERTO Laboratorio clínico. Microbiología pag 158-162

27.- Manual de Interpretación de las Pruebas de Difusión por Disco de la NCCLS "National Comite for Clinical Laboratory Standars" U.S.A

Esta área, al ser inversamente proporcional a la CMI permitirá la distinción de cepas sensibles, resistentes o intermedias.

Esta prueba está bien estandarizada y se acepta universalmente, si se realiza adecuadamente con los controles necesarios

Para informar los resultados de esta prueba, generalmente se utilizan como métodos un antibiograma. Estos resultados se utilizan como métodos cuantitativos clasificando a los microorganismos en sensible intermedio y resistente, según la sustancia a evaluar.

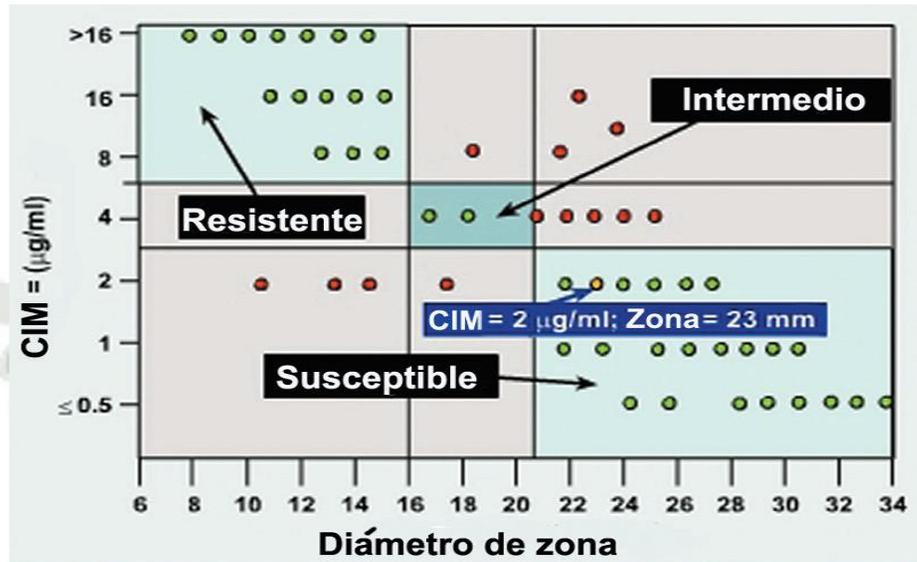
En esta investigación basada en la respuesta del *S. Mutans* se utilizara los mismos criterios informando de la siguiente manera:

- De 0 a 15_{mm} de halo de inhibición resistente
- De 16 a 21_{mm} de halo de inhibición intermedio
- De 22 a 34_{mm} de halo de inhibición susceptible

Infografía

11.- Dra Elizabeth palavecino rosales Pontificia Universidad católica de Chile [interpretación de los métodos de susceptibilidad antimicrobiana](#)

Los escatogramas (También conocidos como scatterplots) se usan para establecer los criterios de interpretación de CMI y difusión por disco, los cuales se conocen también como límites.



(Fuente Manual de Interpretación de las Pruebas de Difusión por Disco de la NCCLS
"National Comite for Clinical Laboratory Standars" U.S.A.)

1) PUNTOS CRÍTICOS

a) Concentración del inóculo:

La concentración ideal del inóculo corresponde a una dilución de turbidez 0,5 en la escala de McFarland. Concentraciones diferentes pueden dar lugar a interpretaciones erróneas de los resultados.

b) Medio:

El medio adecuado para realizar la prueba es el Mueller Hinton (MH). Para determinadas bacterias con requerimientos nutricionales específicos se pueden utilizar el MH-sangre o el MH-chocolate.

c) Concentración de los discos de antibiótico:

Para cada antimicrobiano hay fijadas unas concentraciones estándar. La variación de estas concentraciones implica variar los criterios de interpretación.

2) HALO DE INHIBICIÓN¹¹

La zona de inhibición, también conocido como halo de inhibición. Es la distancia en la que se inhibe el crecimiento del microorganismo inoculado en el medio, y se mide en mm. y es inversamente proporcional a la CMI.; es necesario señalar que el tamaño del halo de inhibición es influenciado por varios factores, entre ellos tenemos:

- Medio de cultivo en que se realiza la prueba.
- Estabilidad del antibiótico.
- Capacidad de difusión del antibiótico.
- Cantidad del inóculo.
- Rapidez del desarrollo del microorganismo.
- Sensibilidad del antibiótico.
- Periodo de incubación.

Cualquier variación de estos factores puede afectar el resultado de la prueba, sin embargo al emplear un procedimiento estándar es posible obtener resultados confiables.

11.- Dra Elizabeth palavecino rosales Pontificia Universidad católica de Chile [interpretación de los métodos de susceptibilidad antimicrobiana](#)

3.1.3.3. INTERPRETACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA¹⁰

- **Susceptible.**

Significa que la infección causada por ese organismo puede ser apropiadamente tratada con las dosis habituales del antibiótico estudiado.

- **Sensibilidad intermedia.**

Esta categoría incluye organismos que son inhibidos por concentraciones del antibiótico que están muy cercanas a las alcanzadas en el plasma, por lo que pueden responder pobremente a la terapia. Esta categoría, además, implica que ese antibiótico puede ser usado si la infección está localizada en sitios donde el fármaco es fisiológicamente concentrado (por ejemplo las quinolonas en vías urinarias), o cuando pueden ser usadas altas dosis (ejemplo penicilina).

- **Resistente.**

Significa que el organismo no sería inhibido por el antibiótico en las dosis habituales o que el organismo tiene mecanismos de resistencia contra ese determinado antibiótico.

3.1.3.4. MÉTODO DE E-TEST⁹

Este método ha sido descrito más recientemente y representa una sofisticada combinación de los métodos explicados anteriormente.

El E-test es más simple que otros métodos para obtener una CMI.; utiliza una tira de plástico que contiene concentraciones crecientes de un determinado antibiótico que van desde 0,016 ug/ml hasta 256 ug/ml/ esta tira se pone sobre una placa de agar que ha sido inoculada con el organismo en estudio.

Después de incubar la placa por 16 a 24 hrs, se forma un área de inhibición de forma elíptica, en la cual la concentración inhibitoria mínima puede ser leída directamente.

Este es el método de elección para hacer estudios de susceptibilidad en gérmenes problemáticos o con requerimientos especiales, como por ejemplo: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* y gérmenes anaeróbicos

3.1.3.5. MÉTODOS AUTOMATIZADOS⁹

En este momento existen varios sistemas que ofrecen diferentes niveles de automatización para el estudio de susceptibilidad.

Utilizan una medición turbidimétrica o fluorométrica para detectar crecimiento bacteriano en un medio líquido. La mayoría de ellos emplea el método de microdilución y períodos de incubación menores que los habituales.

Estos métodos son bastante confiables para el estudio de enterobacterias y otros gérmenes de crecimiento rápido pero generalmente no son los adecuados para los de crecimiento lento o con requerimientos especiales.

Infografía

9.-Dra Francisca Otaola Carrera, Universidad autónoma de Barcelona **Pruebas De Sensibilidad A Agentes Antimicrobianos**

10.-Dr. Jose Francisco Gomez Piérola Facultad de Odontología la Universidad nacional de Colombia **Conceptos Básicos De La Terapia Con Antibióticos**

3.1.4. CLORHEXIDINA¹¹

3.1.4.1 DESCRIPCIÓN

El gluconato de clorhexidina es un agente antimicrobiano tópico que se utiliza mayormente para enjuagues bucales en el tratamiento de la gingivitis y de la enfermedad periodontal y tópicamente en la preparación de la piel del paciente antes de una operación quirúrgica, lavado de heridas, y tratamiento del acné vulgar.

Otros usos de la clorhexidina incluyen la profilaxis y el tratamiento de las infecciones de boca, la estomatitis, la estomatitis ulcerativa y la gingivitis aguda ulcerativa necrotizante. Los enjuagues de clorhexidina se utilizan también para tratar y prevenir las mucositis en los pacientes tratados con fármacos anticancerosos.

La clorhexidina se incorpora también a una serie de instrumentos médicos, como catéteres intravenosos, vendajes antimicrobianos y implantes dentales. El espectro antibacteriano de la clorhexidina incluye tanto a bacterias Gram-positivas como Gram negativas, algunos virus como el HIV y algunos hongos, pero sólo es esporicida a elevadas

temperaturas. La actividad antiséptica de la clorhexidina es superior a la de la povidona, la espuma de alcohol y el hexaclorofeno.

La clorhexidina es un antiséptico tópico ideal, debido a su persistente actividad sobre la piel con el uso continuo, un efecto muy rápido y una mínima absorción, aunque se han asociado algunas reacciones alérgicas al tratamiento tópico con clorhexidina.

3.1.4.2 MECANISMO DE ACCIÓN:

La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas. Precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular.

En las bacterias Gram-negativas, la clorhexidina afecta la membrana exterior permitiendo la liberación de las enzimas periplasmáticas. La membrana interna de estos microorganismos no es destruida, pero sí que es impedida la absorción de pequeñas moléculas. A bajas concentraciones,

la clorhexidina exhibe un efecto bacteriostático, mientras que a altas concentraciones es bactericida. Los siguientes microorganismos muestran una alta susceptibilidad a la clorhexidina: *Streptococos*, *estafilococos*, *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, *salmonellas*, y bacterias anaeróbicas. Las cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* y cocos gram-negativos muestran una baja susceptibilidad a la clorhexidina.

Los estudios clínicos han demostrado que no hay un aumento significativo de la resistencia bacteriana ni desarrollo de infecciones oportunistas durante el tratamiento a largo plazo con clorhexidina.

3.1.4.3. REACCIONES ADVERSAS

Los enjuagues orales de clorhexidina pueden ocasionar pigmentación de los dientes y tinción del dorso de la lengua.

La coloración puede observarse a partir de la primera semana del tratamiento.

Después de seis meses de tratamiento regular con clorhexidina, aproximadamente el 50% de los pacientes muestran una apreciable coloración de la superficie de los dientes, siendo esta más pronunciadas en los pacientes con mayor cantidad de placa.

Los pacientes tratados con enjuagues orales de clorhexidina pueden experimentar alteraciones del gusto.

Este efecto disminuye con el tiempo y desaparece completamente una vez que se discontinúa el tratamiento.

Se ha comunicado un aumento de la formación de placa dental con el uso de la clorhexidina, por lo que se recomienda la eliminación de los depósitos de esta, al menos una vez cada seis meses. Se desconoce si el uso de la clorhexidina aumenta la formación de placa subgingival.

Infografía

11. <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c090.htm>

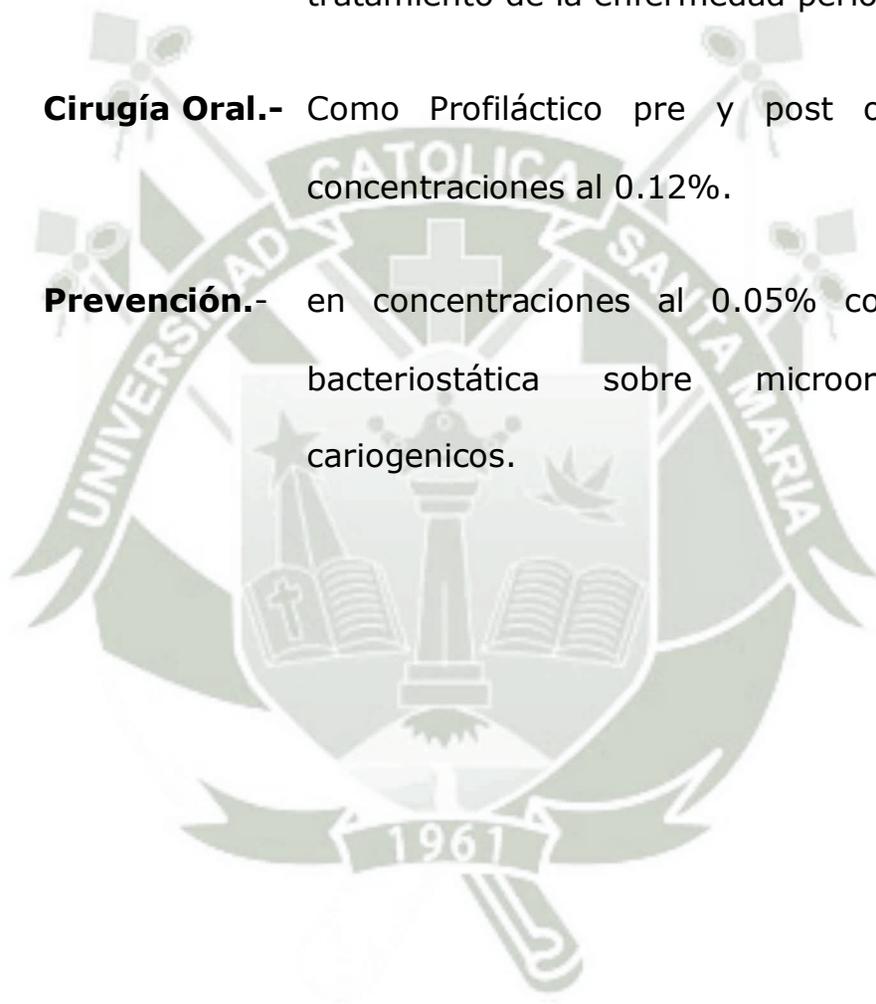
3.1.4.4. USO EN ODONTOLOGÍA

Endodoncia.- En concentraciones al 2% es indicado para tratamientos de conducto.

Periodoncia.- En concentraciones de 0.12% indicado para tratamiento de la enfermedad periodontal.

Cirugía Oral.- Como Profiláctico pre y post operatorio concentraciones al 0.12%.

Prevención.- en concentraciones al 0.05% con acción bacteriostática sobre microorganismos cariogenicos.



3.1.5. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS:

3.1.5.1. ANTECEDENTES LOCALES

3.1.5.1.1 Estudio Comparativo In Vitro Del Efecto Bactericida Entre La Caesalpinia Spinosa (Tara) Y El Propóleo En Anaerobios Facultativos De La Microflora De La Placa Supragingival De Pacientes De 8 A 12 Años De Edad De La I.E. 40185 Del Distrito De Paucarpata; Arequipa 2007.

Autor: Macedo Salas Rafael Elías

Lugar: Universidad Católica de Santa María, facultad de odontología Arequipa, Perú 2007.

Resumen:

En la presente investigación lo que se desea dar a conocer son los efectos que tiene la Caesalpinia Spinosa (tara) y el Propóleo sobre los anaerobios facultativos de la microflora de la placa supragingival.

El Propóleo y la Tara aplicada sobre las muestras microbiológicas recolectadas a partir de la placa

supragingival, las cuales fueron sembradas en agar Mueller Hinton se comporta como bactericidas.

Las dos sustancias antibacterianas dieron resultados positivos, pero el que dio mejores resultados fue el Propóleo, ya que dentro de su composición química posee la Galangina, que es un potente antibacteriano ya las vez nos proporciona unos halos de inhibición superiores a los de la Caesalpinia Spinosa.

3.1.5.1.2 ANTECEDENTES NACIONALES

3.1.5.1.2.1. Actividad antibacteriana in vitro del extracto de Propóleo sobre Streptococcus Mutans y Lactobacillus Casei UNSM Lima - Perú, 2007

Autor: MARLY EGUIZÁBAL, HILDA MORONI NAKATA

Lugar: Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, 2007.

Resumen:

Para determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano (EEPP) proveniente del Valle de Oxapampa (Pasco); mediante el método de difusión en Placa se usó las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Lactobacillus casei* ATCC 393, para enfrentarlas a las soluciones: 0,8, 20 y 30 % v/v del EEPP, y compararlas a los testigos Clorhexidina 0,12 % y alcohol 70 %. Se determinó que la acción antibacteriana del EEPP contra *S. mutans* muestra una mayor tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, que en el caso del *L. casei*; tal acción antibacteriana en las concentraciones 0,8, 20 y 30 % es significativa en comparación al testigo negativo; así mismo la acción contra *S. mutans* es mayor que en *L. casei*; siendo significativas en las concentraciones de 0,8 y 20 %; y también la acción antibacteriana del EEPP al 0,8 % es mayor que la acción de la Clorhexidina, tanto para *S. mutans* y *L. casei*. Se concluye que EEPP en solución al 0,8 % tiene una mejor acción antibacteriana contra *S. mutans* y *L. casei* que la Clorhexidina al 0,12 %.

3.1.5.3 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

3.1.5.3.1 Actividad Biocida De Un Própolis Chileno Frente A Porphyromonas Gingivales Estudio In Vitro

Universidad de Chile, Santiago de Chile 2006

Facultad de Odontología

Autor: Dr. Pablo Ignacio Del rio Martínez

Resumen:

El Propóleo es un producto natural fabricado por la abeja *Apis mellífera* con variadas propiedades medicinales, entre ellas la antimicrobiana. Dichas propiedades dependen del origen botánico que utilizó *Apis mellífera* para su fabricación.

