



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**EFFECTOS DE LA ECHINACEA ANGUSTIFOLIA SOBRE BACTERIAS
AEROBIAS DE LA BIOPELÍCULA DENTAL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGIA**

PRESENTA:

NORA ROCIO VALDEZ RAMOS

DIRECTOR DE LA TESIS:

DR. SALVADOR ARRONIZ PADILLA



Junio, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A Dios por haber permitido que existiera y hacer realidad uno de mis sueños que hoy comparto con mis seres queridos. Por darme fé y esperanza. Por todo gracias por colmar de dicha, felicidad y amor, todo mi existir.

A mis queridos Padres Martha Ramos Gtz. y Victorino Valdez Monroy que con su cariño, confianza y valores inculcados soy la persona que he llegado a ser. Los quiero mucho

A mis hermanos Lic. Jorge A. Valdez Ramos, Lic. Martha Lizet Valdez Ramos y a la pequeña Karen Nallely gracias por su cariño, ánimos, ocurrencias tuve momentos muy felices en todo este tiempo. Esperando que todos sus sueños e ilusiones se hagan realidad.

A mi esposo C.D. Álvaro Iván Campos Figueroa gracias por estar en los momentos buenos y malos por darme tu fuerza, optimismo, confianza, paciencia, dedicación, por contagiarme de esas ganas de superación que has tenido y el apoyo incondicional para enfrentar todo tipo de retos.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por siempre estar conmigo

A mi Asesor de tesis:

Dr. Salvador Arroniz Padilla gracias por su dedicación, tiempo, apoyo y asesoramiento para la realización de este trabajo.

A la M. en C. Gloria Luz Paniagua por darme la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo y así permitirme conocer procedimientos en el Laboratorio Clínico

Al M. en C. Eric Monroy Franco, por enseñarme a trabajar en un laboratorio Clínico brindarme sus conocimientos, paciencia, tiempo y apoyo para la realización de este trabajo.

Al honorable jurado mis profesores Eduardo LLamosas Hernández, Javier Garzón Trinidad, Jesús Villavicencio Pérez, Rosa Elena Pérez Hernández quienes comparten sus conocimientos y experiencias. Sinceramente Gracias a todos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por mi formación profesional por todos los conocimientos que en ella me fueron impartidos.

INDICE

1. RESUMEN.....	5
2. INTRODUCCION.....	7
2.1 Antecedentes.....	7
2.2 Elementos estructurales del microorganismo.....	13
2.3 Resistencia a Antibióticos.....	17
2.3.1 Mecanismo de acción de los antimicrobianos y resistencia Bacteriana.....	17
2.4 Echinacea Angustifolia.....	19
2.4.1. Componentes.....	21
2.4.2.Indicaciones y Contraindicaciones.....	24
2.4.3. Usos y función de la Equinacea.....	26
3. OBJETIVOS.....	29
4. METODOLOGIA.....	30
5. RESULTADOS	40
6. DISCUSIÓN.....	57
7. CONCLUSIONES.....	66
8. BIBLIOGRAFÍA.....	67

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con 60 pacientes que acudieron a la clínica de Endoperiodontología de la FES Iztacala que presentaban enfermedad periodontal.

En viales con BHI fueron colocadas las muestras de PDB de los pacientes analizados. Estos se incubaron a 37° C durante 24hrs. Se sembraron los caldos obtenidos en los agares Agar-Sangre, S110, EMB y Sabouraud y se incubaron.

Posteriormente las cepas bacterianas se clasificaron como Grampositivas o Gramnegativas de acuerdo a la tinción de Gram. Finalmente se realizó la identificación por medio de la prueba del manitol (para *Staphylococcus*) y pruebas bioquímicas (para enterobacterias), y se determinó la susceptibilidad de los microorganismos a 12 antibióticos por el método de Kirby-Bauer.

Fue un total de 111 cepas distintas de bacterias y hongos encontradas, dentro de las cuales 94 (84.7%) fueron Gram positivas y 17(15.3%) Gram negativas. En el grupo de Grampositivos encontramos *Streptococcus spp* (44.1 %), *Staphylococcus aureus* (18.9%), *Staphylococcus spp* (12.6%), *Candida spp* (9.0%) y por último al grupo perteneciente a las Gramnegativas se identificó *Escherichia coli* (5.4%), *Klebsiella ozaenae* (4.5%), *Enterobacter agglomerans* (1.8%), *Enterobacter hafniae*, *Enterobacter aerobacter*, *Citrobacter freundii*, *Alcaligenes faecalis* 0.9% para cada una.

Se prepararon un total de 90 cajas de petri con agar Mueller-Hinton en los cuales se colocaron 12 diferentes concentraciones del Metronidazol, Clindamicina, Amoxicilina con Ácido Clavulánico haciendo lo doble para tener un grupo testigo por lo que fueron 24 cajas de petri por cada antibiótico. En lo que respecta a la *Equinacea Angustifolia* se manejaron 9 diferentes concentraciones por lo que se obtuvieron 18 cajas de petri. Para la Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en los microorganismos Grampositivos detectados el 100%(n= 94) de las cepas identificadas fue resistente al Metronidazol, el 99% a la Clindamicina, en la Amoxicilina más ácido clavulánico el 52% (n = 49) y el 6% (n

= 6) de las cepas fueron sensibles en los intervalos de 0.975-1.95 µg/ml y 3.9-7.8 µg/ml, respectivamente, mientras que el 2% (n = 2) fue resistente en la concentración de 31.3 µg/ml y el 40 % resistente (n = 37) en la concentración de 125-1000 (µg/ml). *Equinacea Angustifolia* el 17% (n = 16) de las cepas fue inhibida a la concentración de 80 µg/ml (4 ml), el 68% (n = 64) a la concentración de 120-160 µg/ml (6-8 ml) y el 15% (n = 14) a la concentración 180 µg/ml (9 ml).

La determinación de la CMI en los Gramnegativos detectados el 100% (n = 17) de las cepas identificadas fue resistente al Metronidazol y a la Clindamicina respectivamente. La amoxicilina con ácido clavulánico encontramos que el 14%(n= 2) de las cepas fue sensible en la concentraciones de 0.975 µg/ml, el 21% (n = 3) moderadamente sensibles en el intervalo de 3.9-7.8 µg/ml, y el 65 % (n = 12) de las cepas fueron resistentes a la concentración de 250-1000 µg/ml. En la *Equinacea Angustifolia* el 93% (n = 15) de las cepas fueron inhibidas a la concentración de 140 µg/ml (7 ml) y el 7% (n= 2) a una concentración de 180 µg/ml(9ml)

La mayoría de las especies Grampositivas y Gramnegativas aisladas fueron resistentes a los principales antibióticos primera elección.

Los datos obtenidos en este trabajo evidenciaron la importancia de aislar e identificar algunos de los agentes causales de las infecciones periodontales, con el propósito de prescribir adecuadamente el antimicrobiano más eficaz.

Palabras Clave: PDB, Bacterias, Antibioticos, Echinacea Angustifolia,

INTRODUCCION

En los últimos 25 años, aproximadamente, se ha aceptado en forma general que la masa microbiana conocida como placa dental es el factor etiológico de gran importancia en la enfermedad periodontal ⁽¹⁾.

En nuestro país ha ocurrido un incrementó de la población mexicana, aunado a esto la prevalencia de pacientes con caries dental y con infecciones periodontales. En la boca los dientes aportan superficies duras, la acumulación y el metabolismo de las bacterias permiten el desarrollo de extensos depósitos bacterianos. La eliminación de la placa conduce la desaparición de los signos clínicos de esa inflamación. Los estudios clínicos han demostrado que la eliminación mecánica diaria de la placa microbiana en la mayoría de los pacientes previene ulteriores enfermedades dentarias.

Hay muchas formas microbianas diferentes en la boca. Son tan variados y no obstante tan parecidos algunos microorganismos de ciertos grupos.⁽²⁾

La enfermedad periodontal comprende un grupo de estados inflamatorios de los tejidos del soporte dentario inducidos por bacterias.

- Anthony Van Leeuwenhoek observó en 1683 que la placa dental estaba compuesta por depósitos blandos con microbios y restos de comida.
- En 1898, Black definió la placa dental, como placas blandas gelatinosas.
- A mediados del siglo XX se creía que todas las especies bacterianas halladas en la placa dental poseían igual capacidad de causar enfermedad.
- A principios de la década de 1960, exámenes microscópicos de la placa revelaron la presencia de distintos morfotipos bacterianos en sitio periodontales sanos comparados con otros sitios dañados.
- En 1965, Egelberg y cols determinaron los estadios en la formación de la placa dental. Estos autores definieron: Un primer estadio o fase I, en la que

se formaría una biopelícula sobre la superficie limpia del diente. Esta biopelícula estaría compuesta fundamentalmente por glicoproteínas. Un segundo estadio o fase II. En esta fase se observa la adhesión de unos determinados tipos de bacterias a la biopelícula previamente formada. Fase III. Se produce multiplicación bacteriana. Fase IV. Debido a la multiplicación bacteriana de la fase anterior y a la aparición de nuevas condiciones, se produce la coagregación de nuevas especies bacterianas.

- En los decenios de 1960 y 1970 se desarrollaron avances técnicos en los procedimientos empleados para aislar, cultivar e identificar los microorganismos periodontales.
- En 1970, en el congreso de Edimburgo, se definió la placa dental como microorganismos más polisacáridos extracelulares; esta placa dental estaba recubierta por leucocitos, células epiteliales y restos de comida.
- En los años 90, gracias al desarrollo y perfeccionamiento del microscopio confocal de láser, se llegó a un mejor conocimiento de la placa dental y de su estructura, y se desarrolló el modelo de la placa dental como biofilm ^(2,6). Los biofilm presentan unas características que plantean una serie de problemas en cuanto a su eliminación.
- En el decenio de 1990 la aplicación de técnicas moleculares a la identificación de microorganismos aceleró este proceso, y se reconoció una diversidad mayor de especies en el medio periodontal que la reconocida hasta entonces. ⁽³⁾

En la actualidad se investigan las propiedades de dichos gérmenes que les permiten funcionar como agentes nocivos, en el medio periodontal. Los avances tecnológicos en el campo de la microbiología molecular han mejorado la capacidad de detectar las bacterias específicas y sus productos, que podrían servir como marcadores de la afección activa o como recursos para anticipar la enfermedad subsecuente.

Placa Dental

El término *Placa Dental* define a los depósitos blandos que se adhieren a la superficie dentaria y a otras superficies duras de la boca y forman una biopelícula. La placa dental puede ser clasificada en placa supragingival la cual se encuentra localizada por arriba del margen de la encía, y placa subgingival que se ubica por debajo del margen de la encía entre el diente y tejido del surco. Así mismo, estudios morfológicos indican que dentro de la composición de placa ubicada en una misma zona, existe diferenciación entre sus regiones. Tal es el caso de la placa subgingival en la cual se observan diferencias claras entre las regiones vinculadas con el diente y aquellas relacionadas con el tejido. La placa dental está compuesta sobretodo por microorganismos (2×10^{11} bacterias en un gramo).⁽⁴⁾

Actualmente se acepta que la placa dental con su componente microbiológico es el factor etiológico primario de la enfermedad periodontal (Canton Quiñónez 1991). Pero la placa por si sola no produce daño, existe un equilibrio entre el huésped y la microbiota pero la falta de control microbial podría conducir a un desequilibrio entre la microbiota y el huésped debido a un incremento de la masa microbial y/o virulencia de los microorganismos presentes (Listgarden, 1988) ⁽⁵⁾

Si bien la enfermedad periodontal es multifactorial, esta no se produce en ausencia de placa. La eliminación de la placa conduce a la desaparición de los signos y síntomas (Loe y col.)⁽⁶⁾

Formación de la Placa Dental: Lo primero que se forma es la película adquirida de glicoproteínas que altera la energía superficial del diente y aumenta la eficiencia de la adhesión bacteriana. Esta película posee 10 micrones de espesor. Cuando se forma la película adquirida en el diente que se encuentra en un medio líquido, se produce polarización de la estructura dental y de las bacterias también. Cuando las bacterias se acercan al diente se produce una interacción conocida con el nombre de mínimo secundario y todavía se considera que esta etapa es reversible porque aún las bacterias no están unidas al diente. Las bacterias se unen al diente por mecanismos específicos (adhesinas). Se han realizado estudios que demuestran que existe una especificidad en los

mecanismos de adhesión de las bacterias a la superficie dentaria. Se establece entonces una relación de cooperatividad positiva entre la película adquirida y las bacterias en la cual se produce unión entre ambas en un punto específico. Un ejemplo de esto es el caso del *Actinomyces viscosus* que posee estructuras proteínicas fibrosas llamadas fimbrias que se extienden a partir de la superficie de la célula bacteriana ⁴ y reaccionan con los receptores específicos del diente que son residuos galactosílicos (Cisar y col) , residuos del ácido siálico, proteínas ricas en prolina o estarina (Clarck y col). ⁽⁶⁾

Luego que se forma la película adquirida, ésta es colonizada (colonización inicial) por especies como el *Streptococcus sanguis* y *Actinomyces viscosus* que son bacterias gram +. A ésta llegan otros microorganismos y se adhieren a las primeras especies de bacterias en colonizar por un fenómeno llamado coagregación. Se ha demostrado que existe una especificidad de adhesión entre una especie y otra (Kolenbander y Andersen), más aún, el mecanismo de adhesión de un determinado par de especies parece ser mediado por un receptor específico: interacciones adhesínicas. Muchas de estas interacciones son de tipo lectina ya que están basadas en la adhesión de una proteína específica en la superficie de una especie a hidratos de carbono específicos en la superficie de la otra (Kolenbrander y Andersen); un ejemplo de esto lo constituye la relación entre *streptococcus sanguis* –*Actinomyces viscosus*. ⁽⁶⁾

La relación entre la placa dental y la enfermedad periodontal es compleja y va a estar determinada por las características individuales del huésped y su capacidad de respuesta. ⁽⁵⁾

La respuesta del huésped (tejidos gingivales) ante los procesos inflamatorios e inmunes que constituyen los rasgos predominantes de la gingivitis y la periodontitis, se orienta hacia la protección de los tejidos contra el ataque de agentes microbianos para evitar que los microorganismos se extiendan o los invadan. En algunos casos las reacciones defensivas del huésped pueden ser perjudiciales para él mismo, puesto que la inflamación puede dañar células circundantes y al tejido conectivo. Así pues, los procesos defensivos pueden paradójicamente ser responsables de gran parte de la lesión tisular. ⁽⁶⁾

Inflamación Gingival: Ocurre entre los diez y veinte días de acumulación de placa (Van der Weidjen y col., 1994). Aún en esta etapa los signos clínicos son reversibles después de la eliminación de placa bacteriana con medidas de control eficaces (Loe y col., 1965). Las alteraciones clínicas pueden parecer sutiles pero histológicamente se presentan bastantes cambios. El infiltrado celular inflamatorio comprende principalmente linfocitos, macrófagos y neutrófilos y como existe un aumento en la infiltración celular, existe un cambio en la composición de los tejidos. ⁽⁶⁾

En 1976, Page y Schroeder clasificaron la progresión de la inflamación gingival y periodontal en función de la evidencia clínica e histopatológica en cuatro fases: inicial, temprana, establecida y avanzada. Consiguieron que en el hombre era casi imposible obtener estados histológicamente sanos, prístinos o sin infiltrado. ⁽⁶⁾

Lesión gingival inicial: histopatológicamente es evidente la dilatación de arteriolas, capilares y vénulas. La presión hidrostática dentro de la microcirculación crece y se forman brechas intercelulares entre las células endoteliales capilares adyacentes. El resultado es un incremento de la permeabilidad del lecho microvascular, de modo que se exudan líquidos, células de defensa (leucocitos) y proteínas (anticuerpos) hacia los tejidos. Los leucocitos migran por un gradiente quimiotáctico hacia el surco gingival. ⁽⁶⁾

Lesión gingival temprana: se produce aproximadamente siete días después de acumulación de placa. Los vasos por debajo del epitelio de unión permanecen dilatados, pero su cantidad aumenta debido a la apertura de lechos capilares previamente inactivos. Linfocitos y neutrófilos constituyen la infiltración leucocitaria predominante en esta etapa y se observan muy pocos plasmocitos en la lesión (Listgarten y Ellegaard, 1973, Payne y cols., 1975; Seymour y cols., 1983, Brex y cols., 1987). El infiltrado celular inflamatorio, en esta etapa, puede responder hasta del 15% del volumen del tejido conectivo. Dentro de la lesión, los fibroblastos degeneran; probablemente se produce esto por apoptosis y sirve para eliminar los fibroblastos del área, lo cual permite una mayor infiltración leucocitaria (Page y

Schroeder, 1976; Takahashi y cois., 1995) y esto permite la entrada de leucocitos y polimorfonucleáres. ⁽⁶⁾

Lesión gingival establecida: continúa la exposición a la placa durante más de tres semanas. Hay un incremento del exudado líquido y migración de leucocitos hacia los tejidos y la hendidura gingival. La lesión establecida, como la definieron Page y Schroeder, es dominada por los plasmocitos lo que constituye la principal característica de esta etapa. . La pérdida de colágeno continua en ambas direcciones, lateral y apical, al expandirse el infiltrado celular inflamatorio. El epitelio dentogingival continúa proliferando y se hace más permeable. ⁽⁶⁾

La lesión gingival / periodontal avanzada: es conocida como lesión avanzada. Se produce profundización del epitelio y el nicho ecológico se hace anaeróbico. La lesión avanzada tiene todas las características de la lesión establecida, pero difiere en forma importante en cuanto existe pérdida de hueso alveolar, el daño a las fibras es amplio, el epitelio de unión migra apicalmente desde el límite cementoadamantino y hay amplias manifestaciones de lesión tisular inflamatoria e inmunopatológica. ⁽⁶⁾

Estas manifestaciones de lesión que se producen a lo largo de todo el proceso de la enfermedad periodontal son dadas por ciertos mecanismos de daño tisular. Se conoce que la destrucción puede ser directa microbiana o indirecta a través del hospedero. La destrucción directa se debe a la elaboración de diversas sustancias por parte de las bacterias.

Elementos estructurales del microorganismo

Endotoxina. Posee una serie de actividades biológicas, consecuencia de acciones directas e indirectas por medio de la inflamación. Las más importantes a nivel periodontal son las siguientes:

- Produce de forma indirecta neutropenia al activar células que liberan mediadores, los cuales estimulan moléculas de adherencia leucocitaria y endoteliales.
- Agrega las plaquetas.
- Activa el factor XII (factor de Hageman) del sistema de coagulación, determinando una coagulación intravascular. Su activación es un factor importante en el proceso de la inflamación.
- Activa el complemento por la vía alternativa.
- Origina el fenómeno de Schwartzman localizado consecuencia de dos o más exposiciones a la endotoxina. y que determina necrosis tisular.
- Tiene efecto citotóxico sobre los fibroblastos.
- Inhibe el crecimiento de los fibroblastos.
- Induce la reabsorción ósea, por acción de la colagenasa, y sobre los osteoclastos del hueso alveolar.
- Determina la liberación de procolagenasas, prostaglandinas (PGE), interleucina ⁽¹⁾, factor de necrosis tumoral y factor de crecimiento transformante, especialmente por los macrófagos. ⁽⁶⁾
- Activa de forma policlonal los linfocitos B.
- Ejerce una acción tóxica sobre los macrófagos.
- Tiene capacidad de penetrar a través del epitelio.

Todas las bacterias gram negativas localizadas en el surco gingival están dotadas de endotoxinas, si bien la acción tóxica de las pertenecientes a los géneros *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Bacteroides* es más débil al carecer de heptosa y KDO.

Mureina. Induce distintos tipos de respuestas del hospedero, tales como la activación del complemento por la vía alternativa. La estimulación de la

reabsorción ósea. La inducción de los macrófagos para que produzcan PGE y colagenasa.

Cápsula. Ejerce una acción fundamentalmente antiopsonica. Siendo uno de los mecanismos de evasión de la respuesta del hospedero. En la placa subgingival no adherida al diente, no abundan precisamente las bacterias capsuladas; en este sentido sólo *P.gingivalis* posee un material capsular que podría tener esta acción.⁽⁷⁾

Fimbrias . No son propiamente elementos estructurales que induzcan directamente el proceso destructivo pero si de una forma indirecta. Efectivamente, gracias a ellas, las bacterias siguen adheriéndose a células y coagregándose .Prácticamente todas las bacterias periodontopatógenas poseen estos elementos, favoreciéndose, hasta cierto punto, su avance. Flagelos y estructuras relacionadas con la movilidad bacteriana asociada a flagelos, como en *Selenomonas* ,*Centipeda periodontii*, *Campilobacter* a estructuras filamentosas, que permiten un cierto desplazamiento como en *Eikenella corrodens* o *Capnocytophaga*, podría también ir ligada al avance tisular bacteriano en los tejidos periodontales.⁽⁷⁾

Enzimas

Asociadas con la destrucción tisular

- Colagenasas que actúan sobre el colágeno no modificado del tejido conectivo subepitelial, ligamento periodontal y hueso alveolar (*P.gingivalis*, *Actinomyces comitans*)⁽⁶⁾
- Tripsinas que actúan sobre el colágeno alterado (*P. gingivalis*. *T. dentícola* *B. forsythus* y *Capnocytophaga*).
- Estimuladoras de la liberación de procolagenasas por los neutrófilos y fibroblastos. ⁽⁶⁾
- Hialuronidasa que favorece la difusión tisular microbiana por el tejido conectivo, por ende, su desorganización al despolimerizar el ácido hialurónico (*P. gingivalis*, *Propionibacterium acnes* , *Propionibacterium*

granulosum).

- Fosfolipasa A. que actúa como precursor de las prostaglandinas.
- Fosfatasa ácida y alcalina que determinan pérdida de hueso alveolar (*P. gingivalis*, *P. Assacharolytica*).
- Condroitinsulfatasa, que atacan al condroitin sulfato B, presente en el tejido conectivo (*P. gingivalis*).
- Otras como gelatinasa, aminopeptidasas, ADNasas, ARNasas, keratinasas y fibrinolisin. Producidas por diversas bacterias periodontopatógenas.
- Asociadas con alteración de los mecanismos defensivos del huésped.
- Neuraminidasas que hidrolizan glucoproteínas séricas (*B. Forsythus*).
- Destrucción de inmunoglobulinas y fracciones del complemento. ⁷

Metabolitos

Muchas bacterias periodontopatógenas producen una amplia gama de productos metabólicos finales, que pueden ser tóxicos para los tejidos del huésped: indol, sulfhídrico, amoníaco, aminas como cadaverina y putrescina, compuestos volátiles del azufre, ácidos grasos de cadena corta como butírico y propiónico. ⁽⁷⁾

Citotoxicidad

Sobre los neutrófilos actúa la leucotoxina de *A. actinomicetemcomitans* sobre linfocitos y monocitos, productos solubles elaborados por *C. peridontii*. También debe destacarse que las bacterias como *A. actinomicetemcomitans*, *A. viscosus* y *Capnocytophaga* poseen factores que inhiben la proliferación de los fibroblastos y, por tanto, la síntesis de colágeno, interfiriendo la reparación tisular. ⁽⁷⁾

Activación de los linfocitos B

Las células plasmáticas forman anticuerpos no relacionados con el agente

inductor. Se producen inmunocomplejos que activan el complemento, mientras que los linfocitos pueden, por otra parte, liberar citocinas. ⁽⁷⁾

Inhibición de la proliferación de linfocitos B

Así actúan sustancias elaboradas por *P. melaninogénica* y *Prevotella loescheii* y, por tanto ejercen un efecto inhibitorio de la síntesis de anticuerpos. ⁽⁷⁾

Activación de los T supresores

Algunas cepas de *A. actinomicetemcomitans*, producen una disminución en la síntesis de anticuerpos, pero por activación de linfocitos T supresores. El aumento de estas células puede ser particularmente importante, retardando o reduciendo la respuesta inmunitaria humoral, especialmente en los inicios de la periodontitis cuando todavía no se han alcanzado altos niveles de anticuerpos protectores. ⁽⁷⁾

Inhibición quimiotáctica de los neutrófilos

Son factores no tóxicos, que hacen que al no ser atraídos al foco los neutrófilos, éstos no puedan llevar a cabo sus funciones fagocíticas. ⁽⁷⁾

Resistencia a Antibióticos

La resistencia a los antibióticos fue descrita por primera vez en el año de 1912 por Morgenth y Kaufmann, posteriormente en otras partes del mundo se reportó la existencia de bacterias resistentes a penicilina ⁽⁸⁾ y a estreptomicina ⁽⁹⁾.

El uso de los antibióticos para uso humano, ha ocasionado la selección de bacterias resistentes a estos agentes (Kuperstoch-Portnoy, 1981)

El uso indiscriminado de los antimicrobianos puede seleccionar cepas multiresistentes a estos agentes, las cuales pueden tener grandes efectos de salud sobre la población.

La alta frecuencia de cepas bacterianas resistentes a antibióticos debido a que poseen plásmidos representa un serio problema, la presencia de plásmidos constituye una grave fuente de discriminación de la resistencia, toda vez, que muchos plásmidos que confieren resistencia a antibióticos son capaces de transferirse a otras bacterias de la misma especie, de especies distintas, e incluso, de géneros diferentes.

Mecanismo de acción de los antimicrobianos y Mecanismos de resistencia bacteriana.

El uso indiscriminado de los antibióticos constituye un factor importante en la selección de cepas resistentes, siendo frecuente que las cepas resistentes posean plásmidos que les confiere este fenotipo. ⁽¹⁰⁾

La resistencia a antibióticos mediada por plásmidos fue descrita por primera vez en Japón (Watanabe, 1963).

Se ha descrito que los mecanismos de resistencia a antibióticos mediados por plásmidos pueden agruparse en 4 categorías: ⁽¹¹⁾

- A) Inactivación del antibiótico.
- B) Alteración del sitio blanco que actúa como receptor al antibiótico
- C) Discriminación del transporte del antimicrobiano al interior de la célula
- D) Síntesis de la vía alterna no sensible al fármaco.

TABLA1. Los mecanismos de resistencia y los mecanismos de acción de los principales grupos de antibióticos se aprecian en la siguiente tabla:

ANTIBIOTICOS	MECANISMOS DE ACCION	BLANCO DE ACCION	MECANISMOS DE RESISTENCIA	BASE GENÉTICA
β-Lactamasa • Penicilinas • Cefalosporinas	Inhibición de la síntesis de la pared celular.	Proteínas de unión de la penicilina (PBPs)	<ul style="list-style-type: none"> Hidrólisis del anillo β-Lactámico. Alteración del blanco (PBPs). 	Plásmidos y cromosomas.
Macrólidos y Lincosamidas.	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	<ul style="list-style-type: none"> Multiplicación del material 23s (metilasa) Hidrólisis de la lactona de eritromicina (eritromicinesterasa) 	Plásmidos cromosomas.
Cloranfenicol	Inhibición de la síntesis de proteínas	Subunidad 50s del ribosoma	<ul style="list-style-type: none"> Modificación del antibiótico evitando su unión al ribosoma (cloranfenicol acetil transferasa) 	Plásmido
Aminoglucósidos Streptomina	Inhibición de la síntesis de proteínas.	Subunidad 50s del ribosoma	<ul style="list-style-type: none"> Modificación del antibiótico impidiendo su transporte (acetil transferasa, fosfatidil transferasa, adenil transferasa metilasa). Modificación de la subunidad 50s del ribosoma. Disminución de la captación por la célula. 	Plásmidos cromosomas. Plásmido Cromosoma
Quinolonas y ácido nalidixico	Inhibición de la Replicación, Transcripción y Superenrollamiento del ADN	ADN girasa	<ul style="list-style-type: none"> Mutación sobre ADN girasa (ADN girasa) Disminución de la permeabilidad Eflujo 	Cromosoma Cromosoma Cromosoma
Tetraciclina	Inhibición de la síntesis de proteínas. Inhibición de la síntesis de proteínas.	Proteína de la subunidad ribosómica 30s	<ul style="list-style-type: none"> Interferencia con el transporte de la droga (proteínas inducibles) 	Plásmido
Sulfonamidas Trimetoprim	Inhibición de la síntesis de ácido fólico.		<ul style="list-style-type: none"> Síntesis de vía alterna no sensible al fármaco. 	Plásmido

Amabile 1988.