En el presente estudio se investigó la actividad biocida in vitro del propolis chileno *Apiherbal*®, frente a 35 aislados de *P.gingivalis* provenientes de pacientes chilenos con periodontitis, mediante la técnica de dilución en agar. Se obtuvo un valor de CMI de 83,2mg/ml, como necesario para inhibir el desarrollo del 75% de los aislados probados.

El análisis del origen botánico del propolis permitió determinar un origen mixto, dentro del cual no se detectó la presencia del género *Populus*.

Se sugiere que la CMI más alta determinada para este propolis, en comparación con otros, se puede deber a su composición química, a las características morfológicas y fisiológicas de *P.gingivalis*, y a diferencias en las metodologías utilizadas en la determinación de la concentración inhibitoria mínima.

3.1.5.3.2. EFECTO ANTICARIÉS DEL PROPÓLEO

Autor: Karla Dorantes Camacho

Lugar: Universidad Nacional Autónoma de México UNAM
Facultad de Odontología Iztacala 2007

Resumen:

Las propiedades que tiene el Propóleo ante la caries dental.

Al saber que la caries dental es la enfermedad bucal más frecuente en México, es un gran reto, el proponer una nueva alternativa natural para la prevención del desarrollo de la caries.

Las propiedades encontradas de los componentes del Propóleo (compuestos fenólicos y los flavonoides) nos dan una gran visión de las propiedades curativas a las que se les puede atribuir al uso del Propóleo.

Cabe destacar que el uso del Propóleo se ha dado más para las enfermedades de las vías respiratorias y no han sido adquiridos para combatir otro tipo de enfermedad.

Esta alternativa que es el uso de Propóleo, se da por varios objetivos, como puede ser, el acceso que las personas puedan tener hacia el ya que es relativamente económico, un producto totalmente natural que desde varios años ha sido aceptada en el ámbito de la medicina y reconociendo también la aceptación por parte de la población.

4.- HIPÓTESIS:

Dado que entre los componentes del Propóleo se encuentra flavonoides que presentan actividad antibacteriana.

Es probable que el extracto etanólico de Propóleo Peruano sea efectivo para inhibir el crecimiento del *Streptococcus Mutans*.



CAPÍTULO II

A large, faint watermark of the Universidad Católica de Santa María logo is centered on the page. The logo features a shield with a cross, a book, and a lamp, surrounded by a banner with the text 'UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA' and the year '1961' at the bottom.

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1.- TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1.- TÉCNICA

Se Realizó mediante la Observación laboratorial microbiológica.



VARIABLES INVESTIGATIVAS	INDICADORES	SUB INDICADORES	TÉCNICA	INSTRU- MENTO
Extracto Etanólico de Propóleo Var. Ind.	Niveles de Concentración	Porcentaje de concentración		
<i>Streptococcus Mutans</i> Var. Dep.	Concentración Mínima Inhibitoria	inhibición del crecimiento bacteriano	Observación Directa Cultivos y Método de Diluciones	Ficha de Registro Operacional
	Concentración Mínima Bacteriostática	Muerte Bacteriana		
	Halo Inhibitorio	Susceptible		
Intermedio				
Resistente				

1.2.- INSTRUMENTOS

1.2.1.- Instrumento Documental:

Ficha de Observación experimental para obtener los diámetros de los halos de inhibición.

1.3.- MATERIALES Y MÉTODO

1.3.1.- Material Biológico:

- Extracto de Propóleo (Extracto etanólico de Propóleo)
- Cepas de Streptococcus Mutans ATCC 35668

1.3.2.- Material de Estudio:

- Extracto etanólico de Propóleo

1.3.3.- Material de Laboratorio:

Material de vidrio:

- Balones
- Embudos
- Matraces
- Placas Petri
- Probetas

- Probetas graduadas
- Tubos de Ensayo Graduados
- Vasos precipitados

Equipo de laboratorio:

- Autoclave
- Balanza milimétrica
- Estufa
- mechero
- Refrigerador

Otros:

- Agua destilada
- Algodón
- Barbijos
- Guantes
- Cámara fotográfica Panasonic Linux 10 megapixeles
- Discos de papel
- Gasas
- Hisopos estériles
- Jeringas descartables
- Micro pipetas

- Puntas amarillas y azules para micro pipetas
- Trípode
- Pinzas de metal

1.3.4.- Medios de Cultivo:

- Brain Heart Infusión (infusión cerebro Corazón) BHI
- Agar Mueller Hinton MH
- Agar Mitis Salivarius SMA

1.4.- TÉCNICA

1.4.1.- ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO

El Propóleo fue adquirido en la Apícola Misti Flor® ubicada en la calle Rivero 641 Cercado Arequipa Perú.
www.mistiflor.com

El mismo fue transportado hasta las instalaciones de las laboratoriales de UCSM. Donde se procedió a su respectiva elaboración. Siguiendo las indicaciones descritas por Prost ⁸

Bibliografía

8. PROST. JEAN P.: Conocimiento de la Abeja, Manejo de la Colmena y su Productos Derivados. 4ta edición Madrid; Mundi Prensa 2007

Una vez en laboratorio se produjo la molienda del propóleo seguido por el tamizado del mismo para eliminar impurezas

Se realizó el pesaje de 50 gr de propóleo una vez ya tamizado y se extrae con alcohol al 30% añadiéndose 100 ml del mismo donde se produce una proporción de 2 a 1. 50_{gr}/100_{ml} relación P/V

Se dejó macerar por 7 días a una temperatura de 37°C, pasados los 7 días de maceración la solución madre obtenida se filtra con papel de pasaje lento, obteniéndose una pasta melosa (la llamada jalea de propóleo) que también se le atribuye propiedades medicinales pero esta no es el objeto del estudio. La solución obtenida de color café oscuro es el llamado extracto etanólico de propóleo, esta se lleva a refrigeración entre 4 y 8 °C, hasta su utilización.

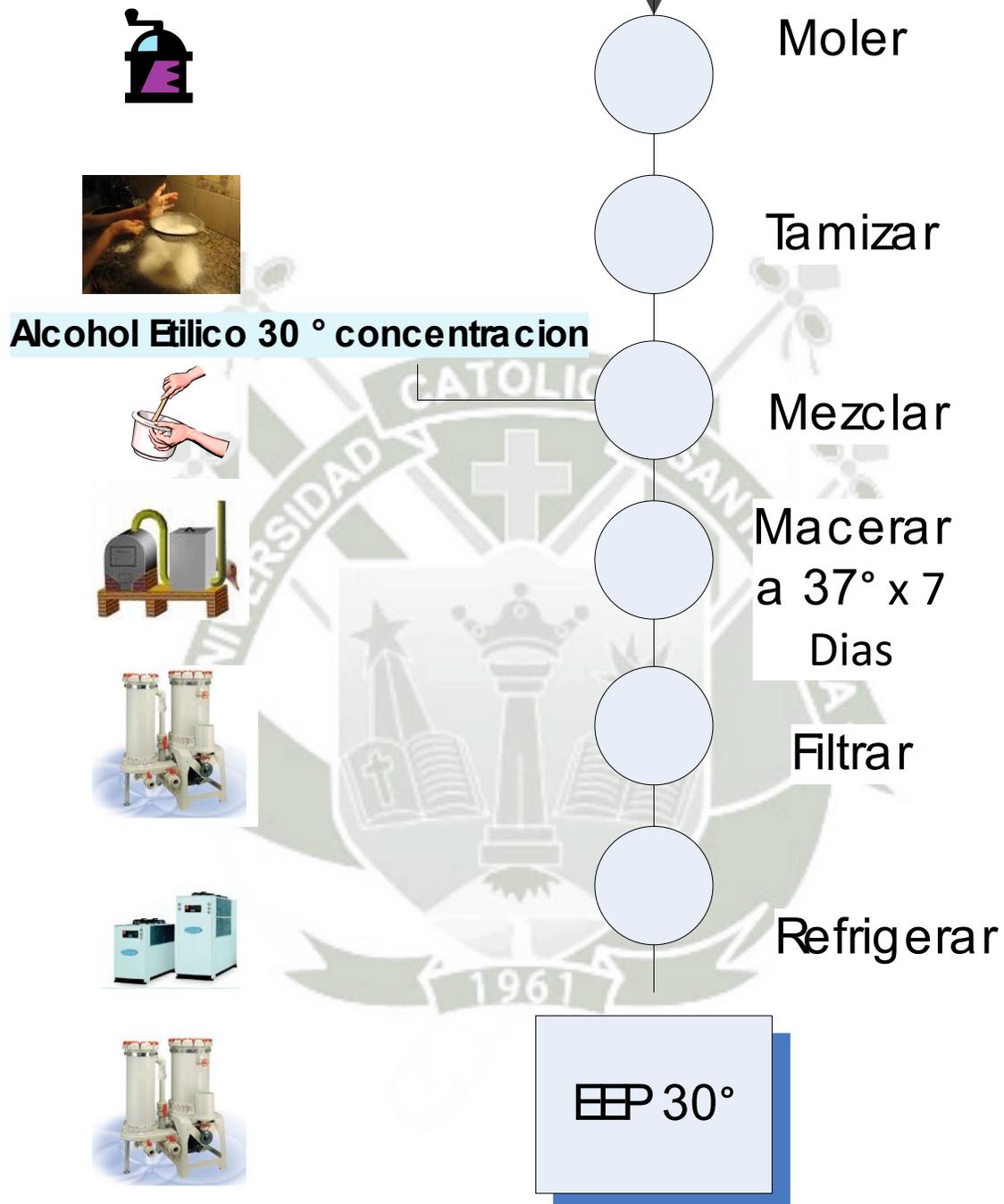
La concentración utilizada como solución madre a lo igual que el método de elaboración fue realizado según lo indicado por Prost en su manual titulado: Conocimiento de la Abeja, Manejo de la Colmena y sus Productos Derivados.

Se escogió esta bibliografía ya que está dirigida a procesos de industrialización de los productos derivados de la industria apícola. Que tiene fines comerciales, la

catalogación del extracto etanólico de propóleo está dentro del rubro de bebidas y alimentos y no dentro de la industria farmacéutica.



PROPOLEO



(FUENTE PROPIA)

1.4.1.- RECONSTITUCIÓN DE LAS CEPAS ATCC 35668 STREPTOCOCCUS MUTANS EN CONDICIONES AEROBICAS

Se colocaron 10 ml. De BHI en dos tubos de ensayo previamente esterilizados.

En estos tubos se introdujeron los cristales liofilizados contenidos en el vial ATCC 35668 (American Type Culture Collection, U.S.A. 35668) en condiciones estériles y se llevo a la incubadora por 24 horas a 37°C.

Al cabo de 24 horas se realizara una replicación en 3 placas Petri que contenían agar Mitis Salivarius llevándose a incubar a 37°C por 48 horas más.

Observación del crecimiento de colonias de *S. Mutans* ATCC 35668 en Agar Mitis Salivarius 48 Horas de incubación.

1.5.- PRUEBA DE SENSIBILIDAD BACTERIANA

A.- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA.

- Método:

Dilución en caldo

- Fundamento:

Se basa en la sensibilidad del microorganismo y la exposición de una serie de diluciones del agente antimicrobiano después de lo cual se determina la concentración de la droga que inhibe el crecimiento mediante inspección visual.

Se tomaron colonias de un cultivo en placas Agar Mitis Salivarius con un hisopo estéril y se transfirió el crecimiento a un tubo de caldo que contenía 10 ml de BHI.

Se ajusto el inóculo al 0.5 de la escala de turbidez de Mc Farland que equivale a un concentración de 10^8 UFC/ml

Se realizó diluciones decrecientes del extracto de etanólico de propóleo de 100%, 90%, 80%, 70% hasta llegar al 10% en tubo de ensayo con caldo BHI

Se agregó 20_{ul} del inóculo de Streptococcus Mutans con una micropipeta a cada tubo de ensayo que contenía 1_{ml} de EEPP en sus diferentes concentraciones.

En un total de 20 tubos de ensayo debidamente esterilizados y rotulados.

Estos se llevan a incubación por 24 horas a 37°C.

Al término de este tiempo se procede a valorar el crecimiento del microorganismo, realiza la inspección visual de los tubos para determinar su grado de turbidez.

B.- DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA (CMB)

- **Método:** siembra de dilución de caldo en agar
- **Fundamento:**

El objetivo es determinar la concentración más baja de la sustancia en investigación que produce la muerte 99.9% de las bacterias estudiadas.

- Se observa el crecimiento bacteriano.

Los resultados obtenidos en la prueba de la dilución en caldo son llevados a placas petri con agar Mitis Salivarius (medio selectivo), los resultados de los 20 tubos de ensayo se siembran por estría simple, y se observa el crecimiento bacteriano. En este caso, se produjo el mínimo de crecimiento en la siembra numero 4, perteneciente al tubo 4 y al tubo 4' determinándose así que la CMI es el tubo 4 (dilución de 40% de EEPP) y en la siembra 5 del tubo 5 y 5' se produjo la eliminación del 99.9% de las bacterias en estudio (dilución de 50% de EEPP) determinándose de esta forma la CMB.

1.6.- DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR MEDIO DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

- **MÉTODO: Difusión con discos (Bauer Kirby)**

- **FUNDAMENTO:**

Los resultados obtenidos en la CMI y La CMB son básicos para la elaboración de esta prueba.

Las diferentes diluciones de la solución madre de propóleo que demostraron efectividad en la inhibición de crecimiento bacteriano son las evaluadas con este método en conjunto con el antibacteriano testigo de control Clorhexidina al 0.05%.

Se realizan inoculando la superficie de la placa de agar Mueller Hinton con el microorganismo en estudio, una vez inoculado el microorganismo de estudio *S. Mutans*, se colocan discos impregnados con las solución del EEPP en sus diferentes concentraciones, sobre el mismo.

Los agentes antibacterianos difunden el medio en forma radial alrededor del disco e inhiben el desarrollo bacteriano en la zona donde su concentración es suficientemente alta.

A medida que aumenta la distancia al disco hay una reducción logarítmica de la concentración de la sustancia hasta alcanzar un punto en que el desarrollo microbiano en la superficie del agar, ya no es inhibido.

La actividad de la sustancia se evaluó midiendo en milímetros el halo formado.

En este caso se evaluó la formación de halos a las 24, 48 y 72 horas de incubación.

- **Clorhexidina**

En el caso de la clorhexidina se siguió los mismos pasos en los cuales se impregno discos con el antibacteriano y se colocó junto a los discos embebidos con EEPP (en las mismas Placas) a manera de reloj siendo el centro de la placa el disco con clorhexidina, esta técnica se realiza con la finalidad de que ambos antibacterianos compitan en la mismas igualdad de condiciones en lo que respecta a concentración de UFC, Temperatura, Humedad, y medio nutritivo de microorganismos.

2.- CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1.- UBICACIÓN ESPACIAL

La investigación se llevo a cabo en la ciudad de Arequipa en las instalaciones del laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Santa María, H 403.

- **Ámbito general:** Arequipa
- **Ámbito específico:** Laboratorio de microbiología de la Universidad Católica de Santa María, H 403

2.2.- UBICACIÓN TEMPORAL

La investigación corresponde al año 2009.

Asume una visión prospectiva Longitudinal.

Prospectiva: dado que el tipo de dato es primario y recoge la información a medida que van ocurriendo los hechos, (investigaciones laboratoriales).

Longitudinal: ya que las variables de estudio han sido observadas en distintas etapas a lo largo de un tiempo determinado

2.3.- UNIDADES DE ESTUDIO

La alternativa que fue adoptada es la de Grupos

- **Unidad De Análisis**

Cepas de *Streptococcus Mutans* bacteria Gram positiva, (cepas ATCC 35668)

Unidad de estudio: Cepa ATCC (American Type Culture Collection, U.S.A. 35668)

- a.- **Identificación de los grupos:**

- **Grupo experimental:** está representado por el *Streptococcus Mutans* bajo la influencia de extracto etanólico de Propóleo.
- **Grupo Control:** Esta representado por *Streptococcus Mutans* bajo la influencia de la Clorhexidina al 0.05% (Perio Aid® mantenimiento).

b.- Control de los Grupos:

Constituido por las UFC de *Streptococcus Mutans*.

c.- Cuantificación de las Muestras:

• **Tamaño del Grupo de estudio**

30 muestras

• **Tipo De Muestreo**

El método de selección ha sido muestreos sesgados o no probalísticos.

d.- Criterios de Inclusión y Exclusión

Por tratarse de un estudio in Vitro de una Cepa única no se consideran criterios de inclusión y Exclusión.

3.- ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN

3.1.- ORGANIZACIÓN

- Procedimientos laboratoriales

A.- Solicitud de autorización para el uso de laboratorio de microbiología de la UCSM.

B.- Envío de solicitud a los laboratorios GEN LAB DEL PERU® para la compra de las cepas del microorganismo a estudiar ATCC.

C.- Elaboración del Extracto de Propóleo, (Extracto etanólico de Propóleo).

D.- Ejecución del estudio laboratorial.