Muchas hierbas tienen ciencia sólida detrás de ellas por lo que es importante especificar los efectos que produce *Echinacea Angustifolia* en la enfermedad

periodontal Al ser una planta muy extendida en las praderas centrales de Estados Unidos, los indios americanos ya la utilizaban y conocían sus poderes curativos, como es el caso de la tribu de los comanches que la utilizaban para aliviar el dolor de muelas y de garganta. También los sioux la utilizaban para combatir la rabia y las mordeduras de serpiente, teniendo su explicación en las excelentes propiedades fungicidas y bactericidas que la planta posee. La *Echinacea* es utilizada por la homeopatía para combatir infecciones. ⁽¹²⁾

Uso histórico o tradicional

La *Echinacea* es una planta medicinal que en pocos años se convirtió en el medicamento fitoterapéutico más prescrito en Europa y los EE.UU. para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades infecciosas, además del envenenamiento. Desde su descubrimiento, la acción terapéutica de esta hierba ha impresionado a los médicos que la prescriben.

En el pasado era difícil entender porqué esta planta medicinal es útil para tantos padecimientos. Este enigma se resolvió con el descubrimiento del sistema inmunológico. En la actualidad, sabemos que la *Echinacea* estimula a nuestro sistema inmunológico y de esta manera nuestro cuerpo tiene una mayor habilidad para combatir a las infecciones. En estos tiempos, donde la contaminación en el aire, el agua, la tierra y los alimentos es algo muy frecuente, necesitamos cuidar muy bien a nuestro sistema inmunológico. Un método eficaz para evitar, sobre todo en el invierno, la recurrencia de catarras y resfriados, es el uso de esta planta medicinal. Es una alternativa natural y efectiva de los antibióticos para tratar infecciones del tracto urinario, las amígdalas, la piel y las encías. Cuando aparecieron los antibióticos, la popularidad de la *Echinacea* disminuyó mucho en los EE. UU. Sin embargo, en Alemania no sucedió lo mismo, donde se siguió utilizando muy frecuentemente para el tratamiento de padecimientos inflamatorios y algunas infecciones virales.

Después de muchos estudios, la Comisión E de Alemania reconoció a la *Echinacea* como una planta aprobada y efectiva en 1989. En las plantas

medicinales existen uno o varios principios activos. Estos principios activos son las sustancias que le dan la capacidad terapéutica de la planta. Los científicos deben en primer lugar aislar a estos principios activos y luego comparar con los principios activos de otras plantas medicinales. Después se hacen pruebas para confirmar los efectos farmacológicos de cada uno de ellos. Los químicos a través de un arduo y minucioso trabajo sobre los principios activos de la *Echinacea*, han logrado aislar varios compuestos, de los cuales, algunos son exclusivos de ciertas especies de *Echinacea*. En la mayoría de las ocasiones, se ha podido descubrir cuáles son los efectos farmacológicos de cada uno de estos compuestos. ⁽¹³⁾

Sin lugar a duda se trata de una de las plantas medicinales de la familia de las compuestas que más expectativas ha levantado en los últimos tiempos en la fitoterapia y la medicina natural. Considerada como el estimulante inmunitario más importante en la medicina natural practicada en Occidente. Incluso ha levantado polémicas en lo que se refiere a sus propiedades que afectan al sistema inmunitario. ⁽¹²⁾

ECHINACEA ANGUSTIFOLIA

Familia a la que pertenece: compuestas

Lugares donde se cría: llanuras, praderas, bancos de arena, colinas secas y calcáreas de E. U sobre todo en los estados más occidentales, entre Illinois y Nebraska aunque también se extiende hacia el sur hasta Missouri, Louisiana, Oklahoma, Kansas, Florida, Texas y México

Parte medicinal utilizada: El tallo de la raíz

Altura de la planta: hasta 1 metro

Sus hojas: enteras, estrechamente lineares-lanceoladas, pubescentes, con tres nervaduras

Flores: las flores del disco son tubulares y de color amarillo pálido, el disco floral es rígido y hasta espinoso

El fruto: tetraquenio espinoso

Floración: entre junio y agosto ⁽¹⁴⁾

Partes usadas y donde crece:

Echinacea es natural de la flora silvestre de Norteamérica. Mientras que la *Echinacea* continúa creciendo y se cosecha salvaje, la mayoría de la usada para los suplementos herbarios es de las plantas cultivadas. La raíz o la parte sobre el suelo de la planta durante la fase floreciente del crecimiento se utilizan medicinalmente. (13)

Recolección: La *Echinacea* se recolecta por completo raíz incluida cuando se encuentra en plena floración. Ello se realiza preferiblemente entre las 11 y 12 del mediodía y en día soleado. El secado se realiza a la sombra con las plantas atadas en manojos y boca abajo. Posteriormente y cuando ya está bien seca y limpia de polvo y tierra, se tritura hasta convertir la raíz en un fino polvo

SUS PRINCIPALES COMPONENTES

Los compuestos hidrosolubles (solubles en agua) y los liposolubles (solubles en grasa). La mayoría de los investigadores concuerdan en que los 2 tipos de principios activos (los hidro y los liposolubles) estimulan la respuesta del sistema inmunológico. Gracias a todo este conocimiento, en nuestros días se manufacturan muchos productos herbales que contienen *Echinacea*. La principal indicación para el uso terapéutico de la *Echinacea* es en las enfermedades infecciosas.

En las raíces (Los componentes que a continuación detallamos, es posible que se encuentren en otras partes de la planta, además de las raíces.

Glucósidos (1%)

- echinacósido (0,1%)
- echinaceína
- n-isobutildodecatetraeno-amida (neoherculina)

Aceite esencial (1,25%)

- beta-cariofilina (18%)
 - terpenos (mirceno, pineno, tuyona)
 - geranil-isobutirato (61%)
 - geranil-acetato
 - geranil-propionato
- Ácidos grasos
- ácido oleico
 - ácido linoleico
 - ácido cerótico
 - ácido palmítico
- Fitosteroles
- sitosterol
 - sitosterol-3-d-glucósido
 - estigmasterol
- Alcaloides (0,0065%)
- tussilagina
 - isotussilagina
- Betaína (1%)
- resinas (2%)
 - ácido cichórico
 - derivados poliacetilénicos insaturados
- Flavonoides
- Taninos
- Inulina
- Pentosanós

- Azúcares reductores
- Vitamina C

- Flores: contienen un 0,28% de un aceite esencial de composición similar al de las raíces ⁽¹⁴⁾

Componentes activos: *Echinacea* utiliza el sistema inmune. Varios componentes en la *Echinacea* se unen para aumentar la producción y la actividad de las células blancas de la sangre (linfocitos y macrófagos). Los tres grupos principales de componentes responsables son alkylamides/polyacetylenes, derivados del ácido cafeico, y polisacáridos. *Echinacea* también aumenta la producción del interferón, una parte importante de la respuesta del cuerpo a la infección viral tales como resfriados y gripe ⁽¹⁵⁾

La creencia es que la *Echinacea* actúa sobre todo activando las células blancas de la sangre, según lo mencionado arriba. Se ha mostrado específicamente activa una clase importante de las células blancas de la sangre bien conocidas como células asesinas naturales. ⁽¹⁶⁾

Varios estudios doble-ciego han confirmado la ventaja de la *Echinacea* para tratar y prevenir los resfriados la gripe ⁽¹⁷⁾ En términos de otros tipos de las infecciones, investigación en Alemania usando formas inyectables o una preparación oral de la hierba junto con una crema medicinal redujeron la repetición de las infecciones vaginales por hongos comparadas a las mujeres dadas la crema solamente.

En muchos estudios se ha demostrado que la *Echinacea* estimula en forma importante a los macrófagos (células del sistema de defensa que rápidamente emigran al sitio de la infección para detener a las bacterias) y aumentan su efectividad (inmuno competencia).⁽¹⁸⁾

PROPIEDADES MEDICINALES DE LA ECHINÁCEA

Estimulante inmunitario

Fungicida y bactericida

Sialagogo (estimulante de la secreción salivar)

Antidiarreico

Antigripal

Antiinflamatorio

Antibiótico

Desintoxicante

Antiviral

Cicatrizante

Purificadora de la sangre

Antialérgico

Sudorífico

Antiséptica y vulneraria (uso externo)

INDICACIONES

Para potenciar el sistema inmunitario (debido a una activación de los fibroblastos)

Cáncer

Enfermedades infecciosas de repetición que son causadas por disminución de las defensas orgánicas

Amigdalitis

Faringitis

Laringitis

Estados gripales

Afecciones del tracto respiratorio

Diarrea

Colitis repetitivas

Estomatitis ulcerosa

Gonorrea

Sífilis

Salpingitis

Flemones dentarios

Abscesos postquirúrgicos

Úlceras y llagas supuradas (por vía externa)

Heridas (por vía externa)

Forúnculos (por vía externa)

CONTRAINDICACIONES

No se conocen efectos tóxicos o secundarios en el organismo humano. Su contenido en alcaloides pirrolizidínicos, los cuales son tóxicos para el hígado, son tan insignificantes que no supone problema alguno de toxicidad. ⁽¹⁴⁾

Sin embargo su uso no debe prolongarse a más de dos meses dado que superado este periodo su poder para aumentar las defensas decrece es mejor dejar reposar el organismo durante 1 semana antes de continuar con el tratamiento.

No debe administrarse a personas autoinmunes lupus esclerosis artritis reumatoide y tuberculosis. Su uso en pacientes con VIH no está muy claro puede ser perjudicial.

La gente es más probable experimentar reacciones alérgicas al *Echinacea* si ella es alérgica a las plantas relacionadas en la familia de la margarita, que incluye ragweed, a los crisantemos, a las maravillas, y a las margaritas. También, la gente con asma o el atopy (una tendencia genética hacia reacciones alérgicas) puede ser más probable tener una reacción alérgica al tomar *Echinacea*. ⁽¹³⁾

¿Hay efectos secundarios o interacciones? *Echinacea* es esencialmente no tóxico cuando se toma oralmente. No hay contraindicaciones conocidas al uso del *Echinacea* durante embarazo o la lactancia.

Algunos medicamentos pueden interactuar con *Equinacea*.

Son mucho más polémicos y discutidos los fármacos que elaboran los grandes laboratorios y no hablar de los efectos secundarios, de los cuales prácticamente carece la *Equinacea*.⁽¹³⁾

La introducción de la *Equinacea* en la farmacopea se debe a los famosos farmacéuticos americanos John King y Kohn Uri Lloyd que en 1887 recibieron del doctor Meyer un remedio denominado "purificador de la sangre de Meyer", que fue realizado a partir de esta planta. La escuela de medicina ecléctica, representada sobre todo por el doctor John King y que tuvo su auge en Estados Unidos a principios de este siglo y finales del anterior, hizo de esta planta un tratamiento de primer orden, si bien no se empezó a incluir en algunas farmacopeas, especialmente la norteamericana, hasta los años 50.

USOS DE LA EQUINÁCEA

En tintura madre: hasta 30 gotas 3 veces al día

En Extracto fluído: hasta 1 g por dosis

En extracto blando: hasta 0,1 g por dosis⁽¹³⁾

Función inmunológica

Varios componentes de la *Equinacea* funcionan conjuntamente para aumentar la producción y la actividad de los glóbulos blancos (linfocitos y macrófagos) de la sangre. Se ha demostrado específicamente que la *Equinacea* activa una clase importante de leucocitos conocidos como células T citolíticas (asesinas naturales). También aumenta la producción de interferón, un elemento importante de la respuesta del organismo a las infecciones virales, como los resfriados y la gripe.⁽¹⁹⁾

Entre los principales efectos fisiológicos de la Echinacea, se encuentran los siguientes:

Es antiviral, es anti-cándida, inhibe el crecimiento tumoral, promueve la inmunidad celular general, tiene una acción parecida al interferón, estimula la producción de

gamma globulinas α 1 y α 2, tiene un efecto antiinflamatorio, estimula el crecimiento de tejido nuevo sano, tiene un ligero efecto antibiótico, inhibe la hialuronidasa (al hacerlo ayuda a proteger a las células durante la infección y previene que la bacterias entren en primer lugar), aumenta el poder fagocítico de las células de defensa y estimulan los leucocitos (células sanguíneas blancas). Al ver los mecanismos de acción de la *Echinacea*, entramos a un tema muy interesante, por ejemplo, en una herida o en una quemadura, lo que hace la *Echinacea* es activar a los fibroblastos (células que desarrollan el tejido conectivo) transformándolas en células que a su vez producen ácido hialurónico. Esto es muy importante ya que el ácido hialurónico es un agente protector y de unión del tejido conectivo. Durante las infecciones, se puede liberar la enzima hialuronidasa, lo cual, hace que la infección literalmente se vaya abriendo paso para invadir a nuestro cuerpo.

La *Echinacea* activa a las células sanguíneas blancas fagocíticas (que ingieren partículas) lo mismo que a los histiocitos (las células del tejido conectivo con la habilidad de movimiento ameboideo y actividad fagocítica). Los componentes de la *Echinacea* estimulan también la regeneración celular y las células epidérmicas. La *Echinacea* es un inmunoestimulante. Los inmunoestimulantes son agentes que estimulan al sistema inmunológico de una manera no específica. Los efectos farmacológicos de los inmunoestimulantes se acaban relativamente rápido y tienen que ser administrados muy frecuentemente o inclusive a veces en forma continua. Son factores importantes, en la inmunoestimulación, un aumento en la fagocitosis (por los macrófagos) y los granulocitos. ⁽²⁰⁾

Los inmunoestimulantes podrían llegar a convertirse en una alternativa o al menos en un coadyuvante de la quimioterapia y pueden ayudar a prevenir infecciones al activar al sistema inmunológico en personas cuya respuesta inmunológica haya sido menguada. En 1981 los investigadores H. Wagner y A. Proksch del Instituto de biología farmacéutica de la Universidad de Munich publicaron su encuentro sobre el descubrimiento de 2 polisacáridos en la *Echinacea* purpúrea que estimularon la actividad de las células T del 20 al 30 % más que cualquier otro

estimulador de las células T altamente potente. Las células T son un tipo de células sanguíneas blancas (leucocitos) categorizados como linfocitos. Son producidos en la médula ósea, la glándula del timo y otros tejidos linfoides. Son almacenadas en los nódulos linfáticos y el bazo. Viajan al sitio de las infecciones, se combinan con antígenos y liberan varios químicos que son en parte responsables de la inmunidad mediada por las células.

Entre otras cosas, los polisacáridos estimulan a los macrófagos a que produzcan factor de necrosis tumoral alfa (TNF), interleucina 1 e interferón beta. En un artículo publicado en el Journal of the National Cancer Institute (1989) se reportó sobre los efectos de un polisacárido de la *Echinacea* purpúrea altamente purificado (arabinogalactano), el cual, según sugerencias de los autores, puede tener implicaciones en la defensa contra tumores y enfermedades infecciosas. Existen algunos estudios clínicos que demuestran que la *Echinacea* puede aumentar la efectividad de las cremas antimicóticas estándares en el tratamiento de las infecciones recurrentes vaginales por levaduras, particularmente por *Cándida albicans*. Por ejemplo, a un grupo de 203 mujeres con este problema de la candidiasis vaginal recurrente se les administró el antimicótico convencional comúnmente prescrito y tuvieron una tasa de recurrencia del 60.5 % en sus infecciones. En cambio, las mujeres que además del tratamiento convencional, recibieron la *Echinacea*, tuvieron una tasa de tan sólo el 16.7 % de recurrencia.⁽²⁰⁾

Maura Espejel Mejía, académica de la Carrera de Cirujano Dentista de la Facultad de Estudios superiores Iztacala, recibió de la Red Global de Mujeres inventoras e innovadoras del Reino Unido y del Instituto Nacional de las Mujeres el Premio MEXWII 2006, por la creación del primer enjuague bucal homeopático desarrollado en México para tratar la gingivitis. Proceso este medicamento homeopático durante su estancia en la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del Instituto Politécnico Nacional.⁽²¹⁾

Explicó que el enjuague se elabora a base de la planta *ECHINACEA ANGUSTIFOLIA*, por sus propiedades es utilizada actualmente para tratar enfermedades respiratorias, debido a que activa al sistema inmunológico.

Al referirse a los efectos que produce en la cavidad oral esta planta preparada homeopáticamente, cumple con funciones antisépticas, estimulación de la secreción salival, antiinflamatorio, cicatrizante y bactericida.

Comentó que esta solución bucal, además de tratar la **gingivitis, disminuye la placa dentobacteriana y la halitosis bucal.**

El enjuague se utiliza tres veces al día después del cepillado diluido en 10 mL de agua (20 gotitas) manteniéndolo en la boca durante 1 minuto. Es importante no ingerir alimentos hasta después de media hora de su uso, aunque para mantener una boca sana es necesario combinar este enjuague con una adecuada técnica de cepillado.⁽²²⁾

El objetivo de este trabajo fue probar el efecto de la *Equinacea Angustifolia* sobre las bacterias aerobias asociadas con la enfermedad periodontal aisladas de la biopelícula dentobacteriana.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En la boca los dientes aportan superficies duras, que permiten el desarrollo de extensos depósitos bacterianos. La acumulación y el metabolismo de las bacterias sobre las superficies bucales están considerados como la causa primaria de la caries y la enfermedad periodontal, La eliminación de la placa conduce la desaparición de los signos clínicos de esa inflamación. Los estudios clínicos han demostrado que la eliminación mecánica diaria de la placa microbiana en la mayoría de los pacientes previene ulteriores enfermedades dentarias.

La eliminación mecánica habitual de todos los depósitos microbianos de las superficies bucales constituye el medio primario de prevención de la enfermedad.

Por ello es muy importante controlar la placa dentobacteriana ya que a pesar de la gran variedad de enjuagues que hay en el mercado no hay enjuagues a base de medicamentos homeopáticos.

Definición conceptual:

La Inflamación gingival es una alteración visible de los tejidos secundaria a los cambios en la permeabilidad vascular y la dilatación de los vasos, a menudo con infiltración de los leucocitos en los tejidos afectados. Estos cambios producen el eritema, edema, calor, dolor y pérdida de la función. Estas reacciones inflamatorias son inducidas por microorganismos presentes en la placa dental.

La placa dental son depósitos blandos que forman una biopelícula adquirida a la superficie dentaria u otras superficies duras de la boca. La biopelícula está relacionada con el huésped. La comunidad de la biopelícula se forma en un principio por interacciones físicas y fisiológicas entre especies diferentes en la masa bacteriana.

Definición Operacional:

➤ **Índice Gingival (1963) Loe**

Técnica para valorar la intensidad y la calidad de la inflamación gingival. Los valores de las 4 zonas (Vestibular palatino o lingual, mesial y distal) se suman se dividen entre 4 para dar un valor al diente. El Índice gingival de un paciente se obtiene mediante la suma de los valores de los dientes y la división por el número de dientes examinados.

➤ **Registro de control de Placa (Índice de O`Leary)**

- 1) Se aplica una sustancia reveladora a todas las superficies dentales.
- 2) El paciente se enjuaga con la sustancia reveladora
- 3) Se registra la placa marcando el cuadro apropiado en un esquema.
- 4) Se califica todos los dientes se calcula en dientes dividiendo la cantidad de superficies con placa entre el número total de superficies y seguida se multiplica por 100 a fin de obtener un porcentaje de la superficie con la placa.

➤ **Índice Gingival (1963) Loe y silness**

Técnica para valorar la intensidad y la calidad de la inflamación gingival. Los valores que se van a tomar de los pacientes en 4 zonas (Vestibular, palatino o lingual, mesial y distal) se suman se dividen entre 4 para dar un valor al diente.

Se tomará el índice gingival antes de tomar el enjuague y al finalizar el tratamiento se realizara una última revisión, registrando los cambios con el fin de compararlo con el estado inicial. Los datos obtenidos se vaciaran en un odontograma por paciente.

El Índice gingival de un paciente se obtendrá mediante la suma de los valores de los dientes y la división por el número de dientes examinados.

Los criterios tomados serán los siguientes:

CRITERIOS PARA EL INDICE GINGIVAL

PUNTOS	CRITERIOS
0	Encía normal. Ausencia de inflamación
1	Inflamación Leve. Cambio leve de color y edema ligero, sin hemorragia la sondeo.
2	Inflamación Moderada: Enrojecimiento, edema y brillo. Hemorragia al sondeo.
3	Inflamación Intensa. Enrojecimiento, edema intenso, ulceración. Hemorragia espontánea.

Se tomará el control de placa antes de tomar el enjuague y cada 15 días se harán las mediciones para el control de PDB. Al final del tratamiento, registrando el porcentaje con el fin de compararlo con el estado inicial. Los datos obtenidos se vaciaran en un odontograma para cada paciente.

➤ **Registro de control de Placa (Indice de O`Leary)**

- 1) Se aplica una sustancia reveladora (Fuccina) a todas las superficies dentales.
- 2) El paciente se enjuaga con la sustancia reveladora
- 3) Se registra la placa marcando el cuadro apropiado en un esquema.
- 4) Se califica todos los dientes, se calcula en dientes dividiendo la cantidad de superficies con placa entre el numero total de superficies y seguida se multiplica por 100 a fin de obtener un porcentaje de la superficie con la placa.
- 5) Un objetivo razonable para los pacientes es 10% o menos de superficies con placa. Es muy difícil obtener un porcentaje perfecto de cero.



INDICE DE PLACA

PACIENTE: _____

Exp. _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Fecha _____

Indice _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Fecha _____

Indice _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Fecha _____

Indice _____

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

Fecha _____

Indice _____

OBJETIVO GENERAL:

- Analizar los efectos que produce Echinacea Angustifolia en bacterias aerobias de la biopelícula dental.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Identificar en que circunstancias se puede usar la Echinacea Angustifolia
- Distinguir las ventajas y desventajas del uso de la Echinacea Angustifolia.
- Mencionar si existen contraindicaciones para usar el enjuague con Echinacea Angustifolia
- Comparar con otros antibióticos la eficacia de la Echinacea Angustifolia.

HIPOTESIS:

Hi: El enjuague con Echinacea Angustifolia es más efectivo para disminuir placa bacteriana e inflamación después de la técnica de cepillado que en pacientes que no lo usan.

Ho: El enjuague con Echinacea Angustifolia no es más efectivo para disminuir placa bacteriana e inflamación después de la técnica de cepillado que en pacientes que no lo usan.

JUSTIFICACION:

Con frecuencia nos enfrentamos a un problema ¿Qué hacer para minimizar la placa bacteriana, el proceso inflamatorio? Aparte de que el paciente efectúe una técnica de cepillado específica.

Existen muchos medicamentos para el tratamiento bacteriano y antiinflamatorio, los cuales al administrarse con un periodo prolongado de tiempo pueden efectuar reacciones adversas.

En la actualidad existe una amplia gama de plantas medicinales es por ello que por medio de una investigación se hará un estudio comparativo de la eficacia de la Echinacea Angustifolia debido a sus propiedades que tiene como función antiséptica, antiinflamatoria, cicatrizante estimula la secreción salival y bactericida.

MARCO TEORICO

Muchas hierbas tienen ciencia sólida detrás de ellas por lo que es importante especificar los efectos que produce *Echinacea Angustifolia* en la enfermedad periodontal ya que los enjuagues con *Echinacea* resultan adecuados para el tratamiento de las encías inflamadas se realizan enjuagues. Diluir unas gotas de tintura en agua y realizar enjuagues bucales. En casos de inflamación aguda de las encías, 0.5 ml de la mezcla de hierbas en medio vaso de agua tres veces al día es lo que recomiendan algunos herbolarios. Esta preparación debe pasarse varias veces despacio de un lado a otro de la boca antes de escupirla. Para evitar la recurrencia, puede usarse la misma cantidad de la mezcla con menos frecuencia. ⁽¹⁾

Al ser una planta muy extendida en las praderas centrales de Estados Unidos, los indios americanos ya la utilizaban y conocían sus poderes curativos, como es el caso de la tribu de los comanches que la utilizaban para aliviar el dolor de muelas y de garganta. También los sioux la utilizaban para combatir la rabia y las mordeduras de serpiente, teniendo su explicación en las excelentes propiedades fungicidas y bactericidas que la planta posee. La *Echinacea* es utilizada por la homeopatía para combatir infecciones. ⁽²⁾

Uso histórico o tradicional

La *Echinacea* es una planta medicinal que en pocos años se convirtió en el medicamento fitoterapéutico más prescrito en Europa y los EE.UU. para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades infecciosas, además del envenenamiento. Desde su descubrimiento, la acción terapéutica de esta hierba ha impresionado a los médicos que la prescriben.

En el pasado era difícil entender porqué esta planta medicinal es útil para tantos padecimientos. Este enigma se resolvió con el descubrimiento del sistema inmunológico. En la actualidad, sabemos que la Echinacea estimula a nuestro sistema inmunológico y de esta manera nuestro cuerpo tiene una mayor habilidad para combatir a las infecciones. En estos tiempos, donde la contaminación en el aire, el agua, la tierra y los alimentos es algo muy frecuente, necesitamos cuidar muy bien a nuestro sistema inmunológico. Un método eficaz para evitar, sobre todo en el invierno, la recurrencia de catarros y resfriados, es el uso de esta planta medicinal. Es una alternativa natural y efectiva de los antibióticos para tratar infecciones del tracto urinario, las amígdalas, la piel y las encías. Cuando aparecieron los antibióticos, la popularidad de la Echinacea disminuyó mucho en los EE. UU. Sin embargo, en Alemania no sucedió lo mismo, donde se siguió utilizando muy frecuentemente para el tratamiento de padecimientos inflamatorios y algunas infecciones virales.