3.2.-

RECURSOS

A.- Recursos Humanos

Investigador : Joseph Talavera Rubín

Asesor : Dra. Ruth Álvarez Monge

Asesor Estadístico : Dr. Ebingen Villavicencio Caparó

B.- Recursos Físicos:

- Laboratorios de microbiología de la UCSM
- Biblioteca de la UCSM
- Internet

C.- Recursos económicos

- Autofinanciados

D.- Recursos Institucionales

- Universidad Católica de Santa María

3.3.- VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

La validación del instrumento del presente proyecto se realizó a través de una prueba piloto en tres unidades de estudio para determinar los elementos de rigor y garantizar la validez y confiabilidad del instrumento así como de los datos que se recogieron.

4.- ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1.- A NIVEL DE SISTEMATIZACION

- **Clasificación**

El tipo de matriz de ordenamiento es de registro y control manual, considerando el carácter experimental de la investigación.

- **Codificación**

No se utilizó codificación de la información considerando que será necesario solamente el recurso computarizado.

- **Conteo**

Una vez que se obtuvo la muestra así como la ficha de laboratorio, los datos fueron ordenados en una matriz de sistematización Excel.

- **Recuento:**

Los datos clasificados han sido contabilizados empleando matrices de conteo digital Excel.

- **Tabulación:**

Se utilizó cuadros de distribución de frecuencias de una variable, con cifras absolutas, relativas y cuadros de doble entrada.

- **Graficación:**

Debido a que las Variables son de naturaleza Cuantitativa Continua y a fin de que las graficas

expresen claramente toda la información contenida en los cuadros el tipo de gráficos que se utilizó es el “diagrama de Tukey” e “Histograma para variables cuantitativas”.

El “diagrama de Tukey” no apunta a mostrar la frecuencia, si no a dar datos informativos del promedio (centro de la caja), valor mínimo percentil 25 (extremo inferior de la caja) y percentil 75 (extremo superior de la caja)

- **Análisis Estadístico de datos:**

Se empleó un análisis cuantitativo continuo univariado y bivariado.

Para las respectivas interpretaciones se utilizó la estadística descriptiva indicando las medidas estadísticas de centralización, de dispersión, medidas de posición, medidas de forma.

Para el análisis de la información, se sometió a un Análisis de Varianza de una vía de clasificación.

Se ejecuto una prueba estadística de comparación de dos medidas muestrales recurriendo al estadístico de **“T de Student”**

Se realizo la prueba **“ANOVA”** para comparar los dos grupos de datos cuantitativos a la vez.

Para la prueba de correlación de las variables se recurrió a la prueba estadística de **“R² de Pearson”**.

1) La T de Student: ²⁹

La lógica de funcionamiento de esta prueba estadística es comparar dos grupos de datos cuantitativos. Sabemos que el promedio de la media estadística que representa a cada grupo, precisamente por ese motivo la prueba T compara los promedios de ambos grupos.

- **Lectura e interpretación del resultado de la T de Student.**

Realizados los cálculos en computadora, los paquetes estadísticos brindan el resultado en términos de probabilidad es decir en valores desde

0 a 1. Es decir cualquier valor positivo menor o igual a 1.00, a este valor se le llama valor SIG o valor p , que es el valor que se debe leer para interpretar el resultado de la prueba.

H°: ambos grupos presentan un promedio similar con respecto a la variable

Ha: los grupos presentan diferencia en sus promedios respecto a la variable.

Si el valor p es igual o mayor a 0.05, significa que los promedios de ambos grupos son iguales.

Si el valor p es menor a 0.05 concluimos que los grupos son diferentes de manera estadísticamente significativa.

2) La prueba ANOVA²⁹

La lógica del funcionamiento de la prueba ANOVA es comparar más de dos grupos de datos cuantitativos a la vez; o sea el promedio de la medida estadística que representa a cada grupo.

○ **Lectura e interpretación de resultado**

Realizados los cálculos de los paquetes estadísticos, se brinda los resultados en términos de probabilidad es decir de 0 a 1 de, cualquier valor positivo o igual a 1.00 se le llama valor SIG o valor p.

H°: El promedio del grupo 1 es igual al promedio del grupo2, grupo3 y grupo 4.

Ha: El promedio de los grupos 1;2;3;4 son diferentes estadísticamente.

Si la respuesta del paquete estadístico es 0.05 o mayor operativamente tomamos la H° como cierta

Si la respuesta es 0.049 o menor operativamente tomamos la Ha como cierta

3) La prueba de Correlación R^2 de Pearson²⁹

En cuanto a la comprobación de la Fuerza de Asociación entre dos variables cuantitativas, la prueba que las correlaciona, es la R^2 de Pearson.

El valor R^2 de se interpreta de acuerdo a la siguiente tabla:

De 0.01 a 0.20	Correlación MUY DEBIL
De 0.21 a 0.40	Correlación DÉBIL
De 0.41 a 0.70	Correlación MODERADA
De 0.71 a 0.90	Correlación FUERTE
De 0.91 a 1.00	Correlación MUY FUERTE

Donde:

$$R^2 = \frac{s_{XY}^2}{s_X^2 s_Y^2}$$

Donde S^2 es la varianza de los valores de X e Y

S^2_X = varianza de X

S^2_Y = varianza de Y

Hemerografía

29. Manejo del resultado de la tesis de Post grado Dr. Ebingen Villavicencio Caparó

4.2.- A NIVEL DE ESTUDIO DE LOS DATOS

1) Tratamiento estadístico

VARIABLE INVESTIGATIVA	TIPO ESTADÍSTICA	ESCALA DE MEDICIÓN	ESTADÍSTICA DESCRITIVA	PRUEBAS ESTADÍSTICAS
<i>Streptococcus Mutans</i>	Cuantitativa Continua	Nominal	Fx% Frecuencia=Fx Porcentaje %	T de Student ANOVA R ² Pearson

2) Metodología de la interpretación

Se apelo a:

- Jerarquización de datos
- Comparación de los datos entre sí y con proposiciones del marco teórico
- Una apreciación critica
- Se explica técnicamente las tendencias.

3) Modalidades interpretativas

Se opto por una interpretación subsiguiente a cada cuadro y una discusión global de los datos contrastando con el marco teórico y otras investigaciones con la finalidad de verificar nuestros resultados con los publicados en las diferentes literaturas.

4) Operaciones interpretativas

Estas han sido formuladas en respuesta a las interrogantes básicas, objetivos del plan de investigación utilizando la estadística descriptiva indicando las medidas de tendencia central y de dispersión.

4.3.- A NIVEL DE CONCLUSIONES

Las conclusiones han sido formuladas por indicadores respondiendo a las interrogantes básicas, objetivos e hipótesis del plan de investigación.

4.4.- A NIVEL DE RECOMENDACIONES

Estas han sido formuladas a manera de simples sugerencias, las cuales se orientaron básicamente al ejercicio de la profesión y a enriquecer la línea investigativa así como la solución de problemas en pacientes, estudiantes y gremio odontológico.

CAPÍTULO III



Tab1a1

Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I.) del *S. Mutans* mediante dilución en caldo. Frente al EEPP.

MUESTRA	DILUCIÓN	BHI + EXTRACTO	SUSP. 10 ⁸ UFC /ML	CANTIDAD FINAL	S. MUTANS
Tubo 1	10%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 2	20%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 3	30%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 4	40%	0.5ml	0.5 ml	1ml	(+ -)
Tubo 5	50%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 6	60%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 7	70%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 8	80%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 9	90%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 10	100%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 1'	10%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 2'	20%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 3'	30%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 4'	40%	0.5ml	0.5 ml	1ml	+
Tubo 5'	50%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 6'	60%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 7'	70%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 8'	80%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 9'	90%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-
Tubo 10'	100%	0.5ml	0.5 ml	1ml	-

Fuente (propia)

Se observa un desarrollo bacteriano a diferentes % de concentraciones del extracto en un medio cultivo único (B.H.I.) y a una suspensión bacteriana 10⁸ UFC /ML, en una cantidad de 1 ml

También se muestra que entre las concentraciones de 40% (tubo 4) a concentraciones menores (tubo 3, 2, 1) se presentó crecimiento del *S. Mutans* el cual fue evidenciado por la turbidez del caldo de cultivo.

Tabla 2

Concentración Bactericida Mínima (C.M.B.) del *S. Mutans* mediante dilución en agar (Medio Mitis Salivarius)

MUESTRA	DILUCIÓN	UFC
Placa 1	40%	+
Placa 2	50%	-
Placa 3	60%	-
Placa 4	70%	-
Placa 5	80%	-
Placa 6	90%	-
Placa 7	100%	-
Placa 1'	40%	+
Placa 2'	50%	-
Placa 3'	60%	-
Placa 4'	70%	-
Placa 5'	80%	-
Placa 6'	90%	-
Placa 7'	100%	-

(Presencia de UFC) +
(Ausencia de UFC) -

Interpretación:

En la tabla numero 2 se observa presencia de (+) o ausencia (-) de unidades formadoras de colonias (UFC) de la bacteria *S. Mutans* a diferentes concentraciones de Extracto Etanólico de Propóleo.

También se muestra que a la concentración del 50% del Extracto E. de Propóleo se produce una disminución en la densidad del crecimiento bacteriano equivalente a la muerte bacteriana, se infiere entonces que ha concentraciones mayores de 50% Extracto E. de Propóleo no se observa presencia de unidades formadoras de colonias de *S. Mutans*.

Diámetros de los halos de inhibición del crecimiento de *S. Mutans* a las 24, 48 y 72 horas según concentraciones de Extracto E. de Propóleo.

Tabla 3

Diámetros de los halo de inhibición del EEPP a las 24hrs

Concentración	Promedio (mm.)	± Desviación estándar (mm.)	Coficiente de Variación C.V.
100%	16.13	0.74	4.5877
90%	15	0.85	5.6666
80%	14.33	0.49	3.4193
70%	13	0.93	7.1538
60%	11.86	1.06	8.9376
50%	10.86	1.13	10.4051
40%	9.73	0.70	7.1942
			6.7663%

Fuente (Propia)

Tabla 4

Diámetros de los halos de inhibición a las 48 hrs.

Concentración	Promedio (mm.)	± Desviación estándar (mm.)	Coficiente de Variación C.V.
100%	16.66	0.92	5.5222
90%	15.6	1.07	6.8589
80%	15.4	1.16	7.5324
70%	14.13	0.64	4.4585
60%	12.73	0.63	4.9489
50%	12	0.51	4.25
40%	10.86	0.82	7.5506
			5.8816%

Fuente (Propia)

Tabla 5

Diámetros de los halos de inhibición del EAPP a las 72 hrs.

Concentración	Promedio (mm.)	± Desviación estándar (mm.)	Coefficiente de Variación C.V.
100%	16.133	0.99	6.1364
90%	15.333	0.62	4.0435
80%	15.133	0.74	4.8899
70%	13.933	0.70	5.0240
60%	12.533	1.30	10.3726
50%	11.666	1.23	10.5434
40%	10.533	1.13	10.7281
			6.6925%

Fuente (Propia)

Interpretación:

En las tablas 3,4,y 5 se muestran los promedios y desviación estándar de los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano a las 24,48 y 72 hrs. Posteriores a la incubación a 37°C, en las diferentes concentraciones del Extracto Etanólico de Propóleo, los que fueron comprobados mediante una prueba estadística de análisis de varianza, en cuanto al coeficiente de variación C.V. (%) se aprecia que la variabilidad originada en el bioensayo es producto del error experimental y no se observa errores respecto a la medición de la variable o alteración de las condiciones del medio de cultivo.

Tabla 6

CLORHEXIDINA Vs. Las diferentes concentraciones de EEP

	CLORHEXIDINA (0.05%)	EEP 400/600 (40%)	EEP 500/500 (50%)	EEP 600/400 (60%)	EEP 700/300 (70%)	EEP 800/200 (80%)	EEP 900/100 (90%)	EEP 100/100 (100%)	ANOVA
	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	valor p
A LAS 24 HORAS	19.53	9.73	10.87	11.87	13.00	14.33	15.00	16.13	0.00
A LAS 48 HORAS	20.93	10.87	12.00	12.73	14.13	15.40	15.60	16.67	0.00
A LAS 72 HORAS	20.93	10.53	11.67	12.53	13.93	15.13	15.33	16.13	0.00

Fuente (propia)

Interpretación:

A las 24, 48 y 72 hrs los grupos de EEP en sus distintas concentraciones, demostraron ser diferentes comparado con la Clorhexidina.

Interpretación: A las 24, 48 y 72 hrs los grupos de EEP en sus distintas concentraciones, demostraron ser diferentes comparado con la Clorhexidina.

Donde vemos que el eje de las Y es la expresión de mm, del halo

y el eje de las X la expresión de las concentraciones de EEP y clorhexidina

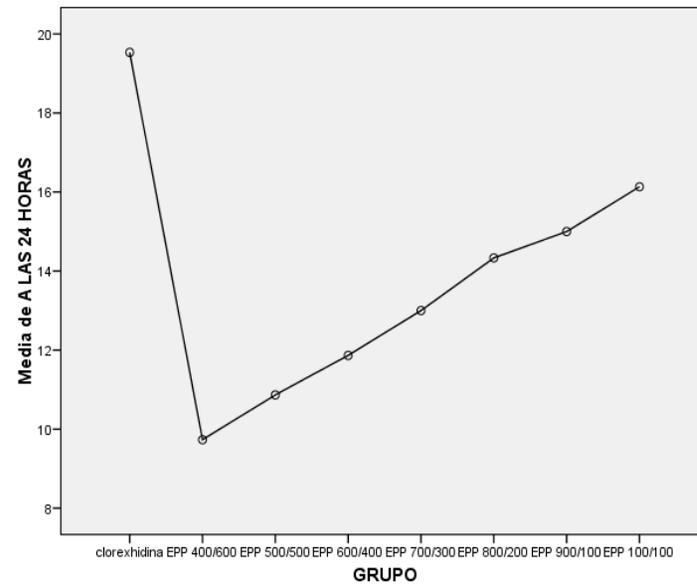
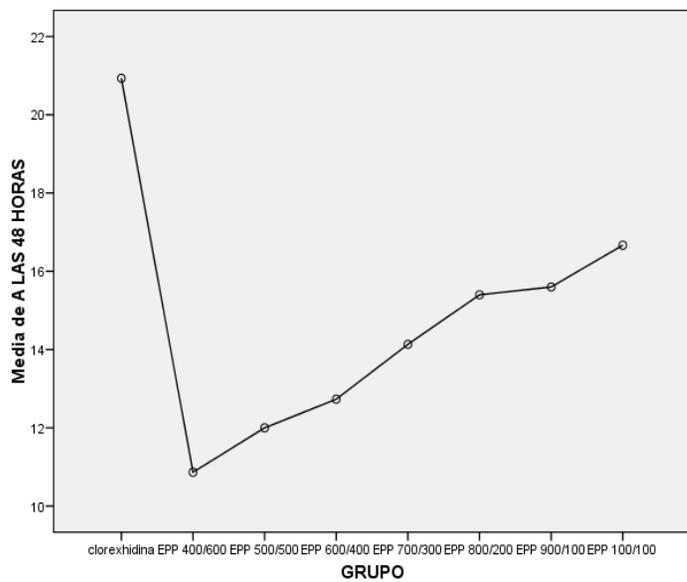
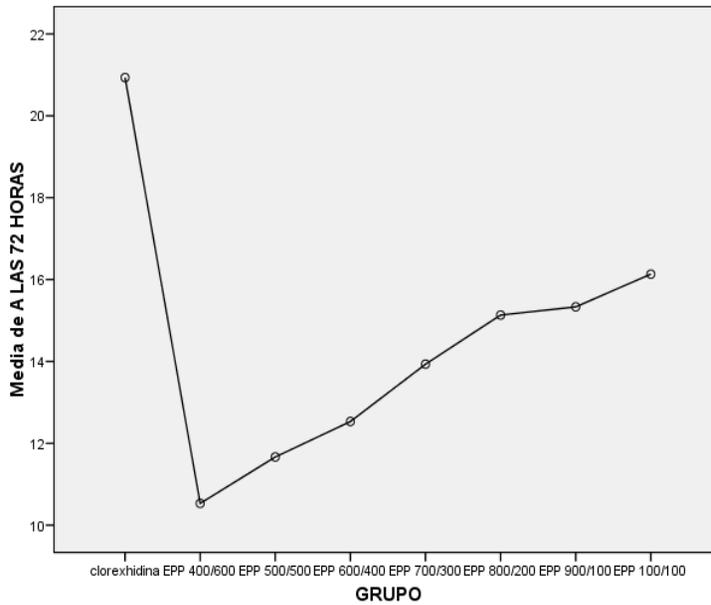


Tabla 7**Comparación T de Student**

Estadísticos de grupo						PUEBA T STUDENT
	GRUPO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	Valor p
A LAS 24 HORAS	CLORHEXIDINA	15.00	19.53	1.25	0.32	0.00000000078
	EPP 100/100	15.00	16.13	0.74	0.19	
A LAS 48 HORAS	CLORHEXIDINA	15.00	20.93	1.83	0.47	0.00000000570
	EPP 100/100	15.00	16.67	0.82	0.21	
A LAS 72 HORAS	CLORHEXIDINA	15.00	20.93	1.83	0.47	0.00000000110
	EPP 100/100	15.00	16.13	0.99	0.26	

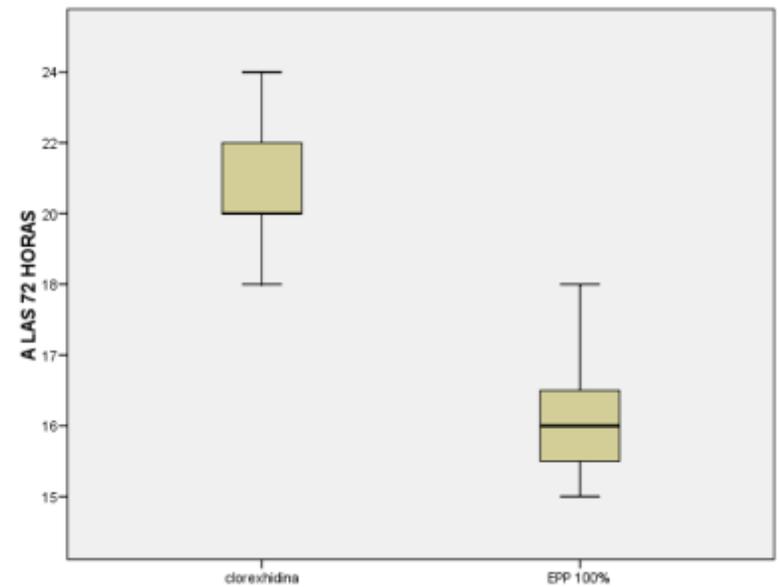
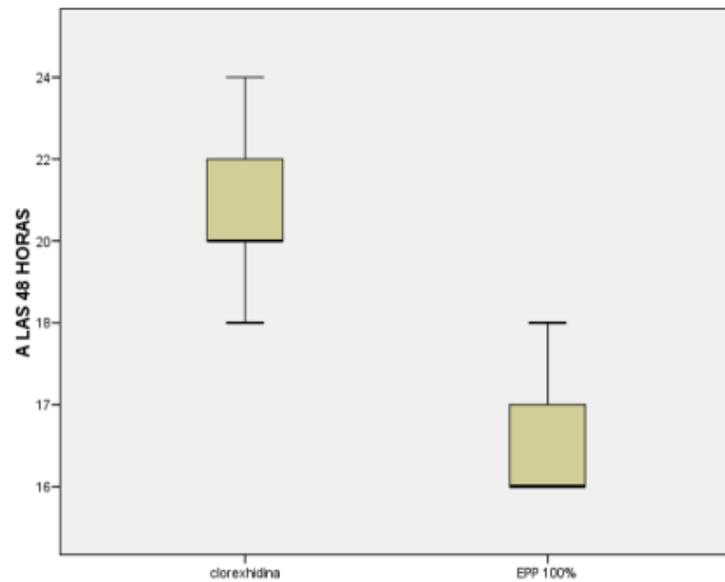
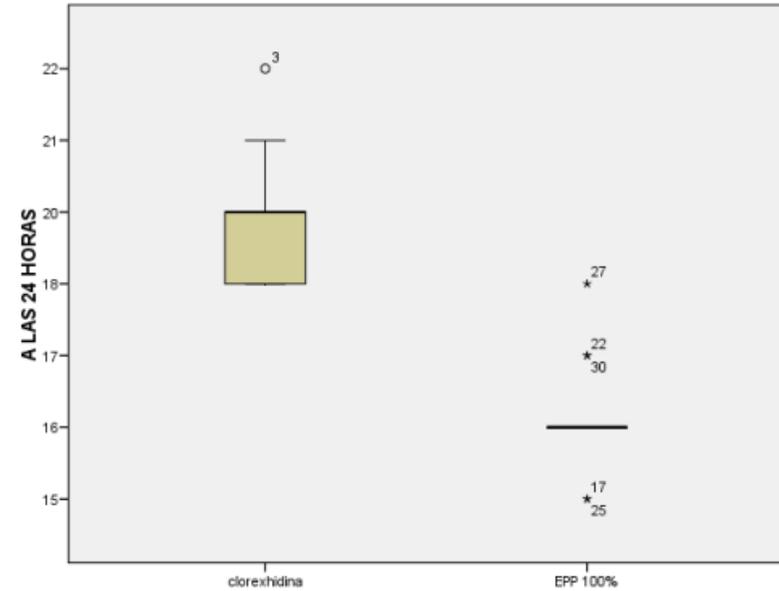
Fuente (propia)

Interpretación:

Tanto el grupo de la CLORHEXIDINA como el grupo del EPP (100%) son diferentes estadísticamente, ambos compitieron en las mismas condiciones, según las lecturas de la media se presenta unos halos inhibitorios distintos entre ambos determinado tanto por el tiempo de incubación como los niveles de susceptibilidad del *S. Mutans*. Encontrando cuales son los valores más altos se evidencia la diferencia entre ambos tanto a las 24,48 y 72 hrs.

Interpretacion:

En los siguientes Diagramas se evidencia la diferencia existente entre el EEP Sol. Madre y la Clorhexidina 0.05%, a las 24, 48 y 72 hrs.



Cuadro 1

Estadísticos del halo inhibitorio del grupo control (CLORHEXIDINA 0.05%)

CLORHEXIDINA (0.05%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		19.53	20.93	20.93
Mediana		20.00	20.00	20.00
Moda		20.00	20.00	20.00
Desv. típ.		1.25	1.83	1.83
Asimetría		0.04	0.76	0.76
Curtosis		-0.59	-0.36	-0.36
Mínimo		18	18	18
Máximo		22	24	24
Percentiles	25	18	20	20
	50	20	20	20
	75	20	22	22

Fuente (propia)

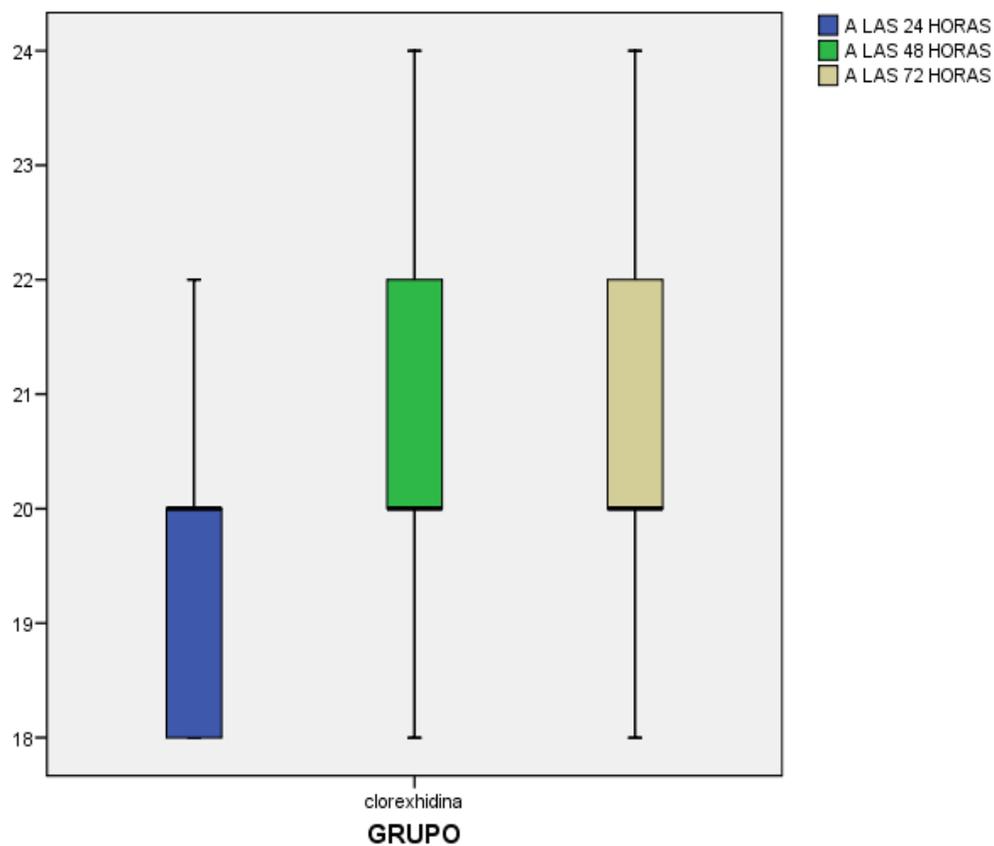
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 19.53mm. hasta 20.00mm. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 20.00mm. a 20.93mm. encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 20.00mm. y 20.93mm., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 1

Estadísticos del halo inhibitorio del grupo control (CLORHEXIDINA 0.05%)



Fuente (propia)



Cuadro 2

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP (400/600)
40%

EEPP 400/600 (40%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		9.73	10.87	10.53
Mediana		10.00	11.00	10.00
Moda		10.00	10.00	10.00
Desv. típ.		0.70	0.92	1.13
Asimetría		-0.99	0.29	-0.27
Curtosis		1.84	-1.86	0.37
Mínimo		8	10	8
Máximo		11	12	12
Percentiles	25	9	10	10
	50	10	11	10
	75	10	12	12

Fuente (propia)

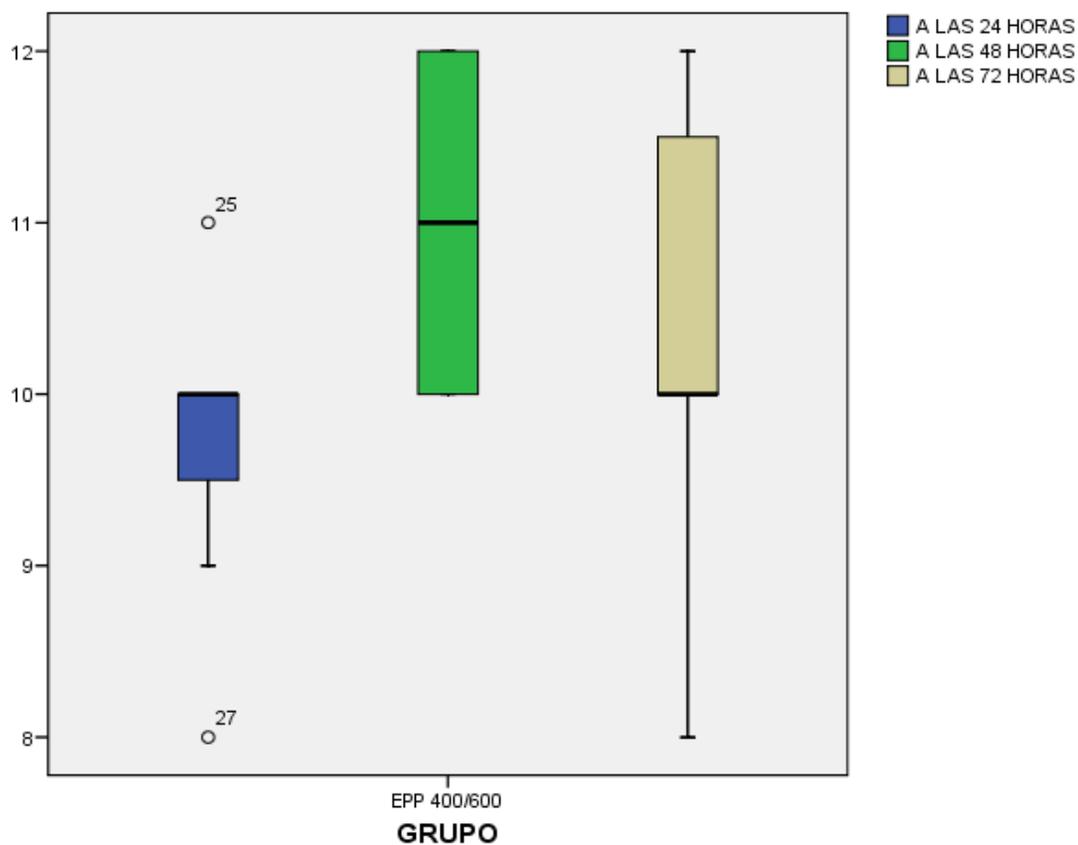
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 9.73_{mm} hasta 10.00_{mm} y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 10.00_{mm} a 11.00_{mm}. encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 10.00_{mm} y 10.53_{mm}., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 2

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEP
(400/600) 40%



Fuente (propia)

Cuadro 3

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(500/500) 50%

EEPP 500/500 (50%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		10.87	12.00	11.67
Mediana		11.00	12.00	11.00
Moda		10.00	12.00	11.00
Desv. típ.		1.13	1.07	1.23
Asimetría		0.30	0.40	0.74
Curtosis		-0.84	0.61	-0.03
Mínimo		9	10	10
Máximo		13	14	14
Percentiles	25	10	11	11
	50	11	12	11
	75	12	12	12

Fuente (propia)

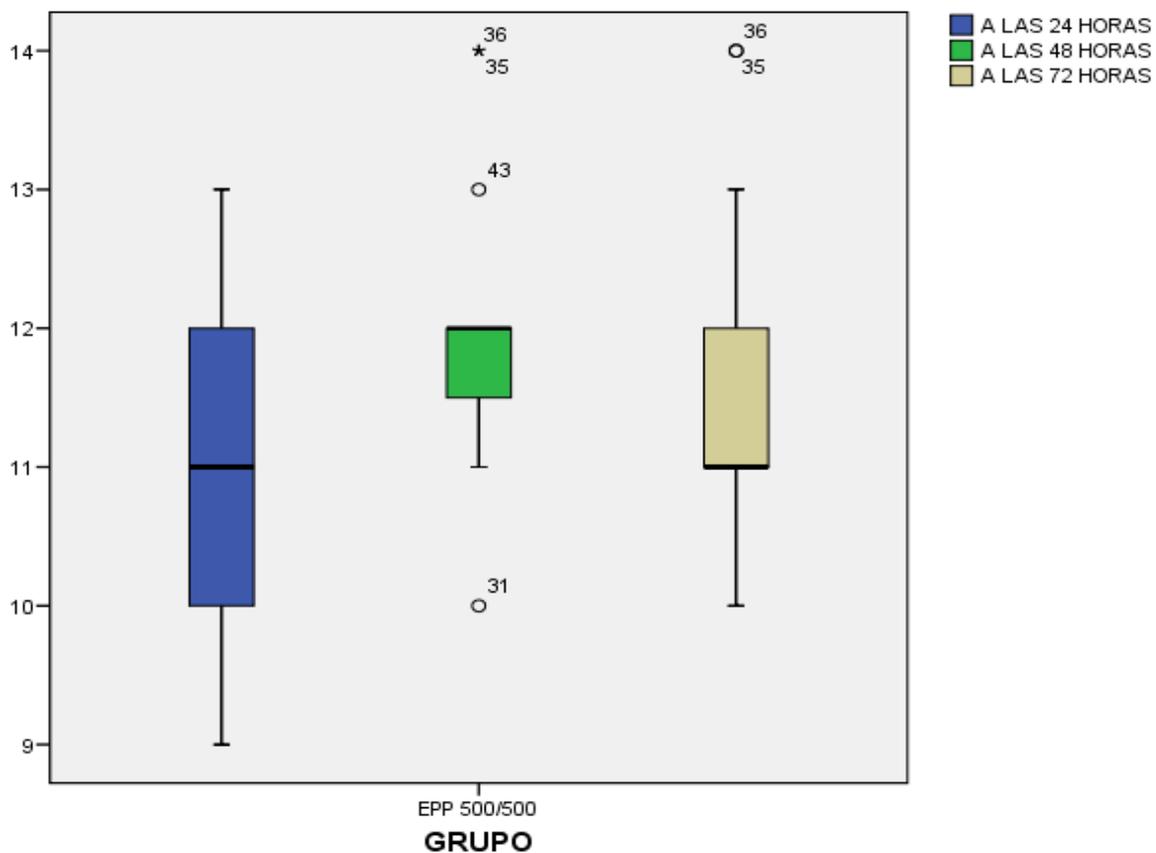
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 10.00mm. hasta 11.00mm. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 12mm., encontrándose en los valores normales, a las 72 hrs., la moda la mediana y la media presentan valores entre 11mm. y 11.67mm., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 3

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEP
(500/500) 50%



Fuente (propia)

Cuadro número 4

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(600/400) 60%

EEPP 600/400 (60%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		11.87	12.73	12.53
Mediana		12.00	13.00	13.00
Moda		12.00	13.00	12.00
Desv. típ.		1.06	1.16	1.30
Asimetría		-0.95	-0.97	-0.76
Curtosis		-0.03	0.80	0.11
Mínimo		10	10	10
Máximo		13	14	14
Percentiles	25	12	12	12
	50	12	13	13
	75	13	14	14

Fuente (propia)