Después de muchos estudios, la Comisión E de Alemania reconoció a la Echinacea como una planta aprobada y efectiva en 1989. En las plantas medicinales existen uno o varios principios activos. Estos principios activos son las sustancias que le dan la capacidad terapéutica de la planta. Los científicos deben en primer lugar aislar a estos principios activos y luego comparar con los principios activos de otras plantas medicinales. Después se hacen pruebas para confirmar los efectos farmacológicos de cada uno de ellos. Los químicos a través de un arduo y minucioso trabajo sobre los principios activos de la Echinacea, han logrado aislar varios compuestos, de los cuales, algunos son exclusivos de ciertas especies de Echinacea. En la mayoría de las ocasiones, se ha podido descubrir cuáles son los efectos farmacológicos de cada uno de estos compuestos. ⁽³⁾

Sin lugar a duda se trata de una de las plantas medicinales de la familia de las compuestas que más expectativas ha levantado en los últimos tiempos en la fitoterapia y la medicina natural. Considerada como el estimulante inmunitario más importante en la medicina natural practicada en Occidente. Incluso ha levantado

polémicas en lo que se refiere a sus propiedades que afectan al sistema inmunitario. ⁽²⁾

ECHINACEA ANGUSTIFOLIA

Familia a la que pertenece: compuestas

Lugares donde se cría: llanuras, praderas, bancos de arena, colinas secas y calcáreas de EE.UU sobre todo en los estados más occidentales, entre Illinois y Nebraska aunque también se extiende hacia el sur hasta Missouri, Lousiana, Oklahoma, Kansas, Florida, Texas y México

Parte medicinal utilizada: El tallo de la raíz

Altura de la planta: hasta 1 metro

Sus hojas: enteras, estrechamente lineares-lanceoladas, pubescentes, con tres nerviaciones

Flores: las flores del disco son tubulares y de color amarillo pálido, el disco floral es rígido y hasta espinoso

El fruto: tetraquenio espinoso

Floración: entre junio y agosto ⁽⁴⁾

Partes usadas y donde crece:

Echinacea es natural de la flora silvestre de Norteamérica. Mientras que la Echinacea continúa creciendo y se cosecha salvaje, la mayoría de la usada para los suplementos herbarios es de las plantas cultivadas. La raíz o la parte sobre el suelo de la planta durante la fase floreciente del crecimiento se utiliza medicinalmente. ⁽³⁾

Recolección: La Equinacea se recolecta por completo raíz incluida cuando se encuentra en plena floración. Ello se realiza preferiblemente entre las 11 y 12 del mediodía y en día soleado. El secado se realiza a la sombra con las plantas atadas en manojos y boca abajo. Posteriormente y cuando ya está bien seca y limpia de polvo y tierra, se tritura hasta convertir la raíz en un fino polvo

SUS PRINCIPALES COMPONENTES

Los compuestos hidrosolubles (solubles en agua) y los liposolubles (solubles en grasa). La mayoría de los investigadores concuerdan en que los 2 tipos de principios activos (los hidro y los liposolubles) estimulan la respuesta del sistema inmunológico. Gracias a todo este conocimiento, en nuestros días se manufacturan muchos productos herbales que contienen Echinacea. La principal indicación para el uso terapéutico de la Echinacea es en las enfermedades infecciosas.

En las raíces (Los componentes que a continuación detallamos, es posible que se encuentren en otras partes de la planta, además de las raíces.

- Glucósidos (1%)
 - echinacósido (0,1%)
 - echinaceína
 - n-isobutildodecatetraeno-amida (neoherculina)

- Aceite esencial (1,25%)
 - beta-cariofilina (18%)
 - terpenos (mirceno, pineno, tuyona)
 - geranil-isobutirato (61%)
 - geranil-acetato
 - geranil-propionato

- Ácidos grasos

- ácido oleico
 - ácido linoleico
 - ácido cerótico
 - ácido palmítico
- Fitosteroles
- sitosterol
 - sitosterol-3-d-glucósido
 - estigmasterol
- Alcaloides (0,0065%)
- tussilagina
 - isotussilagina
- Betaína (1%)
- resinas (2%)
 - ácido cichórico
 - derivados poliacetilénicos insaturados
- Flavonoides
- Taninos
- Inulina
- Pentosanos
- Azúcares reductores
- Vitamina C
- Flores: contienen un 0,28% de un aceite esencial de composición similar al de las raíces ⁽⁴⁾

Componentes activos: Echinacea utiliza el sistema inmune. Varios componentes en la Echinacea se unen para aumentar la producción y la actividad de las células

blancas de la sangre (linfocitos y macrófagos). Los tres grupos principales de componentes responsables son alkylamides/polyacetylenes, derivados del ácido cafeico, y polisacáridos. Echinacea también aumenta la producción del interferón, una parte importante de la respuesta del cuerpo a la infección viral tales como resfriados y gripe ⁽⁵⁾

La creencia es que la Echinacea actúa sobre todo activando las células blancas de la sangre, según lo mencionado arriba. Se ha mostrado específicamente activa una clase importante de las células blancas de la sangre bien conocidas como células asesinas naturales. ⁽⁶⁾

Varios estudios doble-ciego han confirmado la ventaja del Echinacea para tratar y prevenir los resfriados la gripe ⁽⁷⁾ En términos de otros tipos de las infecciones, investigación en Alemania usando formas inyectables o una preparación oral de la hierba junto con una crema medicinal redujeron la repetición de las infecciones vaginales por hongos comparadas a las mujeres dadas la crema solamente.

En muchos estudios se ha demostrado que la Echinacea estimula en forma importante a los macrófagos (células del sistema de defensa que rápidamente emigran al sitio de la infección para detener a las bacterias) y aumentan su efectividad (inmunocompetencia).⁽⁸⁾

PROPIEDADES MEDICINALES DE LA EQUINÁCEA

Estimulante inmunitario

Fungicida y bactericida

Sialagogo (estimulante de la secreción salivar)

Antidiarreico

Antigriposo

Antiinflamatorio

Antibiótico
Desintoxicante
Antiviral
Cicatrizante
Purificadora de la sangre
Antialérgico
Sudorífico
Antiséptica y vulneraria (uso externo)

INDICACIONES

Para potenciar el sistema inmunitario (debido a una activación de los fibroblastos)
Cáncer
Enfermedades infecciosas de repetición que son causadas por disminución de las defensas orgánicas
Amigdalitis
Faringitis
Laringitis
Estados gripales
Afecciones del tracto respiratorio
Diarrea
Colitis repetitivas
Estomatitis ulcerosa
Gonorrea
Sífilis
Salpingitis
Flemones dentarios
Abscesos postquirúrgicos
Úlceras y llagas supuradas (por vía externa)
Heridas (por vía externa)
Forúnculos (por vía externa)

CONTRAINDICACIONES

No se conocen efectos tóxicos o secundarios en el organismo humano. Su contenido en alcaloides pirrolizidínicos, los cuales son tóxicos para el hígado, son tan insignificantes que no supone problema alguno de toxicidad. ⁽⁴⁾

Sin embargo su uso no debe prolongarse a más de dos meses dado que superado este periodo su poder para aumentar las defensas decrece es mejor dejar reposar el organismo durante 1 semana antes de continuar con el tratamiento.

No debe administrarse a personas autoinmunes lupus esclerosis artritis reumatoide y tuberculosis. Su uso en pacientes con VIH no está muy claro puede ser perjudicial.

La gente es más probable experimentar reacciones alérgicas al Echinacea si ella es alérgica a las plantas relacionadas en la familia de la margarita, que incluye ragweed, a los crisantemos, a las maravillas, y a las margaritas. También, la gente con asma o el atopy (una tendencia genética hacia reacciones alérgicas) puede ser más probable tener una reacción alérgica al tomar Echinacea. ⁽³⁾

Hay efectos secundarios o interacciones? Echinacea es esencialmente no tóxico cuando se toma oralmente. La gente no debe tomar Echinacea si padece una enfermedad autoinmune, tal como lupus, u otras enfermedades progresivas, tales como tuberculosis, esclerosis múltiple, e infección del VIH. Los que son alérgicos a las flores de la familia de la margarita no deben tomar Echinacea. No hay contraindicaciones conocidas al uso del Echinacea durante embarazo o la lactancia.

Algunos medicamentos pueden interactuar con Echinacea.

Son mucho más polémicos y discutidos muchos de los fármacos que elaboran los grandes laboratorios y no hablar de los efectos secundarios, de los cuales prácticamente carece la Echinacea. ⁽³⁾

La introducción de la Echinacea en la farmacopea se debe a los famosos farmacéuticos americanos John King y Kohn Uri Lloyd que en 1887 recibieron del doctor Meyer un remedio denominado "purificador de la sangre de Meyer", que fue realizado a partir de esta planta. La escuela de medicina ecléctica, representada sobre todo por el doctor John King y que tuvo su auge en Estados Unidos a principios de este siglo y finales del anterior, hizo de esta planta un tratamiento de primer orden, si bien no se empezó a incluir en algunas farmacopeas, especialmente la norteamericana, hasta los años 50.

USOS DE LA EQUINÁCEA

En tintura madre: hasta 30 gotas 3 veces al día

En Extracto fluído: hasta 1 g por dosis

En extracto blando: hasta 0,1 g por dosis ⁽³⁾

Función inmunológica

Gingivitis como enjuague bucal, en combinación con salvia, aceite de hierbabuena, mentol, tintura de manzanilla, tintura de mirra, aceite de clavo y aceite de alcaravea, así como la Infección.

Varios componentes de la Echinacea funcionan conjuntamente para aumentar la producción y la actividad de los glóbulos blancos (linfocitos y macrófagos) de la sangre. Se ha demostrado específicamente que la Echinacea activa una clase importante de leucocitos conocidos como células T citolíticas (asesinas naturales). También aumenta la producción de interferón, un elemento importante de la respuesta del organismo a las infecciones virales, como los resfriados y la gripe.⁽⁹⁾

Entre los principales efectos fisiológicos de la Echinacea, se encuentran los siguientes:

Es antiviral, es anti-cándida, inhibe el crecimiento tumoral, promueve la inmunidad celular general, tiene una acción parecida al interferón, estimula la producción de gamma globulinas alfa 1 y alfa2, tiene un efecto antiinflamatorio, estimula el crecimiento de tejido nuevo sano, tiene un ligero efecto antibiótico, inhibe la hialuronidasa (al hacerlo ayuda a proteger a las células durante la infección y previene que la bacterias entren en primer lugar), aumenta el poder fagocítico de las células de defensa y estimulan los leucocitos (células sanguíneas blancas). Al ver los mecanismos de acción de la Echinacea, entramos a un tema muy interesante, por ejemplo, en una herida o en una quemadura, lo que hace la Echinacea es activar a los fibroblastos (células que desarrollan el tejido conectivo) transformándolas en células que a su vez producen ácido hialurónico. Esto es muy importante ya que el ácido hialurónico es un agente protector y de unión del tejido conectivo. Durante las infecciones, se puede liberar la enzima hialuronidasa, lo cual, hace que la infección literalmente se vaya abriendo paso para invadir a nuestro cuerpo.

La Echinacea activa a las células sanguíneas blancas fagocíticas (que ingieren partículas) lo mismo que a los histiocitos (las células del tejido conectivo con la habilidad de movimiento ameboideo y actividad fagocítica). Los componentes de la Echinacea estimulan también la regeneración celular y las células epidérmicas. La Echinacea es un inmunoestimulante. Los inmunoestimulantes son agentes que estimulan al sistema inmunológico de una manera no específica. Los efectos farmacológicos de los inmunoestimulantes se acaban relativamente rápido y tienen que ser administrados muy frecuentemente o inclusive a veces en forma continua. Son factores importantes, en la inmunoestimulación, un aumento en la fagocitosis (por lo macrófagos) y los granulocitos. ⁽¹⁰⁾

Los inmunoestimulantes podrían llegar a convertirse en una alternativa o al menos en un coadyuvante de la quimioterapia y pueden ayudar a prevenir infecciones al activar al sistema inmunológico en personas cuya respuesta inmunológica haya sido menguada. En 1981 los investigadores H. Wagner y A. Proksch del Instituto de biología farmacéutica de la Universidad de Munich publicaron su encuentro

sobre el descubrimiento de 2 polisacáridos en la Echinacea purpúrea que estimularon la actividad de las células T del 20 al 30 % más que cualquier otro estimulador de las células T altamente potente. Las células T son un tipo de células sanguíneas blancas (leucocitos) categorizados como linfocitos. Son producidos en la médula ósea, la glándula del timo y otros tejidos linfoides. Son almacenadas en los nódulos linfáticos y el bazo. Viajan al sitio de las infecciones, se combinan con antígenos y liberan varios químicos que son en parte responsables de la inmunidad mediada por las células.

Entre otras cosas, los polisacáridos estimulan a los macrófagos a que produzcan factor de necrosis tumoral alfa (TNF), interleucina 1 e interferón beta. En un artículo publicado en el Journal of the National Cancer Institute (1989) se reportó sobre los efectos de un polisacárido de la Echinacea purpúrea altamente purificado (arabinogalactano), el cual, según sugerencias de los autores, puede tener implicaciones en la defensa contra tumores y enfermedades infecciosas. Existen algunos estudios clínicos que demuestran que la Echinacea puede aumentar la efectividad de las cremas antimicóticas estándares en el tratamiento de las infecciones recurrentes vaginales por levaduras, particularmente por *Cándida albicans*. Por ejemplo, a un grupo de 203 mujeres con este problema de la candidiasis vaginal recurrente se les administró el antimicótico convencional comúnmente prescrito y tuvieron una tasa de recurrencia del 60.5 % en sus infecciones. En cambio, las mujeres que además del tratamiento convencional, recibieron la Echinacea, tuvieron una tasa de tan sólo el 16.7 % de recurrencia.⁽¹⁰⁾

Maura Espejel Mejía, académica de la Carrera de Cirujano Dentista de la Facultad de Estudios superiores Iztacala, recibió de la Red Global de Mujeres inventoras e innovadoras del Reino Unido y del Instituto Nacional de las Mujeres el Premio MEXWII 2006, por la creación del primer enjuague bucal homeopático desarrollado en México para tratar la gingivitis. Proceso este medicamento homeopático durante su estancia en la Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía del Instituto Politécnico Nacional.

Explicó que el enjuague se elabora a base de la planta ECHINACEA ANGUSTIFOLIA, por sus propiedades es utilizada actualmente para tratar enfermedades respiratorias, debido a que activa al sistema inmunológico.

Al referirse a los efectos que produce en la cavidad oral esta planta preparada homeopáticamente, cumple con funciones antisépticas, estimulación de la secreción salival, antiinflamatoria, cicatrizante y bactericida.