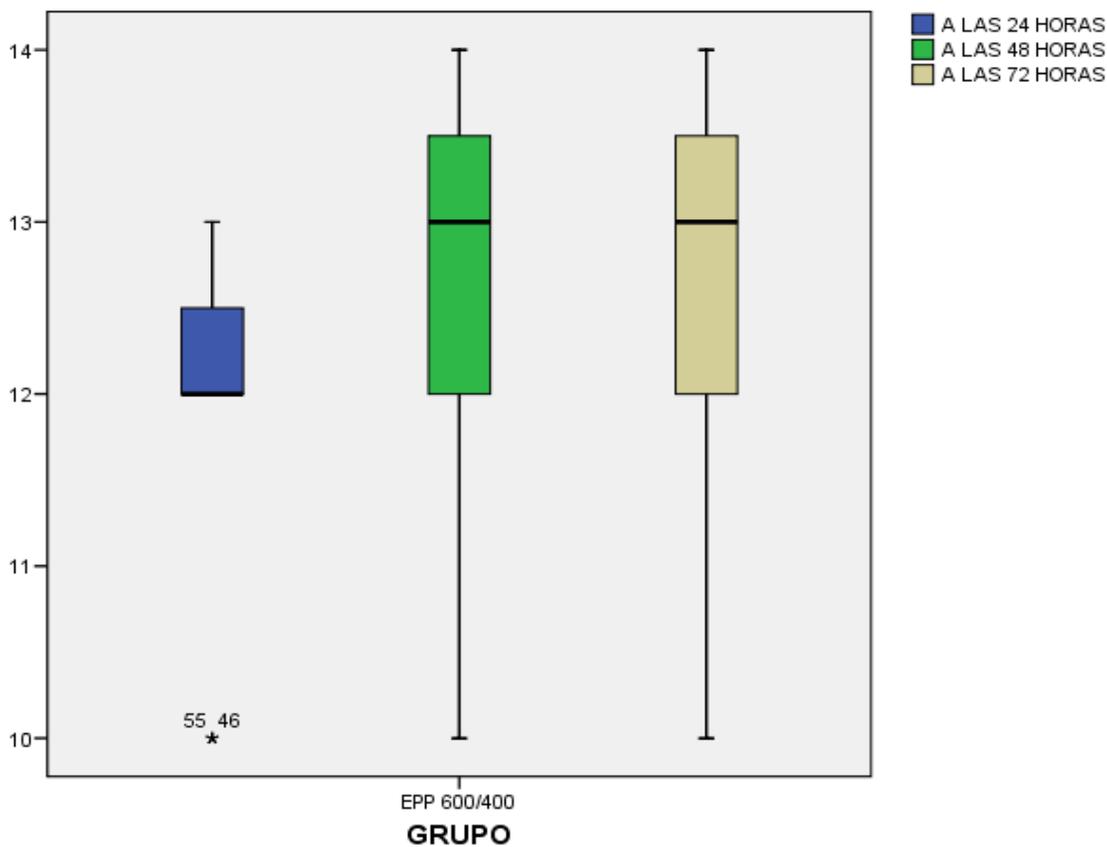
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 11.87_{mm} hasta 12.00_{mm}. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 12.73_{mm} a 13.00_{mm} encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 12.00_{mm}. y 13.00_{mm}., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 4

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EPPP
(600/400) 60%



Fuente (propia)



Cuadro 5

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(700/300) 70%

EEPP 700/300 (70%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		13.00	14.13	13.93
Mediana		13.00	14.00	14.00
Moda		12.00	14.00	14.00
Desv. típ.		0.93	0.64	0.70
Asimetría		0.00	-0.10	0.09
Curtosis		-1.97	-0.13	-0.67
Mínimo		12	13	13
Máximo		14	15	15
Percentiles	25	12	14	13
	50	13	14	14
	75	14	15	14
a	Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.			

Fuente (propia)

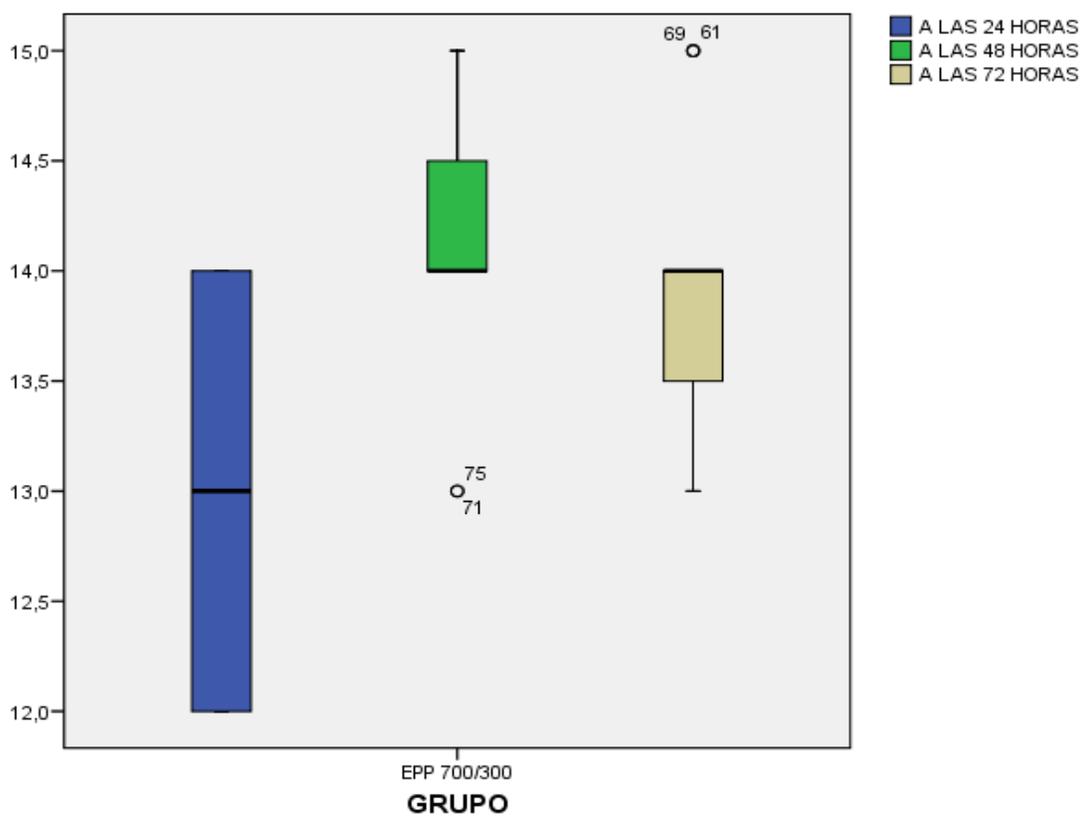
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 12.00mm. hasta 13.00mm. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 14.00mm. a 14.13mm. encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 13.93mm. y 14.00mm., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 5

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(700/300) 70%



Fuente (propia)

Cuadro 6

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(800/200) 80%

EEPP 800/200 (80%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		14.33	15.40	15.13
Mediana		14.00	15.00	15.00
Moda		14.00	15.00	15.00
Desv. típ.		0.49	0.63	0.74
Asimetría		0.79	-0.55	-0.23
Curtosis		-1.62	-0.38	-0.97
Mínimo		14	14	14
Máximo		15	16	16
Percentiles	25	14	15	15
	50	14	15	15
	75	15	16	16
a	Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.			

Fuente (propia)

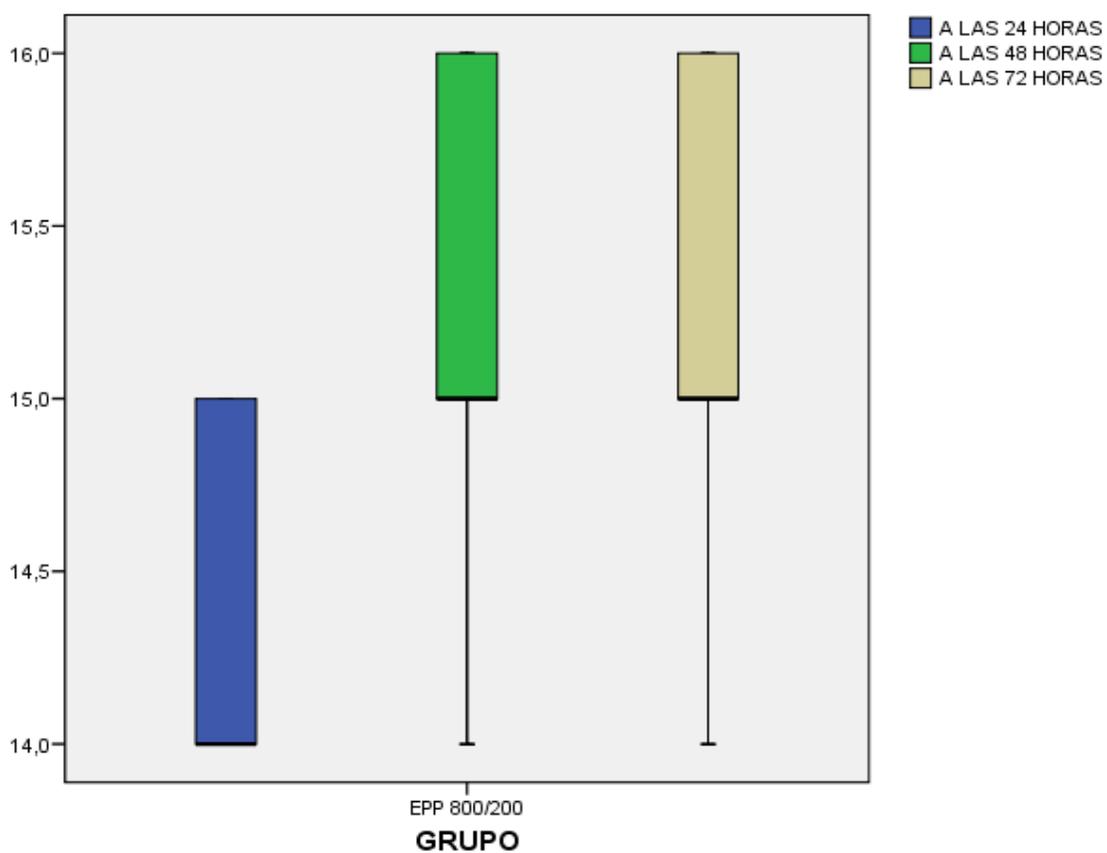
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 14.00_{mm.} hasta 14.33_{mm.} y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 15.00_{mm.} a 14.40_{mm.} encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 15.00_{mm.} y 15.13_{mm.}, encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico de Cuadro 6

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(800/200) 80%



Fuente (propia)

Cuadro 7

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(900/100) 90%

EEPP 900/100 (90%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		15	15.6	15.3333333
Mediana		15	16	15
Moda		14	16	15
Desv. típ.		0.85	0.51	0.62
Asimetría		0.00	-0.46	-0.31
Curtosis		-1.62	-2.09	-0.40
Mínimo		14	15	14
Máximo		16	16	16
Percentiles	25	14	15	15
	50	15	16	15
	75	16	16	16
a	Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.			

Fuente (propia)

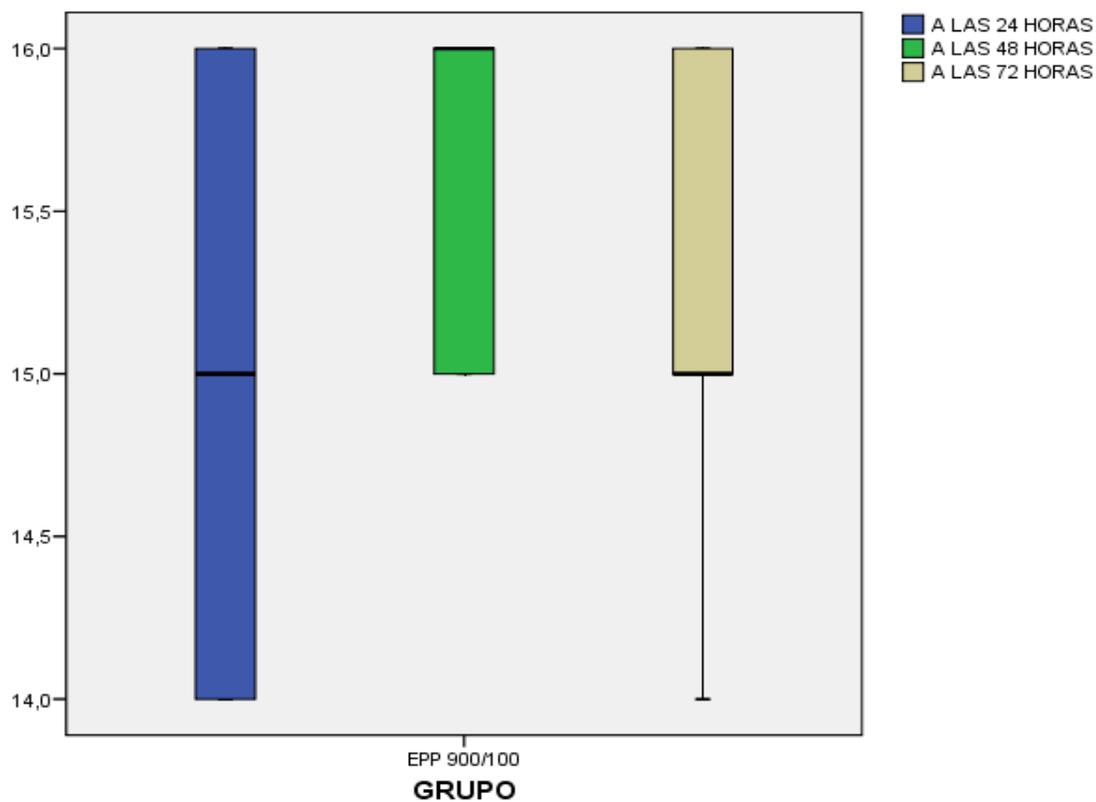
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 14.00mm. hasta 15.00mm. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 15.6mm. a 16.00mm. encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 15.00mm. y 15.33mm., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 7

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEP
(900/100) 90%



Fuente (propia)

Cuadro 8

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEPP
(50gr/100ml) 100%

EEPP 1000/1000 (100%)		A LAS 24 HORAS	A LAS 48 HORAS	A LAS 72 HORAS
N	Válidos	15	15	15
	Perdidos	0	0	0
Media		16.13	16.67	16.13
Mediana		16.00	16.00	16.00
Moda		16.00	16.00	16.00
Desv. típ.		0.74	0.82	0.99
Asimetría		0.98	0.74	0.72
Curtosis		2.20	-1.02	-0.11
Mínimo		15	16	15
Máximo		18	18	18
Percentiles	25	16	16	15
	50	16	16	16
	75	16	17	17

Fuente (propia)

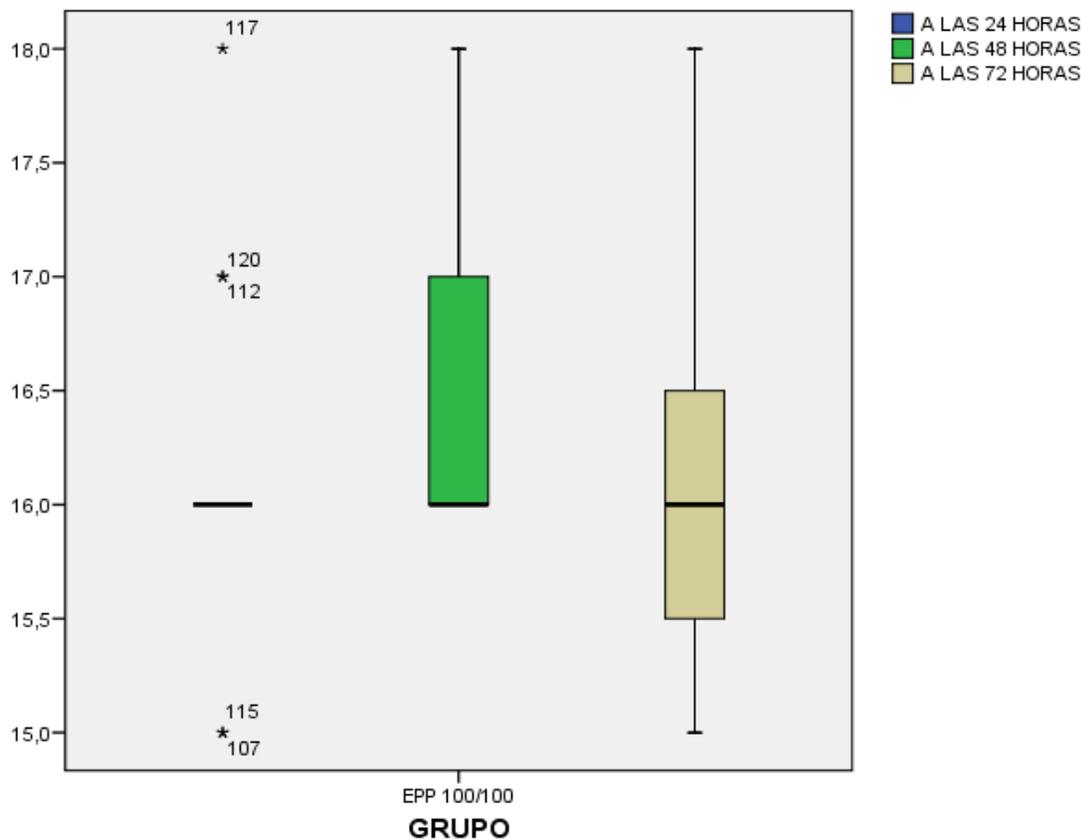
Interpretación:

A las 24 horas de incubación a 37°C, la media, la moda y la mediana se presentan valores de 16.00mm. hasta 16.13mm. y se encuentran cercano a los valores normales. A las 48 hrs., la moda la media y la mediana presentan valores de 16.00mm. a 16.67mm. encontrándose cercano a los valores normales, a las 72 hrs. la moda la mediana y la media presentan valores entre 16.00mm. y 16.13mm., encontrándose cercano a los valores normales.

Dado que el intervalo no contiene el valor 0,0 existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de las muestras. Dándole un nivel de confianza del 95.0%

Grafico del Cuadro 8

Estadísticos de halos inhibitorios del grupo experimental EEP
(50gr/100ml) 100%

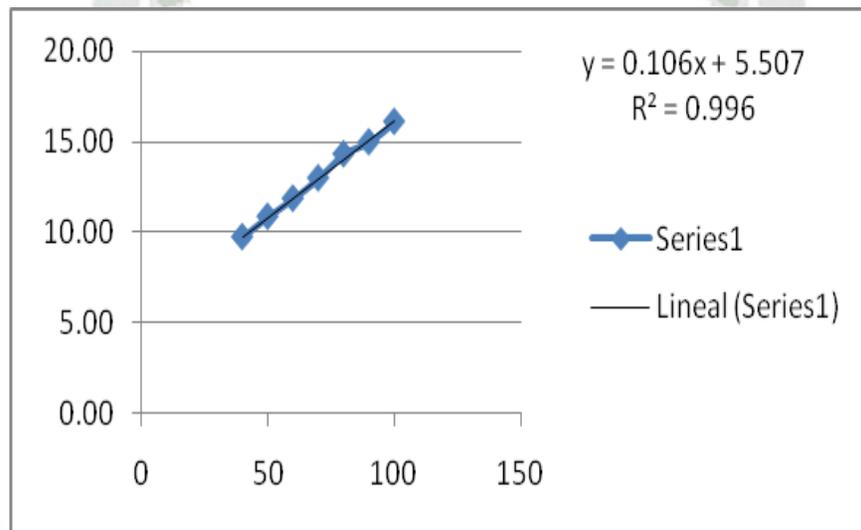


Fuente (propia)

Grafico 9

Prueba de contraste múltiple de R^2 de Pearson para las concentraciones del Extracto Etanólico de Propóleo, en la formación del diámetro del halo de inhibición en el crecimiento de *S. Mutans*.

Lectura a las 24 hrs.



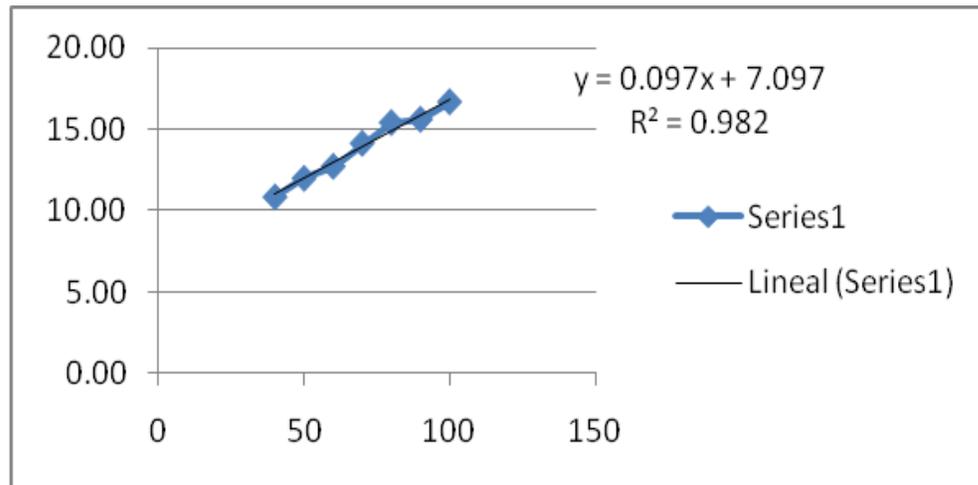
Fuente (propia)

Interpretación:

La R^2 a las 24 hrs. resultó 0.996 lo que equivale a 99,6% de asociación entre la concentración de EEPP y el halo inhibitorio, es decir que hay una asociación muy fuerte. Por ende el diámetro de halo es directamente dependiente de la concentración de EEPP, demostrando una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, tal acción antibacteriana en las diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% es significativa.

Grafico 10

Lectura a las 48 hrs.



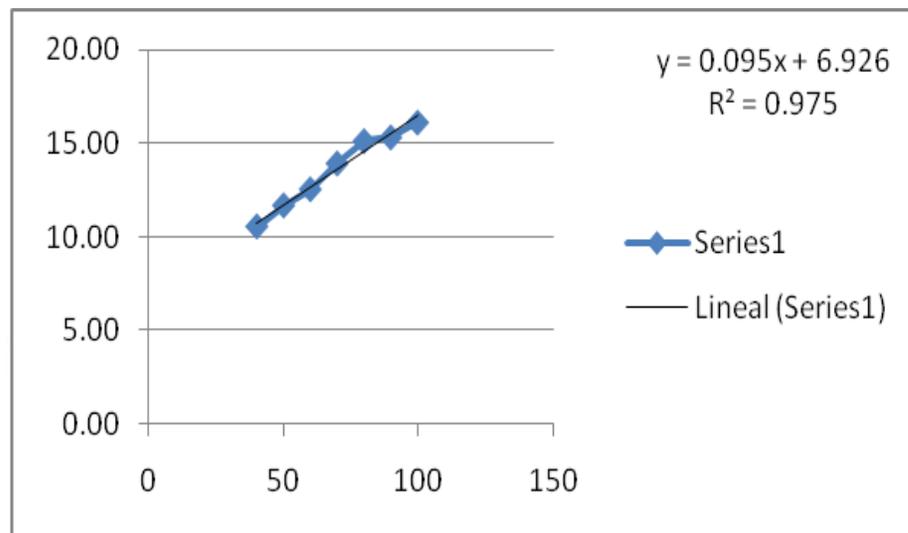
Fuente (propia)

Interpretación:

La R^2 a las 48 hrs. resultó 0.982 lo que equivale a 98,2% de asociación entre la concentración de EEPP y el halo inhibitorio, es decir que hay una asociación muy fuerte. Por ende el diámetro de halo es directamente dependiente de la concentración de EEPP, demostrando una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, tal acción antibacteriana en las diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% es significativa.

Grafico 11

Lectura a las 72 hrs.



Fuente (propia)

Interpretación:

La R^2 a las 72 hrs. resulto 0.975 lo que equivale a 97,5% de asociación entre la concentración de EEPP y el halo inhibitorio, es decir que hay una asociación muy fuerte. Por ende el diámetro de halo es directamente dependiente de la concentración de EEPP, demostrando una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, tal acción antibacteriana en las diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% es significativa. A pesar de ser asociaciones fuertes en las tres lecturas, se nota que la relación va disminuyendo a través de las horas.

DISCUSIÓN

Actualmente se encuentra en boga la medicina naturista para el tratamiento de diferentes enfermedades.

En el campo odontológico se viene haciendo cada vez más frecuente las investigaciones dedicadas a hallar propiedades benéficas de plantas y otros elementos naturales, tradicionalmente conocidas como medicinales y utilizarlas en el tratamiento de afecciones estomatológicas, así como la de productos producidos por insectos sintetizados a partir de componentes de plantas como lo es el propóleo, con probada acción bactericida y fungicida.

Se conoce que la bacteria *Streptococcus Mutans* ha sido implicada como el principal agente etiológico de la caries dental y es por esto que numerosas investigaciones se han destinado al estudio de sustancias que impidan que este microorganismo prolifere en el medio bucal o controlen, su crecimiento.

Los parámetros básicos que se buscan establecer en un estudio de sensibilidad *in vitro* a antimicrobianos para establecer la correcta terapéutica son la C.M.I. y la C.M.B. La sensibilidad *in vitro* de las bacterias a los antimicrobianos se puede ensayar mediante varios métodos disponibles en el laboratorio, los cuales permiten

determinar la C.M.I. del antimicrobiano frente al microorganismo ensayado.

El antibiograma de disco de difusión, según lo describían Bauer y Kirby, ha marcado durante muchos años la pauta de los estudios antimicrobianos habituales. Con esta metodología, el antibiótico se disuelve en el disco y se difunde en el agar circulante. En función del medicamento, del metabolismo y de la sensibilidad del organismo correspondiente, aparecen zonas alrededor del disco en las que no crece el microorganismo, de diámetro variable, según va transcurriendo la incubación. Las dimensiones de esta zona solían utilizarse para establecer las normas de interpretación de los antibióticos más utilizados y de los microorganismos de crecimiento rápido.

Con este método se informa en términos cualitativos (sensibles, intermedio o resistente), sobre la sensibilidad de los microorganismos presentes.

La C.M.I. es la concentración mínima de un antibiótico que inhibirá el crecimiento de un microorganismo *in Vitro*.

Los resultados son cuantitativos más que cualitativos, capaces de detectar los distintos grados de sensibilidad o de resistencia y no sufren la influencia de las propiedades de difusión del antibiótico. El

método C.M.I. da un resultado de sensibilidad relacionado más estrechamente con las condiciones *in Vitro*.

El valor de C.M.I. obtenido, orientara al clínico sobre que concentración de antimicrobiano que necesita alcanzar en el sitio de la infección para inhibir al microorganismo infectante.

En este contexto el presente trabajo tuvo como propósito determinar el efecto del extracto etanólico de propóleo sobre el *Streptococcus Mutans*.

La tabla refiere que diluciones mayores o igual a 50% del extracto etanólico de propóleo en BHI no se manifiesta el desarrollo bacteriano, lo que implica que estos niveles de concentración el extracto Etanólico de propóleo tiene actividad bactericida. Al análisis de variancia estas concentraciones muestran tener efectos diferentes entre todas y cada una de ella. En la dilución igual a 40% se observa una disminución en la formación de U.F.C. interpretándose como una inhibición del crecimiento bacteriano. Contrariamente, a concentraciones menores o iguales a 30% de extracto de etanólico de propóleo, manifiestan el desarrollo de la bacteria, lo que implica que a estos niveles de concentraciones el extracto de coca NO demuestra tener actividad bactericida.

En el estudio Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo sobre el *Streptococcus Mutans* y *Lactobacillus casei* realizada por Marly Eguizabal A. se muestra la actividad antibacteriana del Extracto Etanólico de Propóleo, en comparación al testigo positivo y negativo. Se puede apreciar que la acción antibacteriana del Extracto Etanólico de Propóleo contra el *S. Mutans* en la prueba C.M.I. muestra una mayor tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, que en el caso del *L. Casei*; tal acción antibacteriana en las concentraciones 0,8, 20 y 30% v/v es significativa en comparación al testigo negativo; asimismo, la acción contra el *S. Mutans* es mayor que sobre el *L. Casei*; siendo significativas en las concentraciones de 0,8% y 20%; y también la acción antibacteriana del Extracto Etanólico de Propóleo al 0,8% es mayor que la acción de la clorhexidina, tanto para *S. Mutans* y *L. Casei*.

En las investigaciones antedichas, los valores de las C.M.I son diferentes dado que corresponden a propóleos de distintas procedencias como es sabido la actividad antimicrobiana del propóleo se ve mermada o potenciada dependiendo de la ubicación en donde fue producido. También las condiciones de incubación son distintas ya que el tratamiento fue en condiciones anaeróbicas en el caso de las investigaciones realizadas por Marly Eguizabal A. En

ambos estudios se ha demostrado que la C.M.I. muestra una actividad inversamente proporcional a su concentración. O sea conforme va aumentando la concentración de extracto etanólico de propóleo aumenta el halo inhibitorio.

En la tabla 2 se observa que la dilución al 50% del extracto de propóleo se produce una drástica disminución en la densidad del crecimiento bacteriana, equivale a la muerte bacteriana, del mismo cuadro se infiere que concentraciones mayores o iguales a 50% de extracto de propóleo no se observa presencia e unidades formadoras de colonias.

Los resultados de los estudios ejecutados utilizando Extracto Etanólico de Propóleo Chileno sobre cultivos de *Porphyromonas Gingivalis*. Mediante el método de dilución en agar, se determino que la CMB fue de 83,2_{mg/ml} de concentración, produciéndose la ausencia de U.F.C.

Tal vez las condiciones y características de *Porphyromonas Gingivalis* obligo a usar concentraciones mayores de propóleo en comparación a las usadas en este estudio; tampoco hay que olvidar que actividad bactericida del propóleo se mide según su procedencia geografía, y variedad de abeja que lo produce.

En el presente estudio se confirmó la actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre el *Streptococcus Mutans*, se determinó que el valor de la C.M.B. (50%) produjo un halo inhibición de 10.86_{mm} en promedio a las 48 hrs. De incubación el mismo que equivale a una sensibilidad intermedia.

Con respecto a la actividad antibacteriana ya probada de la Clorhexidina 0.05% presentó un halo inhibitorio con un promedio de 22_{mm} a las 48 hrs de incubación.

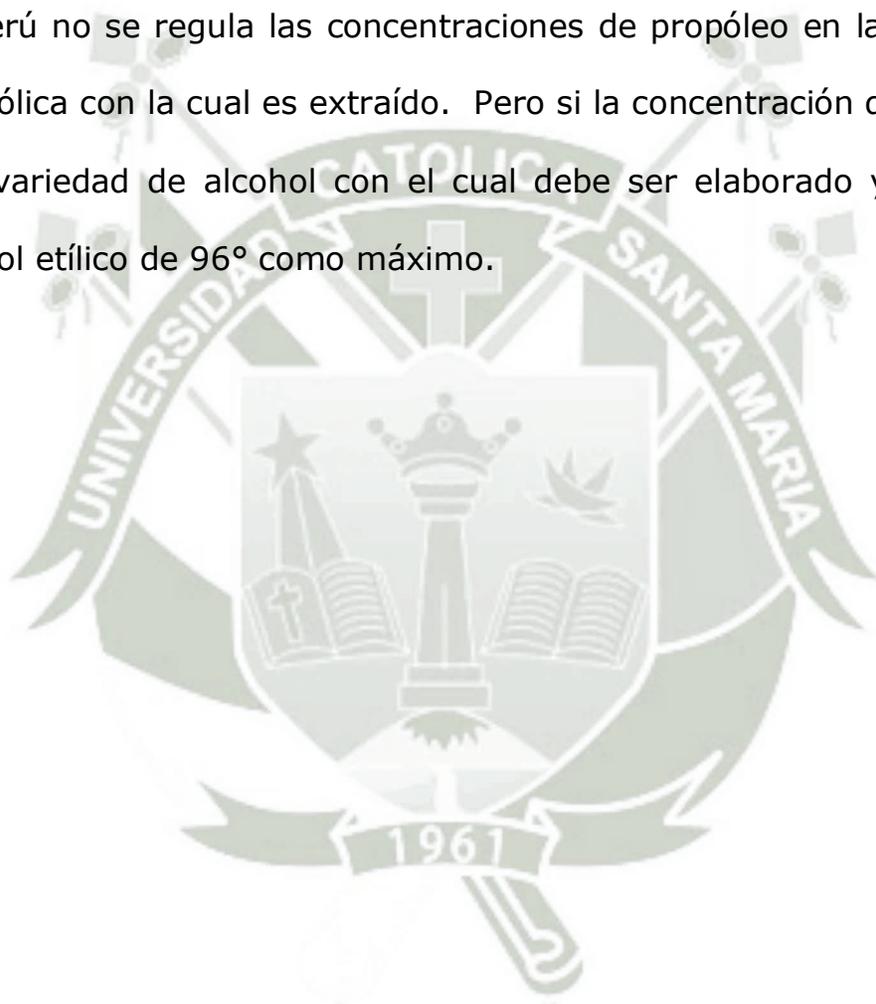
La concentración de Propóleo (100%) "50_{gr}/100_{ml}" 1 parte de propóleo por dos de alcohol, demostró una actividad antibacteriana con un promedio de halo inhibitorio de 16.13 _{mm}. A las 48 hrs demostrando una actividad intermedia.

También tenemos que tener presente que la concentración de alcohol utilizada para la elaboración del extracto fue de 30° para evitar inferencia del mismo sobre la actividad del propóleo propiamente dicho.

La concentración utilizada como solución madre a lo igual que el método de elaboración fue realizado según lo indicado por Prost en su manual titulado: Conocimiento de la Abeja, Manejo de la Colmena y su Productos Derivados.

Se escogió esta bibliografía ya que está dirigida a procesos de industrialización de los productos derivados de la industria apícola. Que tiene fines comerciales, la catalogación del extracto etanólico de propóleo está dentro del rubro de bebidas y alimentos y no dentro de la industria farmacéutica.