Comentó que esta solución bucal, además de tratar la **gingivitis, disminuye la placa dentobacteriana y la halitosis bucal.**

El enjuague se utiliza tres veces al día después del cepillado diluido en 10 mL de agua (20 gotitas) manteniéndolo en la boca durante 1 minuto. Es importante no ingerir alimentos hasta después de media hora de su uso, aunque para mantener una boca sana es necesario combinar este enjuague con una adecuada técnica de cepillado.⁽¹¹⁾

BIBLIOGRAFIA

1. Echinacea. Natural Medicines Comprehensive Database Web site. Accessed June 30, 2005.
2. Melchart D, Walther E, Linde K, et al. Echinacea root extracts for the prevention of upper respiratory tract infections: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Arch Fam Med* 1998;7:541–5.
3. <http://www.botanical-online.com/medicinalsequinacea.htm>
4. Taylor JA, Weber W, Standish L, y otros. Eficacia y seguridad del echinacea en tratar infecciones superiores de la zona respiratoria en niños: un ensayo controlado seleccionado al azar. *Diario de la asociación médica americana*. 2003; 290 (21): 2824-2830.

5. Leuttig B, Steinmuller C, et al. Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:669–75.
6. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckman J, eds. *Medicina herbaria: Monografías ampliadas de la Comisión*. 2000:88 - 102.
7. Barrett BP, RL marrón, Locken K, y otros. Tratamiento del frío común con echinacea sin refinar: un ensayo seleccionado al azar, double-blind, placebo-controlado. *Medicina interna*. 2002; 137 (12): 939-946.
8. Dorn M, Knick E, Lewith G. Placebo-controlled, double-blind study of *Echinacea pallida redix* in upper respiratory tract infections. *Comp Ther Med* 1997;5:40–2.
9. <http://www.fredmeyer.com/Es-Herb/Echinacea.htm> enero 2007.
10. See DM, Broumand N, Sahl L, Tilles JG. In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. *Immunopharmacol*(1997;35:229–35.)
11. Premio Internacional a Académica de Iztacala. Lo otorgan a la red Global de mujeres Inventoras e innovadoras del reino unido en mujeres. Maura Espejel Mejia. GACETA UNAM, p.3 6 noviembre 2006..
12. Espejel, Mejia Maura, Guzmán Candido, et al. Colutorios de *Echinacea Angustifolia* 2D en el tratamiento de gingivitis simple en niños de 8 a 13 años. *ADM* 2006:LXIII, 6: 205-209. *ADM* 2006:LXIII, 6: 205-209

METODOLOGIA

Para el desarrollo de este trabajo se utilizó una muestra representativa de placa dentobacteriana en 60 pacientes. Con enfermedad periodontal para lo cual se utilizaron:

➤ **MÉTODOS**

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes que presenten enfermedad periodontal sin importar sexo, edad, cepillen sus dientes, aunque padezcan alguna enfermedad sistémica y que los pacientes acepten y firmen el consentimiento informado.
- Pacientes que tengan elaborada historia clínica y serie radiográficas.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Pacientes que hayan usado enjuagues periodontales o que ya hayan tenido tratamientos periodontales.
- Que se encuentre bajo tratamiento periodontal con admisión de clorhexidina.
- Pacientes que carezcan de Historia Clínica
- Pacientes que se nieguen a participar en la investigación.

➤ **MATERIAL**

- Historia clínica
- Papel, pluma, lápiz, marcador, etiquetas
- 1x4, Sonda periodontal,
- Curetas 5/6, 7/8
- Bolsas para esterilizar
- Guantes desechables

- Cubrebocas
- Campos operatorios
- Cámara fotográfica
- Viales estériles de plástico
- Cajas de petri desechables
- Tubos de ensaye
- Rejilla para tubos de ensaye
- Probetas
- Gotero
- Sembrador
- Periódico
- Báscula
- Matraces de 1L y 100 mL
- Polvo BHI (Infusión Cerebro Corazón)
- Agua Bidestilada
- Mechero
- Autoclave
- Refrigerador
- Estufa
- Gortex
- Agares: Sangre, sabouraud, EMB (eosina azul de metileno), S100, Mueller-Hinton.
- Azas
- Hisopos
- Discos de Antibiogramas positivos y negativos
- Microscopio
- Portaobjetos
- Aceite emulsificante
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol Cetona

- Safranina
- Pruebas bioquímicas: Kligler, Citrato, Manitol, SIM, Urea, Indol
- Echinacea Angustifolia
- Metronidazol
- Clindamicina
- Amoxicilina con ácido clavulánico

Preparación de los viales

Para la preparación de los viales se pesó polvo de BHI (Infusión de cerebro y corazón) 3.7 grs. En un matraz de 250 ml se vierten 100 ml de agua bi destilada, se coloca el mechero para que el polvo se diluya perfectamente y no tenga brumos; cuando empieza la ebullición se retira del mechero por lo que se observa un tono de la mezcla anaranjado. Se coloca en el autoclave para esterilizar el matraz con BHI. Durante 15 min y se deja enfriar posteriormente se coloca en los viales esterilizados previamente para colocar el BHI al hacer este procedimiento se prende un mechero para mantener el área estéril se tapa el vial y en una rejilla se colocan para vaciar el BHI. Se refrigeran para posteriormente usarlos en la toma de PDB (placa dentobacteriana).

Toma de muestra

Para la toma de muestra se acudió a la clínica de Endoperiodontología de la FES Iztacala para lo cual se tomó la muestra de PDB a pacientes que presentaban gingivitis o periodontitis sin importar sexo, edad, enfermedad sistémica, que contarán con historia clínica.

Una vez seleccionado el paciente con una sonda periodontal se midió la bolsa para registrar en la tabla de datos. Se saca del refrigerador la rejilla con los viales que contenían BHI preparado. Se tomó la PDB con ayuda de una cureta 5/6 para dientes anteriores o 7/8 para posteriores según fue el caso se tomó placa

dentobacteriana acercando el vial y colocar la muestra inmediatamente taparla. Con ayuda de un plumón se colocó el nombre del paciente y la fecha.

Transportandolas en una rejilla al Laboratorio Clínico de la CUSI- Iztacala para su procesamiento.

Se colocaron los viales en el Gortex para obtener una mezcla homogénea (la PDB con el BHI). Posteriormente colocar los en la estufa a 37° durante 24 hrs.

Siembra en los 4 diferentes agares la misma muestra por paciente

Una vez que las muestras estuvieron 24 hrs en la estufa se sacaron y se etiquetaron las cajas de petri con nombre y fecha, se encendió el mechero para crear el área de esterilidad se coloca un aza al mechero una vez que esta al rojo vivo se deja enfriar un poco para posteriormente tomar del vial el caldo bacteriano se siembra en forma de estrías en cada uno de los 4 agares la misma muestra por paciente. Una vez sembrados los agares se colocan en la estufa durante 24 hrs.

Lectura de las cajas de petri con los diferentes agares

Se observó si hubo crecimiento en el SG, en el Sabouraud, EMB, S110, se marca para hacer frotis de las colonias y así poder identificarlas al microscopio.

Tinción de Gram

Se marca con un lápiz de cera al reverso del porta objetos para llevar un orden con una numeración la que se marcó en las cajas de petri para saber a que colonia corresponde una vez identificadas al microscopio.

Por lo que se colocó una gota de agua bidestilada en cada número, se calentó el aza para tomar la colonia marcada y se difunde en la gota de agua bidestilada se deja secar. Una vez seca la muestra se pasa rápidamente por el mechero para fijarla. Para la Tinción de gram:

1. Primero se colocó una gota de **Cristal violeta** en cada muestra dejando actuar durante 1 minuto se enjuagó al chorro del agua.
2. Inmediatamente **Lugol** una gota en cada muestra durante 1 minuto, enjuagar al chorro de agua
3. En tercer lugar el **Alcohol cetona** solo 4 segundos y enjuagar al chorro de agua.
4. Por último la **Safranina durante** 35 a 45 segundos y enjuagar al chorro de agua.

Se dejó secar al medio ambiente una vez seco se coloca una gota de aceite sobre las muestras. En el microscopio una vez enfocado se observó la gran variedad de bacterias gram positivas y gram negativas las cuales se fueron vaciando en una tabla de datos por cada paciente.

Una vez identificada la bacteria se toma de la caja de Petri para colocarla en el vial con agar nutritivo para que mantenga viva etiquetando el vial se guarda con fecha y el nombre del paciente.

Identificación de bacterias Gram negativas (enterobacterias)

Identificada alguna enterobacteria se tiene que hacer las pruebas bioquímicas para ver a que clase corresponde.

Se toma de la caja de petri del agar EMB se colocan en una rejilla los tubos de ensaye de Kligler, citrato, manitol, , sim, urea, sacarosa, se toma con un aza y prendido el mechero se toma una muestra de la colonia observada al microscopio se coloca al fondo de cada tubo para posteriormente colocarlos en la estufa durante 24hrs.

Resistencia a antibióticos

Para probar la sensibilidad y/o resistencia de cada cepa se utilizó la técnica de Bauer-Kirby, ⁽²³⁾

Se procedió a inocular sobre el agar Mueller-Hinton por medio de un hisopo estéril, los cuales se humedecieron con la suspensión (crecimiento bacteriano) y se estriaron sobre la totalidad de la superficie del agar, Por último se tomó un sensidisco con los 12 antimicrobianos a determinar (Sanofi, diagnostic, Pasteur), con una pinza estéril y se colocó sobre el agar de Mueller-Hinton.

Al día siguiente se observó:

Con la incubación, se producen cambios de color en los tubos de ensayo con las pruebas bioquímicas.

La lectura de las reacciones se hizo de acuerdo con la tabla de lectura y la identificación.

Así el antimicrobiano se difundió formando un gradiente de concentración, que inhibió o permitió el crecimiento de la bacteria en un tiempo de 24 hrs. a 37° C. De esta manera las cepas se clasificaron como susceptibles (S) o resistentes (R) dependiendo del diámetro del halo de inhibición (el cual se midió con un vernier), conforme a las recomendaciones del fabricante respecto a los puntos de corte. (Tabla 2,)

Tabla 2. Antibióticos que se utilizaron para las cepas bacterianas.

ANTIBIOTICO	ABREVIATURAS	FAMILIA	ACCIÓN a	DIAMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm) ³		
				R	I	S
Ampicilina	AMP	Aminopenicilina	1	≤28		≥29
Cefalotina	CF	Cefalosporina de 1 ^a . Generación	1	≤14	15-17	≥18
Cefotaxima	CTX	Cefalosporina de 3 ^a . Generación	1	≤14	15-22	≥23
Ceftazidima	CAZ	Cefalosporina de 3 ^a . Generación	1	≤14	15-17	≥18
Cefuroxima	CXM	Cefalosporina de 2 ^a . Generación	1	≤14	15-17	≥18
Dicloxacilina	CLOX	Penicilina semisintética	1	≤10	11-12	≥13
Eritromicina	ERI	Macrólido	2	≤13	14-17	≥18
Gentamicina	GEN	Aminoglucósido	2	≤12	13-14	≥15
Pefloxacina	PEF	Quinolona	3	≤14	15-22	≥23
Penicilina	PEN	Penicilina	1	≤28		≥29
Tetraciclina	TET	Tetraciclina	2	≤14	15-18	≥19
Trimetoprim sul- fametoxazol	SXT	Combinación de diamopirimidina y sulfonamida	3	≤10	11-15	≥16
Amikacina	AK	Aminoglucósido	2	≤14	15-16	≥17
Carbenicilina	CB	Carboxipenicilinas	1	≤17	18-22	≥23
Ceftraxona	CTX	Cefalosporina de 3 ^a . Generación		≤13	14-20	≥21
Cloranfenicol	CL	Cloranfenicol	2	≤12	13-17	≥18
Netilmicina	NET	Aminoglucósido	2	≤12	13-14	≥15
Nitrofurantoina	NF	Nitrofuranos	3	≤14	15-16	≥17
Pefloxacina	PEF	Quinolona	3	≤14	15-22	≥23

- a. 1. Inhibición de la pared celular 2. Interferencia en la síntesis de proteínas 3. Inhibición del metabolismo de los ácidos nucleicos.
- b. R= resistente, I= Intermedia y S= Sensible

Prueba del manitol

Esta prueba se realizó en las colonias del agar S110 hubo crecimiento para identificar si el *staphylococcus* era *aureus*. Se tomo la colonia del agar con una aza estéril se introdujo al fondo del tubo de ensaye (previamente etiquetado) que contenía el manitol (color rojo) se tapo y se metió a la estufa 24hrs.

Con ayuda de un hisopo se coloco la colonia del agar S110 al agar Mueller-Hinton etiquetado con el nombre y fecha , con una pinza esterilizada se tomo el sensidisco de antibiograma para gram positivo encima de la colonia difuminada adhiriéndolo bien para que no se desprenda con el hisopo una vez utilizado el hisopo se quema. Se tapo y se mete ala estufa 24hrs.

Para el siguiente día observar el crecimiento del *Staphylococcus aureus* si era cambiaba el tono del manitol a color amarillo.

Guardar cepas identificadas

Una vez identificada la cepa se toma de la caja de Petri para colocarla en un vial con agar nutritivo para que mantenga viva y aislada etiquetando

Preparación de BHI para sembrar las cepas identificadas

En una báscula se peso polvo de BHI (Infusión de cerebro y corazón) 3.7 grs. En un matraz de 250 ml se vierten 100 ml de agua bidestilada, se coloca el mechero para que el polvo se diluya perfectamente y no tenga grumos; cuando empieza la ebullición se retira del mechero. Se coloca en el autoclave para esterilizar es caldo nutritivo. Se vierte en tubos de ensaye con ayuda de una pipeta. y se meten en una gradilla al autoclave.

Siembra de los viales a los tubos de ensaye

Los viales sembrados con las cepas identificadas son utilizados para tomar una muestra con una aza esterilizada y se coloca en el caldo nutritivo de los tubos de ensaye etiquetándolos. Se colocan en la estufa 24 hrs. Para reproducir el crecimiento bacteriano.