En Perú no se regula las concentraciones de propóleo en la solución alcohólica con la cual es extraído. Pero si la concentración de alcohol y la variedad de alcohol con el cual debe ser elaborado y este es alcohol etílico de 96° como máximo.



CONCLUSIONES

PRIMERA.

La dilución al 40% de Extracto Etanólico De Propóleo es la menor dilución que INHIBE el desarrollo de *Streptococcus Mutans* siendo esta la concentración mínima inhibitoria C.M.I.

SEGUNDA.

La dilución al 50% de Extracto Etanólico De Propóleo es la menor dilución que produce la MUERTE BACTERIANA deteniendo el desarrollo del *Streptococcus Mutans* siendo esta la concentración Mínima Bactericida C.M.B.

TERCERA.

El Extracto Etanólico De Propóleo en diluciones de 100%, al 90%, 80%, 70%, 60% y al 50%, demostraron tener actividad antibacteriana positiva sobre el *Streptococcus Mutans*, demostrando así que es inversamente proporcional al desarrollo del *S. Mutans* o sea que a mayor concentración del extracto de Extracto Etanólico De Propóleo mayor acción antibacteriana y por ende menor desarrollo de la bacteria en mención. El Extracto

Etanólico De Propóleo sol. Madre (100%) "50gr/100ml" relación p/v presento un promedio de halo inhibitorio de 16.13mm frente al *S. Mutans*, demostrando una sensibilidad intermedia.

CUARTA.

La Clorhexidina al 0.05% tiene una actividad antibacteriana alta teniendo en promedio 22mm de halo inhibitorio frente al *S. Mutans* presentándose sensibilidad frente a la Clorhexidina.

QUINTA.

La comparación entre ambos agentes bactericidas se presenta de la siguiente manera:

La Clorhexidina al 0.05% es más eficaz que el Extracto Etanólico De Propóleo Sol. Madre con una concentración de 50gr/100ml. relación p/v sobre el *S. Mutans In vitro* bajo condiciones aeróbicas

En vista de que la acción del EEPP muestra una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración; SE PUEDE CONCLUIR QUE A MAYORES CONCENTRACIONES p/v OTORGARIA VALORES SUPERIORES DE HALO INHIBITORIO A LOS PRESENTADOS EN ESTE ESTUDIO.

RECOMENDACIONES

PRIMERA:

Se recomienda que se realice más investigaciones sobre Extracto Etanólico De Propóleo, en concentraciones mayores. Ya que se ha demostrado que a mayor concentración mayor efectividad sobre la bacteria estudiada.

SEGUNDA:

Se recomienda hacer una investigación del Extracto Etanólico De Propóleo en otras especialidades de la Odontología y comparar sus efectos en dichos campos.

TERCERA:

Realizar ensayos comparando propóleos de diferentes zonas geográficas de Perú, y por lo tanto, diferente origen botánico, para clasificarlos según su grado de actividad antimicrobiana, sería una manera de abordar el estudio de este producto natural de una forma más clara y ordenada, considerando que Perú posee una gran diversidad de flora autóctona y clima privilegiado tal como ocurre y como se ha hecho en Brasil.

CUARTA:

Analizar la composición química del propóleo, para estudiar y comparar según la literatura actual los componentes que estarían actuando en las propiedades antibacterianas de éste.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BARRANCOS MOONEY: **Operatoria Dental. Tercera edición**
Editorial Médica Panamericana Colombia 2000
- 2.- WOODALL IR, DAFOE BR.: **Tratado de Higiene Dental.** 3ra
Edición. Barcelona: Salvat Editores. 1991.
- 3.- NEGRONI, MARTA: **Microbiología estomatológica
fundamentos y guía practica.** Primera edición 4ta reimpresión
Editorial Médica Panamericana Colombia 2005
- 4.- BURNETT GEORGE W. B.A., SCHERP HENRY W., B.S.:
Microbiología y enfermedades infecciosas de la boca.
Primera edición Editorial Limusa Mexico 1986
- 5.- LIÉBANA UREÑA JOSÉ: **Microbiología oral.** Primera edición.
Editorial Mc. Graw Hill - Interamericana de España, S.A.U 2002
- 6.- NOLTE WILLIAN: **microbiología odontológica.** Sexta edición.
Editorial interamericana. México, 2000
- 7.- PROST. JEAN P.: **Apicultura.** 3ra edición Madrid; Mundi Prensa
1995
- 8.- PROST. JEAN P.: **Conocimiento de la Abeja, Manejo de la
Colmena y su Productos Derivados.** 4ta edición Madrid; Mundi
Prensa 2007

9. - TAIZ, LINCOLN Y EDUARDO ZEIGER "**Secondary Metabolites and Plant Defense**". En: *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.
10. - GHISALBERTI, **Própolis: a reviews. Bee world**. 60 (2): 59-84. E. L. 1979
- 11.- BURNETT George. "**Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la Boca**" 1ra edición Editorial Limusa Madrid 1990
12. - LOESCHE WJ. **Microbiology of Dental Decay and Periodontal Disease. In: Baron's Medical Microbiology (Baron S et al., eds.)** 4th ed.. Univ of Texas Medical Branch. (1996)
- 13.- JOKLIK, WOLFGANG K. ZINSSER **Microbiología**. 20a ed. Buenos Aires. Médica Panamericana. 1998
- 14.- DELGADO IRIBARREN ALBERTO **Laboratorio clínico. Microbiología** 1ra edición McGraw-Hill 1996

HEMEROGRAFIA

1. MARTINS R, PEREIRA E, LIMA JR. S, SENNA M, MESQUITA R, SANTOS V. **Effect of commercial etanol propolis extra with the *in vitro* growth of *Candida albicans* collected from HIV-seropositive and HIV-seronegative Brazilian patients with oral candidiasis.** J Oral Sci 2002; 44(1):41-48.
2. DANTAS DE ALMEIDA RV, DÍAS DE CASTRO R, VIEIRA PEREIRA MS, QUEIROZ DE PAULO M, PEREIRA SANTOS J, NASCIMENTO PADILHA WW. **Efeito Clínico de solução antiséptica a base de Própolis em crianças cárie activas.** Pesq Bras Odontoped Clin Integr, João Pessoa. 2006
3. GISPERT AE, CANTILLO EE, RIVERO LA, Padrón IM. **Actividad anticaries de una crema dental con propóleos.** Rev. Cubana de Estomatología 2000
4. LÓPEZ DEL VILLAR J, UBILLÚS CM. **Estandarización del propóleos del Valle de Oxapampa, Departamento de Pasco (Perú) como materia prima para su utilización a nivel industrial.** [Tesis Título de Químico Farmacéutico]. Facultad de

Farmacia y Bioquímica: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, 2004

5. ELVIRA EE, VILLALOBOS DA, ANDRADE F. **Estudio comparativo entre la eficacia del propóleos y la Clorhexidina en el manejo de las lesiones bucales, en pacientes pediátricos inmunodeprimidos.** Rev Med Oral. 2001
6. DR. PABLO IGNACIO DEL RIO MARTÍNEZ. **Actividad Biocida de un Própolis Chileno frente Porphyromonas Gingivales Estudio in Vitro.** Facultad de Odontología Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile, 2006
7. MARLY EGUIZÁBAL, HILDA MORONI NAKATA. **Actividad antibacteriana in vitro del extracto de Propóleo sobre Streptococcus Mutans y Lactobacillus Casei** Facultad de Odontología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, 2007.

8. DRA. ESTELA GISPERT ABREU, DRA. ELENA CANTILLO ESTRADA, DRA. ARACELYS RIVERO LÓPEZ Y LIC. BERTA ORAMAS RODRÍGUEZ. **Estudio Comparativo del Efecto del Cepillado con una Crema Dental con Propóleos rojos y de un gel con Clorofila.** Rev. Cubana de Estomatología 1998

9. CÓRDOVA POZO PIVIANA **Pasta y gel con extractos de propóleos y aloe vera en tratamientos periodontales.** Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Simón de Cochabamba – Sociedad Científica de Estudiantes de Odontología Cochabamba, Bolivia. Rev. Odontológica boliviana.

10. MACEDO SALAS RAFAEL ELÍAS **Estudio Comparativo in Vitro del Efecto Bactericida entre la Caesalpinia Spinosa (tara) y el Propóleo en Anaerobios Facultativos de la Microflora de la Placa Supragingival de Pacientes de 8 a 12 Años de Edad de La i.e. 40185 del Distrito de Paucarpata; Arequipa 2007.** Universidad Católica de Santa María, facultad de odontología, Arequipa, Perú, 2007.

11. ZULMA MORENO H. OD.1, PATRICIA MARTÍNEZ A. OD.1, JUDITH FIGUEROA. **Efecto antimicrobiano *In vitro* de Propóleos Argentinos, Colombianos y Cubano sobre *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.** Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Odontología. Sede Bogotá. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá, Colombia, 2007

12. LUIS CARLOS MORENO CABRERA, MARÍA CONSTANZA VELASCO RAMÍREZ, SONIA J. GUTIÉRREZ CEPEDA ROSALBA MEDINA ARÉVALO. **Estudio comparativo de siete medios de cultivo para crecimiento y recuperación del *Streptococcus Mutans* ATCC 25175.** Facultad de odontología - facultad de medicina, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 2004.

13. CAYLA MAMANI DIANA. **Actividad Antifúngica in vivo e in vitro del propoleo sobre la *cándida albicans*,** Universidad Católica de Santa María Facultad de Farmacia y Bioquímica, Arequipa, Perú, 2004

14. CÓRDOVA FLORES ELIZABETH, **Efecto del propóleo in vitro de el halo inhibitorio de la microflora de la Placa bacteriana supragingival en paciente de la inst. edu. 40677 Cerró Colorado.** Universidad Católica de Santa María, Facultad de odontología Arequipa, Perú 2004.
15. TALAVERA SUPO MIRIAM, VILCA SENTÍ ALEXANDER URIEL, **Actividad Biocida del Propóleo frente al Staphilococcus Aureus in vitro,** Universidad Católica de Santa María, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Arequipa, Perú 2004
16. GOLMERAC, W. L. **Activities and behavior of the colony as an organism. In: Bees, beekeeping, honey and pollination.** Eastern Graphics, Inc., Old Say-book, Connecticut. 33-56. 1980.
17. GONZÁLEZ, A. Y BERNAL, R. **Propóleos: un camino hacia la salud.** Ed. Pablo de la Torriente. La Habana, Cuba. 132 p. 1997
18. GRENAWAY, T.; SCAYBROOK, T. AND WHATLEY, F.. **The composition and plant origins of propolis:** a Report of work at Oxford. University of Oxford. Oxford, England. 1990

19. KONIG, B. **Plant sources of Própolis.** Bee world. 66 (4): 136-139. 1985
20. LANGENHEIM, J. H. 1969. **Amber: a botanical inquiry.** **Science.** 163: 1157-1169.
21. MOURA, L. **Atividade antiparasitaria en giardiase e coccidiose.** En: I Simposio Brasileiro sobre propolis e apiterápicos. 7-11 de agosto. Franca, Brasil. 19-20. 1999.
22. MARCUCCI MC, FERRERES F, GARCÍA-VIGUERA C, BANKOVA **Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities.** *J Ethnopharmacol* 2001;74(2):105-11
23. GULBAHAR O, OZTURK G, ERDEM N, KAZANDI A, KOKULUDAG . Psoriasiform contact dermatitis due to propolis in a beekeeper. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology** (2005).
24. RODRIGUEZ M., VEGA V., FONTE M., ROJAS M., ELIAS A., GISPERT A., RODRIGUEZ L., GALLEGO R., CANTILLO E., RODRIGUEZ L. **Streptococcus Mutans: Su Relacion Con La Actividad Cariogenica.** Rev Cubana Estomatol. 1989 Jul-Sep;26(3):191-206.

25. TAKAISIKIKUNI N, SCHILCHER H. (1994). **Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance.** Planta Med 60: 222-227
- 26.- ALEJANDRO MARTÍNEZ M., QUÍMICO M. Sc., Doctor en Ciencias, **FLAVONOIDES** Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia Medellín Colombia - 2005
- 27.- **Manual de Interpretación de las Pruebas de Difusión por Disco de la NCCLS** "National Comite for Clinical Laboratory Standars" U.S.A. 2002.
- 28.- EMILSON CG, FORNELL J. **Effect of toothbrushing with chlorhexidine gel on salivary microflora, oral hygiene, and caries.** Scand J Dent Res. 1976 Sep;84(5):308-19.
- 29.- DR. EBINGEN VILLAVICENCIO CAPARÓ **Manejo del resultado de la tesis de Post grado**

INFOGRAFIA

1. Ministerio de Salud del Perú - **Plan de Salud Bucal 2005.**

[http://www.minsa.gob.pe/portal/campanas/sbucal/Archivos/RM538-2005%20plan%20de%20salud %Bucal.pdf](http://www.minsa.gob.pe/portal/campanas/sbucal/Archivos/RM538-2005%20plan%20de%20salud%20Bucal.pdf)

2. Ministerio de Agricultura de Argentina - **como obtener extracto Blando de Propóleo.**

www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad_foros_virtuales/apicola/mensajes/05_12_diciembre/varios_01.htm

Propóleo - <http://www.ecoaldeia.com/apicultura/propolis.htm>

3. Dra. Dorantes Camacho Karla Berenice **Efecto Anticaries del**

Propóleo. Universidad Nacional Autónoma de México UNAM

Facultad de Odontología Iztacala 2007.

http://odontologia.iztacala.unam.mx/instrum_y_lab1/otros/encuentro11/contenido/oral/8/EFFECTOS%20ANTICA.htm

4. **El Propóleo o Própolis**

<http://www.universodontologico.550m.com/Temas/diciembre2005.htm>

5. Dr. Lucas Miralda Martínez. **Microbiología de las Infecciones**

Odontogénicas.

<http://www.doctorlucasmiralda.com/textoarticulos/Micro.doc>.

6. Dr. Javier del Castillo. **Recuento de Estreptococos Mutans.**

Universidad Mayor de Santiago, Facultad de Odontología,
Santiago de Chile 2002.

<http://odontochile.cl/archivos/cuarto/integraladulto1/streptomutans.doc>

7. Antonio José Manrique Investigador. FONAIAP. Gerencia General. Cursante de Doctorado en Genética de Abejas. Universidad de São Paulo (USP) en Ribeirão Preto. Brasil

Producción de Propóleo 2003

<http://www.ceniap.gov.ve/pbd/RevistasTecnicas/FonaiapDivulgacion/fd66/texto/propoleo.htm>

8. Dra. Francisca Otaola Carrera, Universidad autónoma de Barcelona facultad de medicina Humana **Pruebas De**

Sensibilidad A Agentes Antimicrobianos

<http://minnie.uab.es/~veteri/21273/Practica%202.2008-09.pdf>

9. Dr. Jose Francisco Gomez Piérola Facultad de Odontología la Universidad nacional de Colombia **Conceptos Básicos De La Terapia Con Antibióticos**

http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/lecciones/conceptos_basicos_antibioticoterapia.html

- 10.** Dra. Elizabeth palavecino rosales Pontificia Universidad católica de Chile **interpretación de los métodos de susceptibilidad antimicrobiana**

<http://escuela.med.puc.cl/publ/Boletin/Laboratorio/Interpretacion.html>

- 11.** Klein, J.P.; Scholler, M. (December 1998). "**Recent Advances in the Development of a Streptococcus mutans Vaccine**".

European Journal of Epidemiology 4 (4): 419-425.
[doi:10.1007/BF00146392. http://links.jstor.org/sici?sici=0393-2990%28198812%294%3A4%3C419%3ARAITDO%3E2.0.CO%3B2-A](http://links.jstor.org/sici?sici=0393-2990%28198812%294%3A4%3C419%3ARAITDO%3E2.0.CO%3B2-A). Retrieved 2007-05-15.

- 12. Clorhexidina**

<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c090.htm>

ANEXOS



SECUENCIA FOTOGRAFICA



PROPÓLEO



Propóleo pulverizado

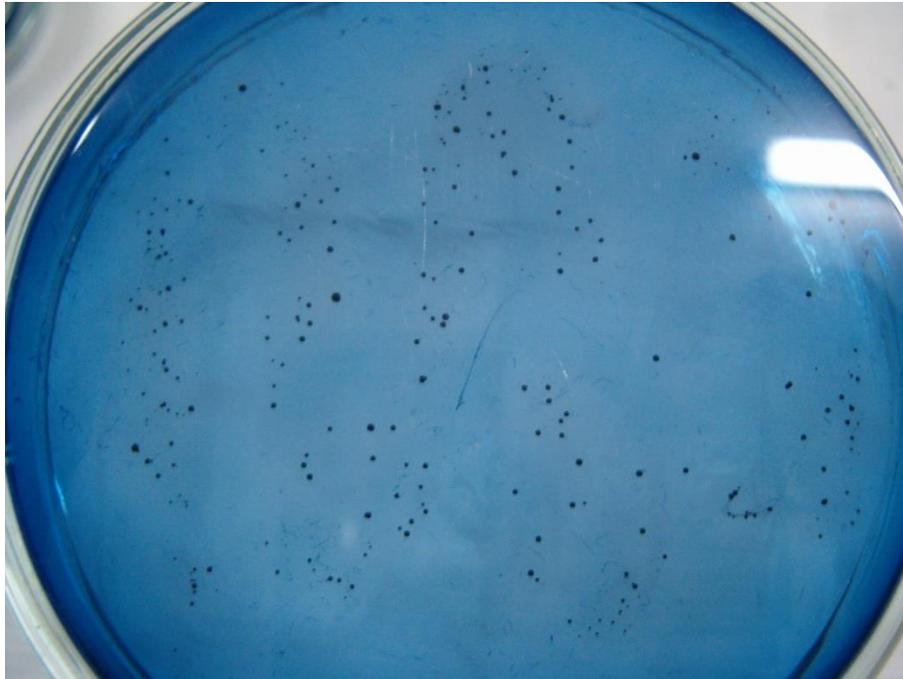


ATCC 35668 *S. Mutans*



Agar Mitis Salivarius



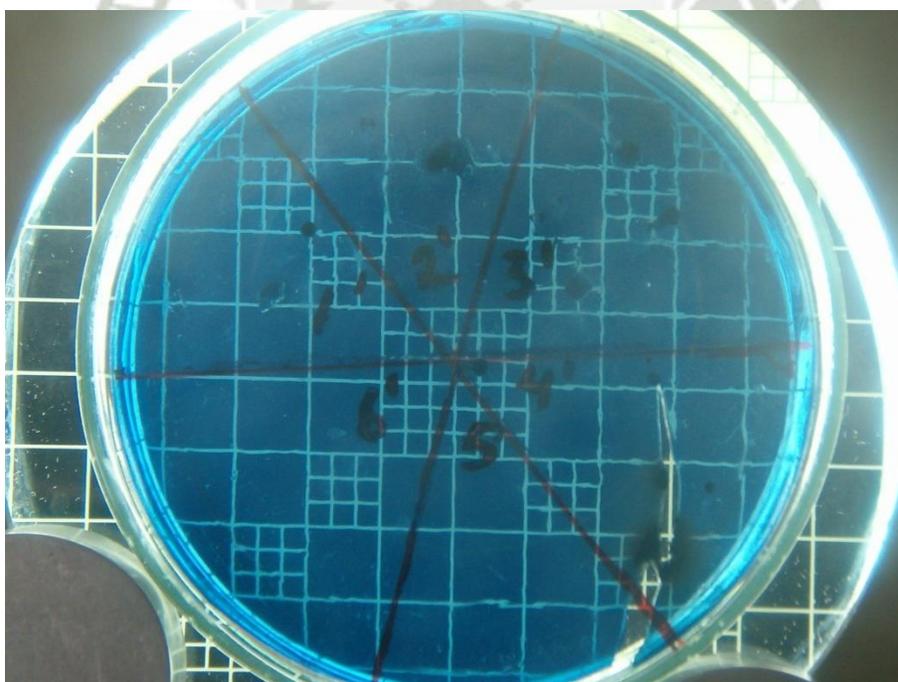
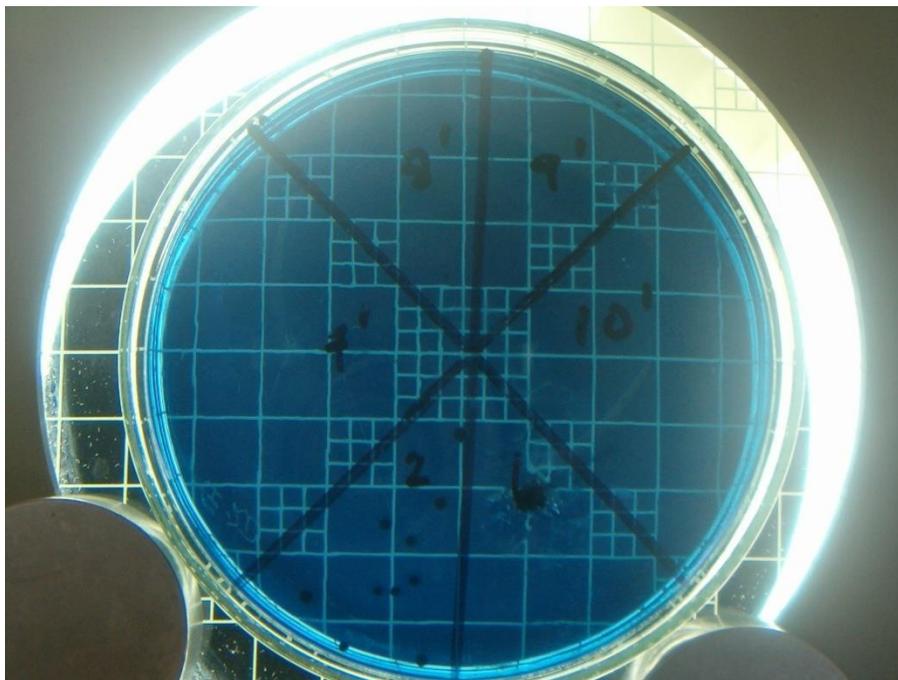


U.F.C. de *S. Mutans*



Determinación de la C.M.I.

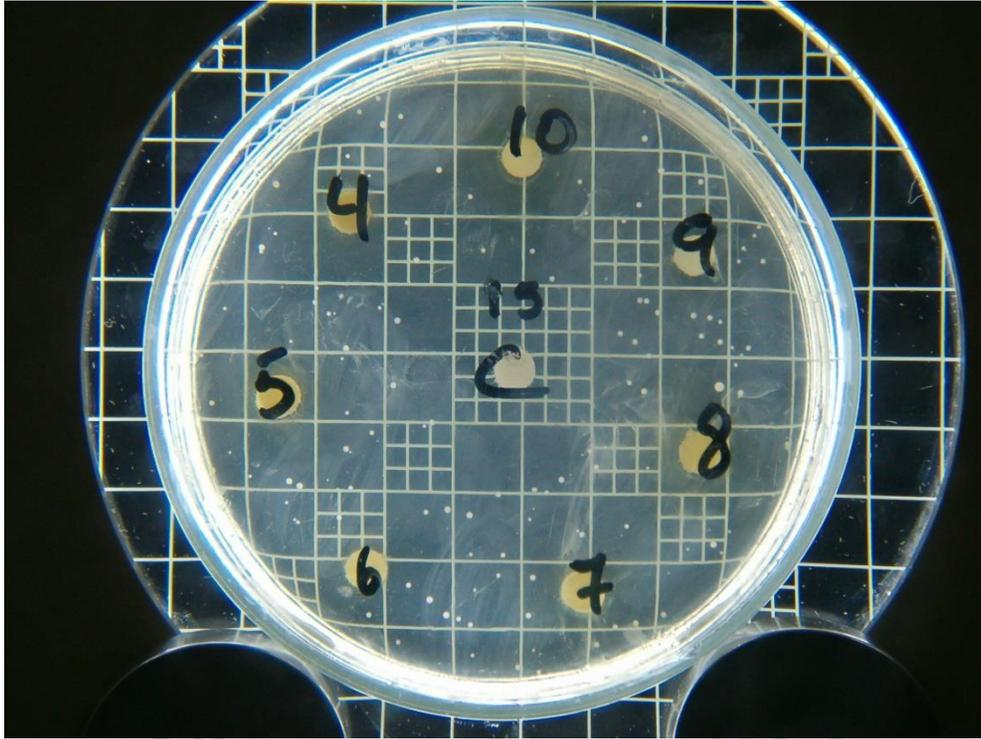
Determinación de la C.M.B.





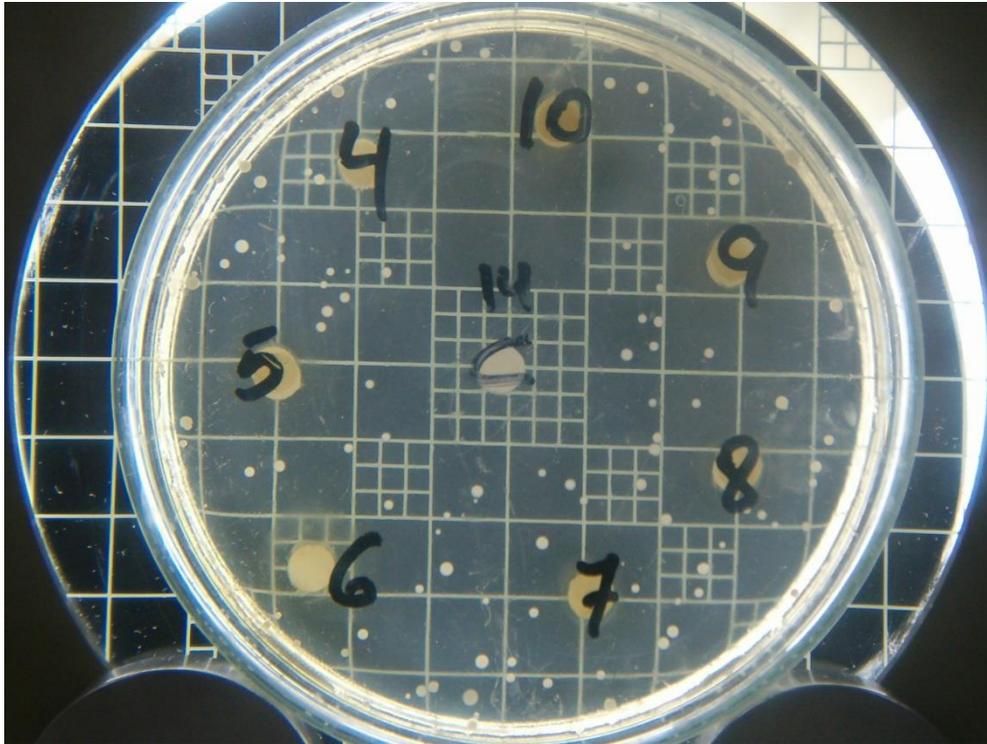
Halos inhibitorios



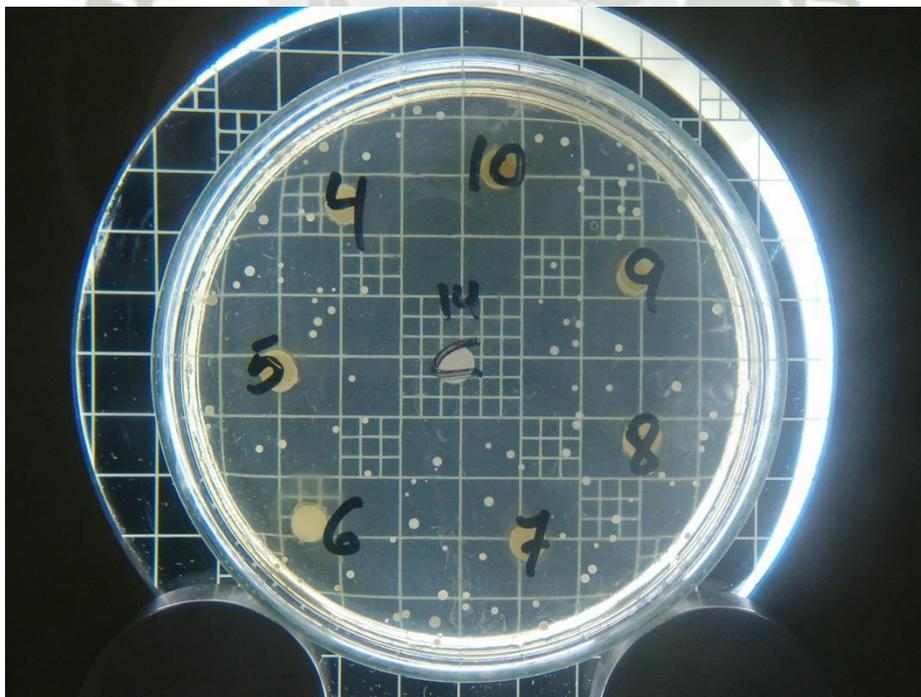


Halos inhibitorios 24 horas

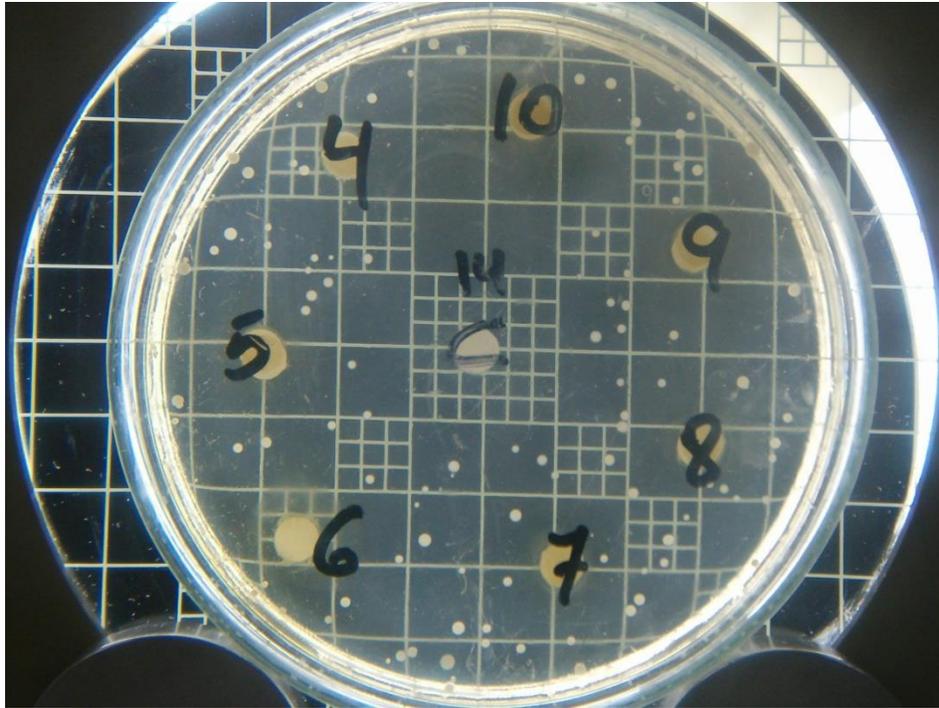




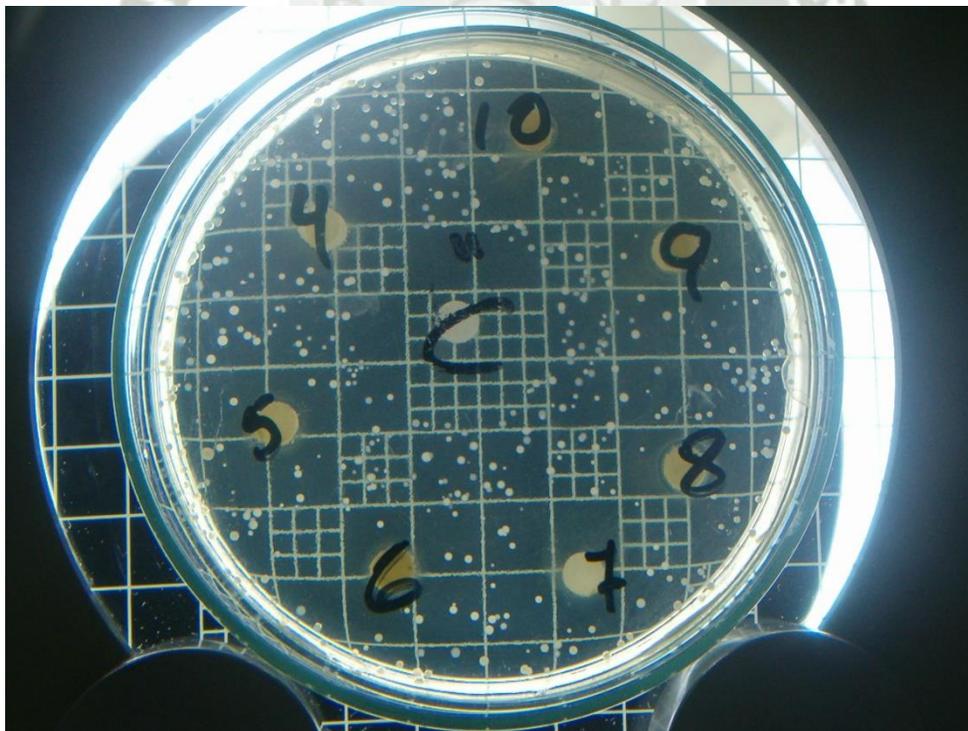
24 horas



48 horas



48 horas



72 horas

FICHA DE OBSERVACIÓN

Halos inhibitorios

Placa _____

UFC _____

	24 hrs	48hrs	72 hrs
Clorexidina 0.05%			
Tubo 4 EEP 400/600ul (40%)			
Tubo 5 EEP 500/500ul (50%)			
Tubo 6 EEP 600/400ul (60%)			
Tubo 7 EEP 700/300ul (70%)			
Tubo 8 EEP 800/200ul (80%)			
Tubo 9 EEP 900/100ul (90%)			
Tubo 10 EEP 1000ul (100%) sol. madre			