Preparación de los antibióticos en agares

Pesando 1.9 g de polvo (agar Mueller-Hinton) en 50 ml de agua bidestilada colocándolo en cada matraz de los cuales se prepararon 90 con esta proporción de polvo cada una y agua bidestilada. Se *etiquetaron* 8 como grupo control, con **0.975 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **1.95 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **3.9 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **7.8 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **15.6 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **31.3 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **62.5 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **125 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **250 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **500 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico), **1000 µg/ml** (2 con el nombre de clindamicina, 2 como metronidazol, 2 como amoxicilina con ácido clavulánico).

Para la *Equinacea angustifolia* se hicieron con las siguientes concentraciones **60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml, 120 µg/ml, 140 µg/ml, 160 µg/ml, 180 µg/ml, 200 µg/ml**. (haciendo 2 de cada uno).

En un mechero se colocaron los 90 matraces con el agar uno por uno para hacer homogénea la mezcla. Enseguida se colocaron en el autoclave.

Una vez terminado el ciclo se fue sacando uno por uno para colocar el antibiótico en el matraz con una pipeta calibrada cada medicamento con las concentraciones indicadas anteriormente. Se fue sacando uno por uno para que no se gelificara el agar.

Una vez que se colocó el antibiótico en el matraz se vierte en cajas de petri. Un matraz es para dos cajas de petri con la misma concentración. Para tener una caja testigo. Por lo que se obtuvieron 24 cajas de metronidazol, 24 de clindamicina, 24 de amoxicilina con ácido clavulánico y 18 de *Equinacea angustifolia*. Se meten todas las cajas al refrigerador para que al otro día se siembre en ellas.

Al día siguiente se sacaron de la estufa los tubos de ensaye en los cuales ya hubo crecimiento bacteriano. Se toma de cada tubo con una pipeta el caldo bacteriano para colocarlo en cada orificio del sembrador cada orificio corresponde a una bacteria diferente así se llenan los 48 orificios del sembrador.

Se coloca el sembrador para embeberlo del caldo nutritivo de cada orificio para colocarlo en cada caja de petri sobre el agar poniéndolo como un sello sin hacer presión en las 90 cajas de petri. Se meten a la estufa 24 hrs.

Lectura de cajas de Petri con los antibióticos correspondientes

Por medio de una tabla (la imagen 1) se coloca la caja de petri para ver a que bacteria corresponde la falta de crecimiento bacteriano y se va observando en que concentración hubo inhibición de todas las cajas de petri y se va registrando.



Imagen 1

Ya que se tenía un control a que bacteria y nombre de paciente de cada número representado en la imagen 1.

RESULTADOS

Pacientes analizados

En este estudio analizamos un total de 60 pacientes con periodontitis y gingivitis, dentro de los cuales el 65% (n = 39) correspondió al sexo femenino y el 35% (n = 21) al sexo masculino (*figura 1*).

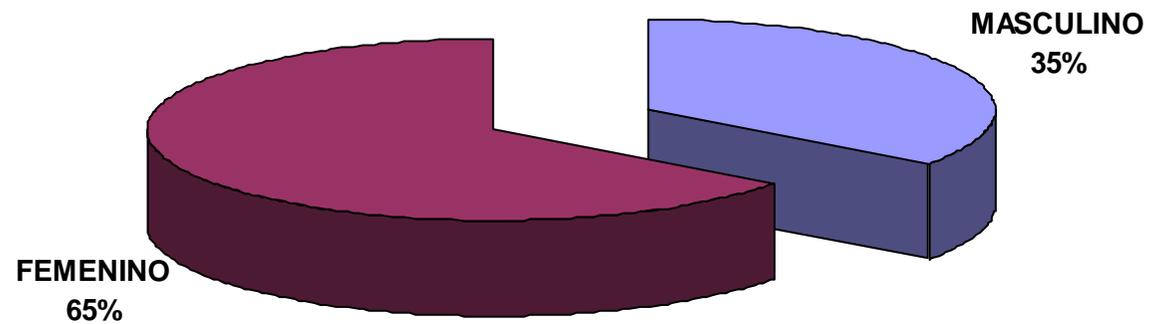


Figura1. Distribución de los pacientes por sexo.

En la *figura 2* se aprecia la edad de los pacientes estudiados. El 29% (n = 17) de los pacientes presentó una edad comprendida en el intervalo de 51 a 60 años, seguido por el 24% (n =14) de 31 a 40 años, de 15 % (n = 9) en los rangos de 41 a 50 y 61 a 70 años, en cada caso, de 8% (n = 5) en el intervalo de 20 a 30 años y de 3% (n = 2) en los rangos de 10 a 19 y de 71 a 90 años, en cada caso.

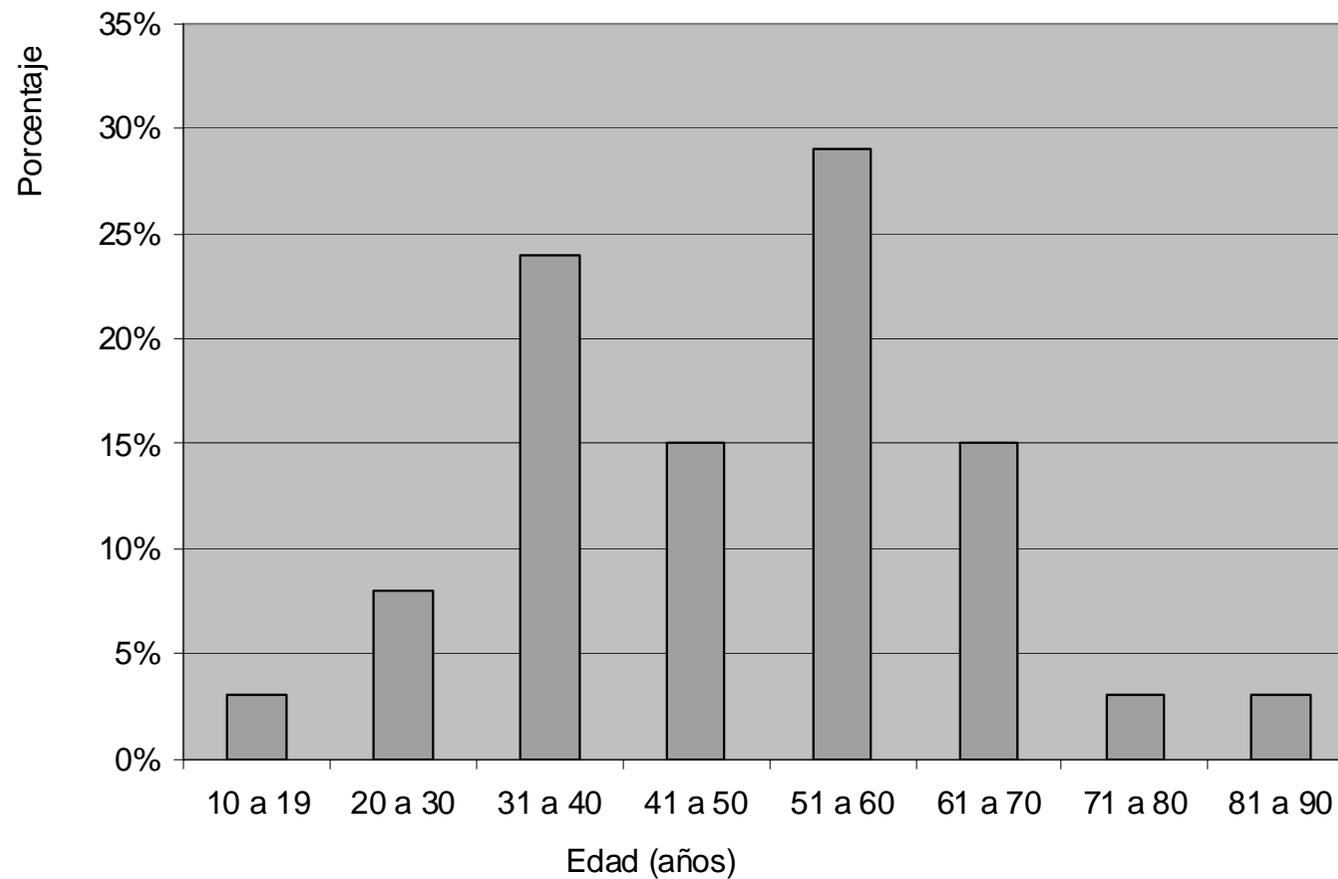


Figura 2. Distribución de los pacientes por edad

En la *figura 3* se aprecia que el 18% (n = 11) de los pacientes fueron diabéticos y el 82% (n = 49) no diabéticos.

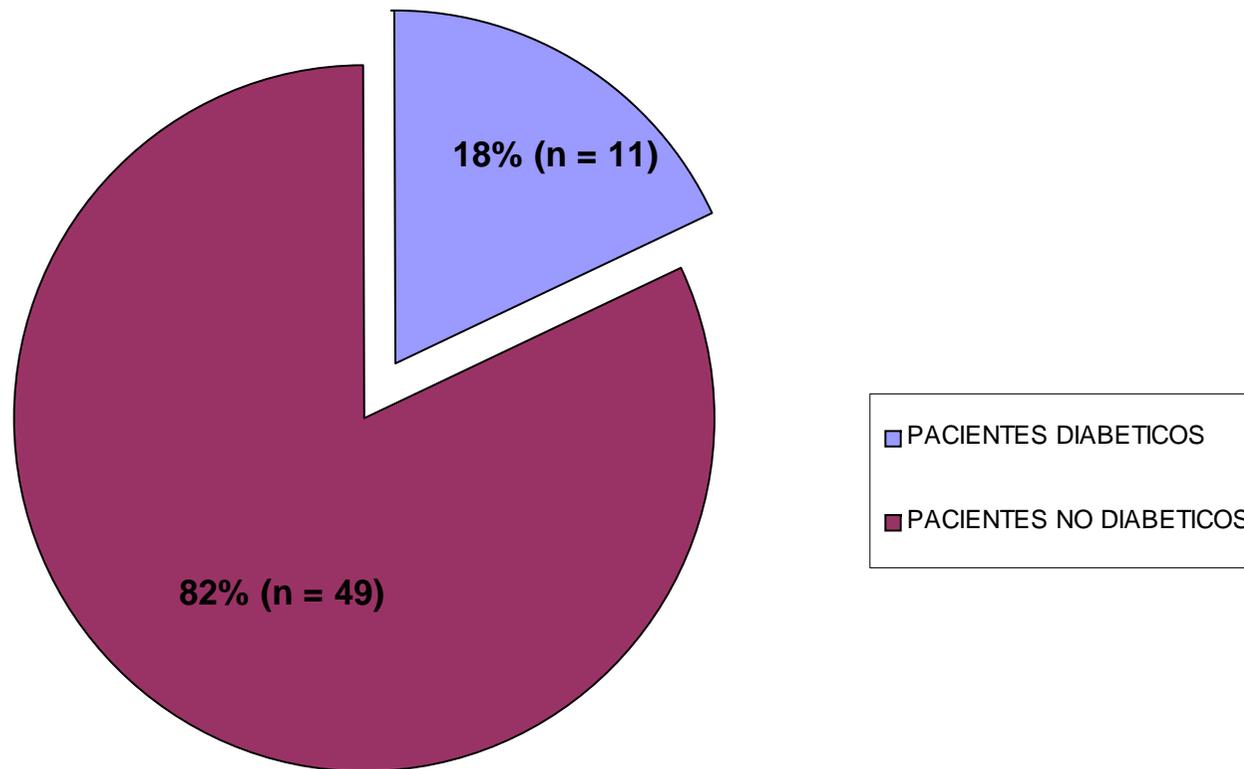


Figura 3. Porcentaje de pacientes con diabetes mellitus

En la *figura 4* se observa que el 62% (n = 37) de los pacientes presentó periodontitis y el 38% (n = 23) gingivitis.

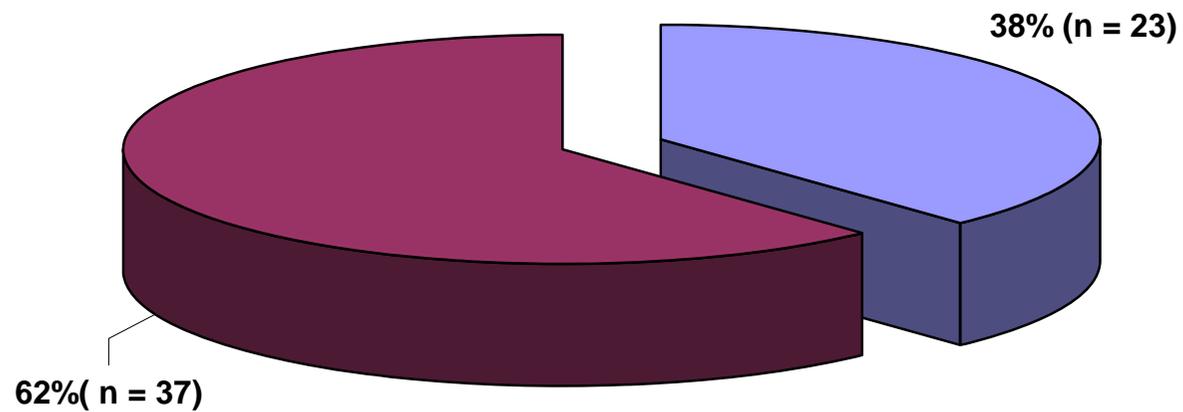
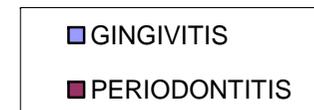


Figura 4. Enfermedades periodontales de los pacientes estudiados.



Microorganismos identificados

En este estudio se aislaron de la placa dentobacteriana de los pacientes un total de 111 cepas de microorganismos distintas distribuidos en 8 especies y en 3 géneros diferentes (cuadro 1), dentro de las cuales 17 fueron Gram negativas (15.3%) y 94 Gram positivas (84.7%). El microorganismo aislado con mayor frecuencia en este estudio fue *Streptococcus* spp con el 44% (n = 49), seguido por *Staphylococcus aureus* con el 19% (n= 21), *Staphylococcus* spp con el 13% (n=14), *Candida* spp con el 9% (n =10), *E. coli* con el 5% (n = 6), *K. ozaenae* con el 5% (n = 5), *E. agglomerans* con el 2% (n=2), *E. hafniae*, *E. aerobacter*, *A. faecalis* y *C. freundii* con el 1% (n = 1), en cada caso.

BACTERIAS AEROBIAS	NUMERO DE CEPAS	PORCENTAJE
<i>Streptococcus</i> spp.	49	44.1 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	18.9%
<i>Staphylococcus</i> spp.	14	12.6%
<i>Candida</i> spp.	10	9.0%
<i>Escherichia coli</i>	6	5.4%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	5	4.5%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	2	1.8%
<i>Enterobacter hafniae</i>	1	0.9%
<i>Enterobacter aerobacter</i>	1	0.9%
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0.9%
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	0.9%
TOTAL	111	100%

Cuadro 1. Porcentajes de los patógenos encontrados en las biopelículas

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria en los microorganismos Grampositivos detectados.

Metronidazol

En la figura 5 se aprecia que el 100% (n = 94) de las cepas identificadas fue resistente al Metronidazol.

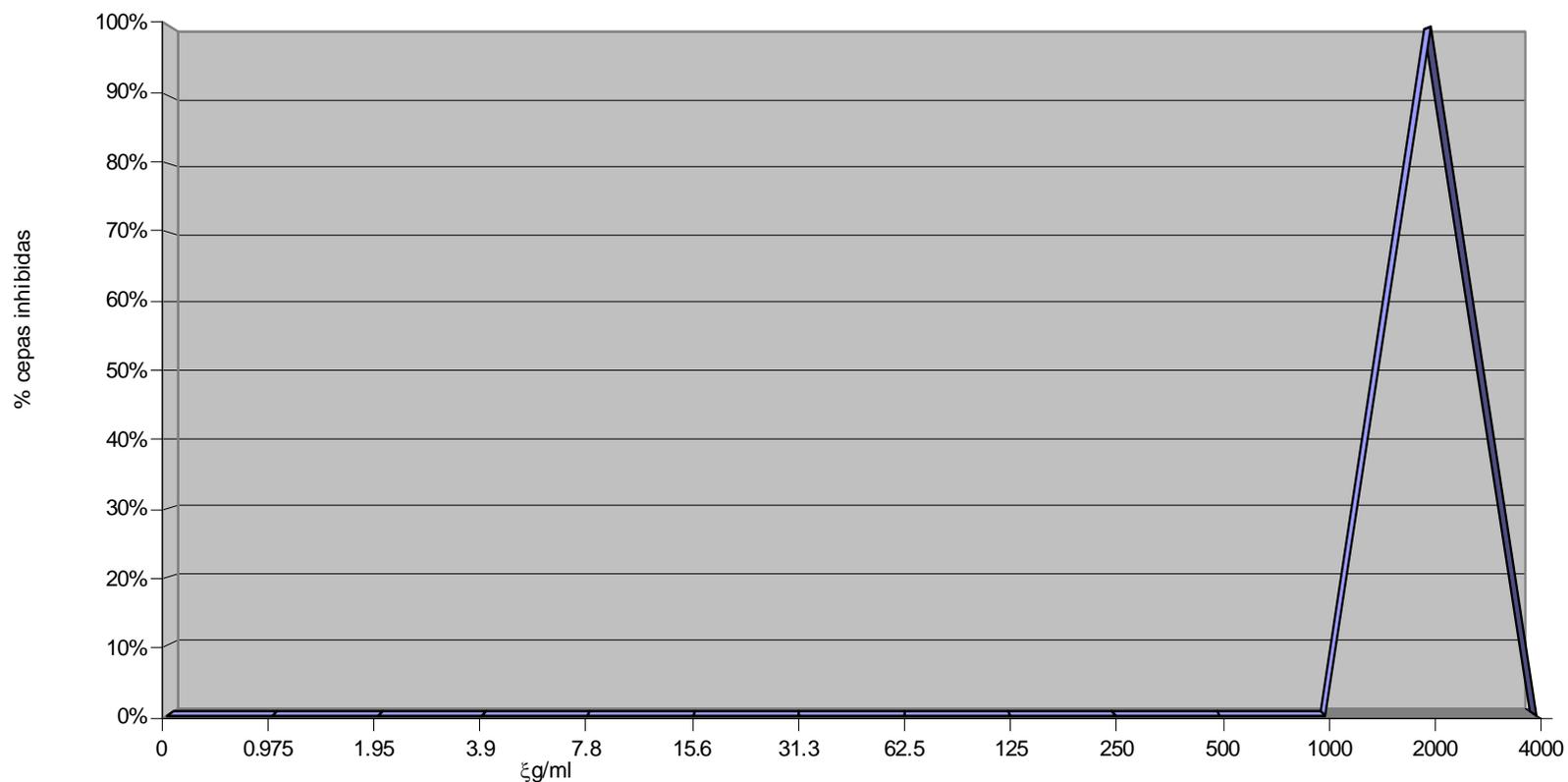


FIGURA 5.CMI del METRONIDAZOL en las cepas Gram positivas en contradas

Clindamicina

En la figura 6 se observa que el 99% de las cepas identificadas fueron resistente a la Clindamicina en las concentraciones de 2000 $\mu\text{g/ml}$ ($n = 91$), 250 $\mu\text{g/ml}$ ($n = 1$) y 62.5 $\mu\text{g/ml}$ ($n = 1$), mientras que el 1% ($n = 1$) fue sensible en la concentración de 1.95 $\mu\text{g/ml}$.

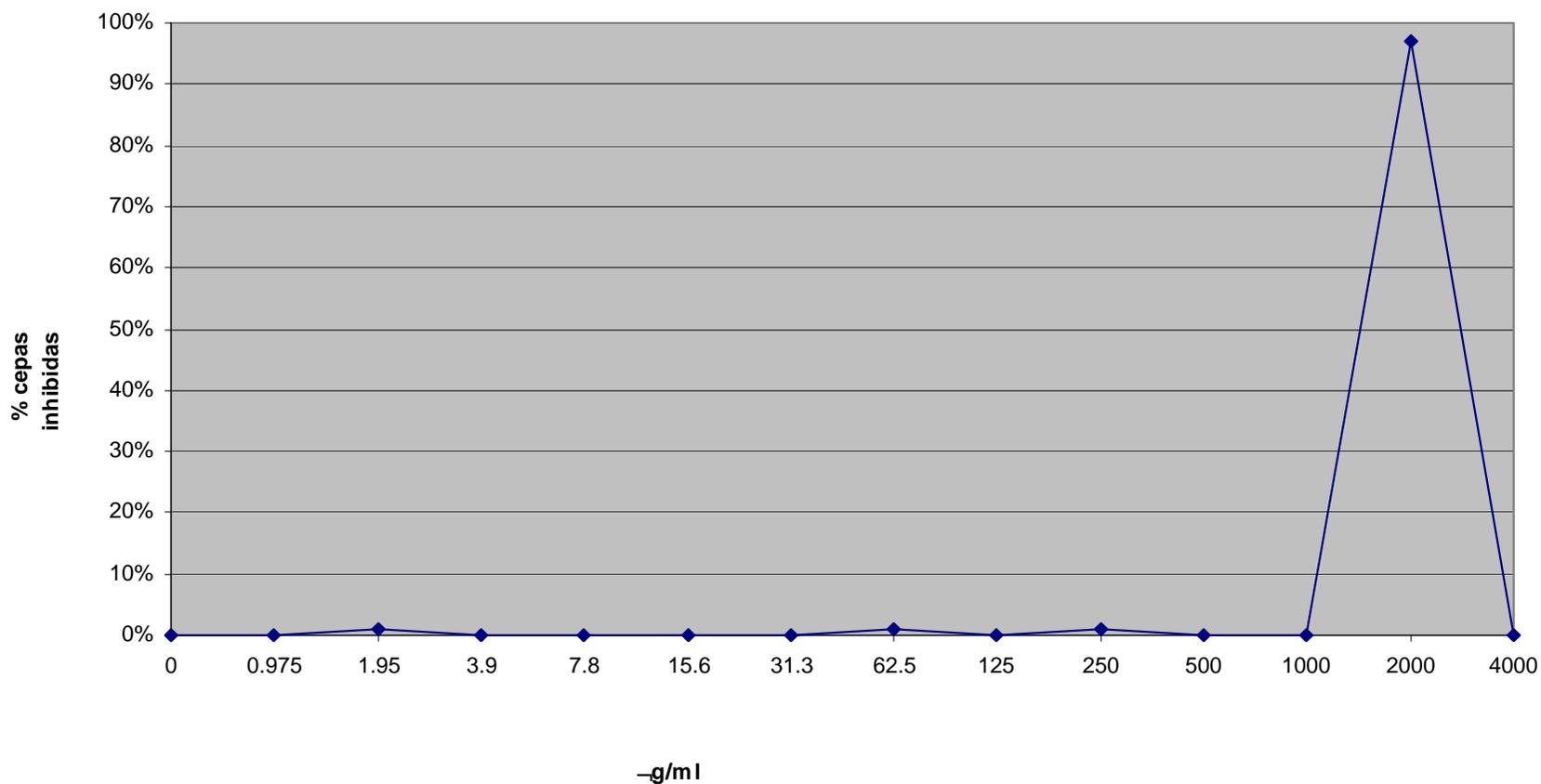


FIGURA 6. CMI de la CLINDAMICINA en las cepas Gram positivas encontradas

Amoxicilina con ácido clavulánico.

En la figura 7 se observa que el 52% (n = 49) y el 6% (n = 6) de las cepas fueron sensibles en los intervalos de 0.975-1.95 µg/ml y 3.9-7.8 µg/ml, respectivamente, mientras que el 2% (n = 2) fue resistente en la concentración de 31.3 µg/ml y el 40% resistente (n = 37) en la concentración de 125-1000 (µg/ml).

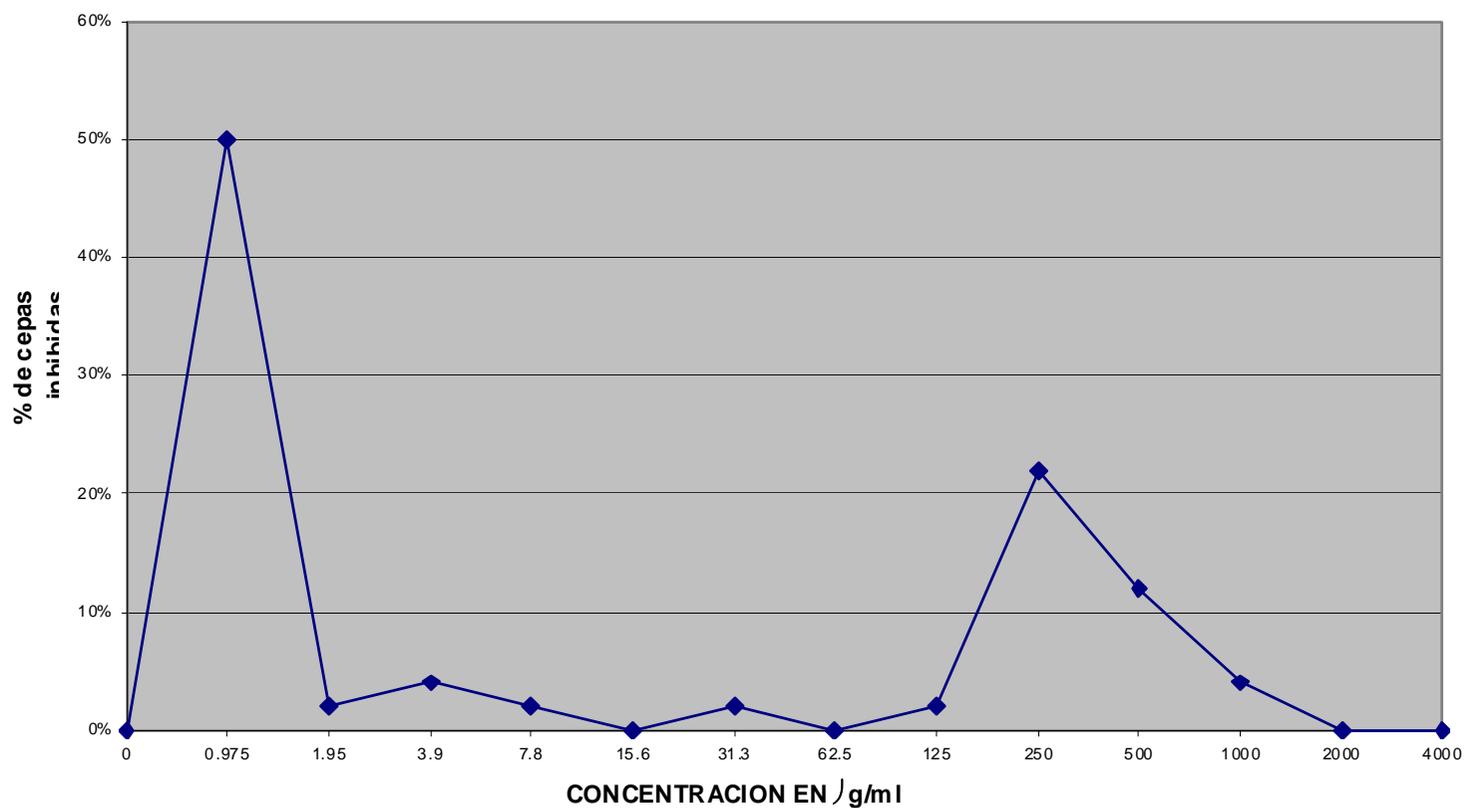
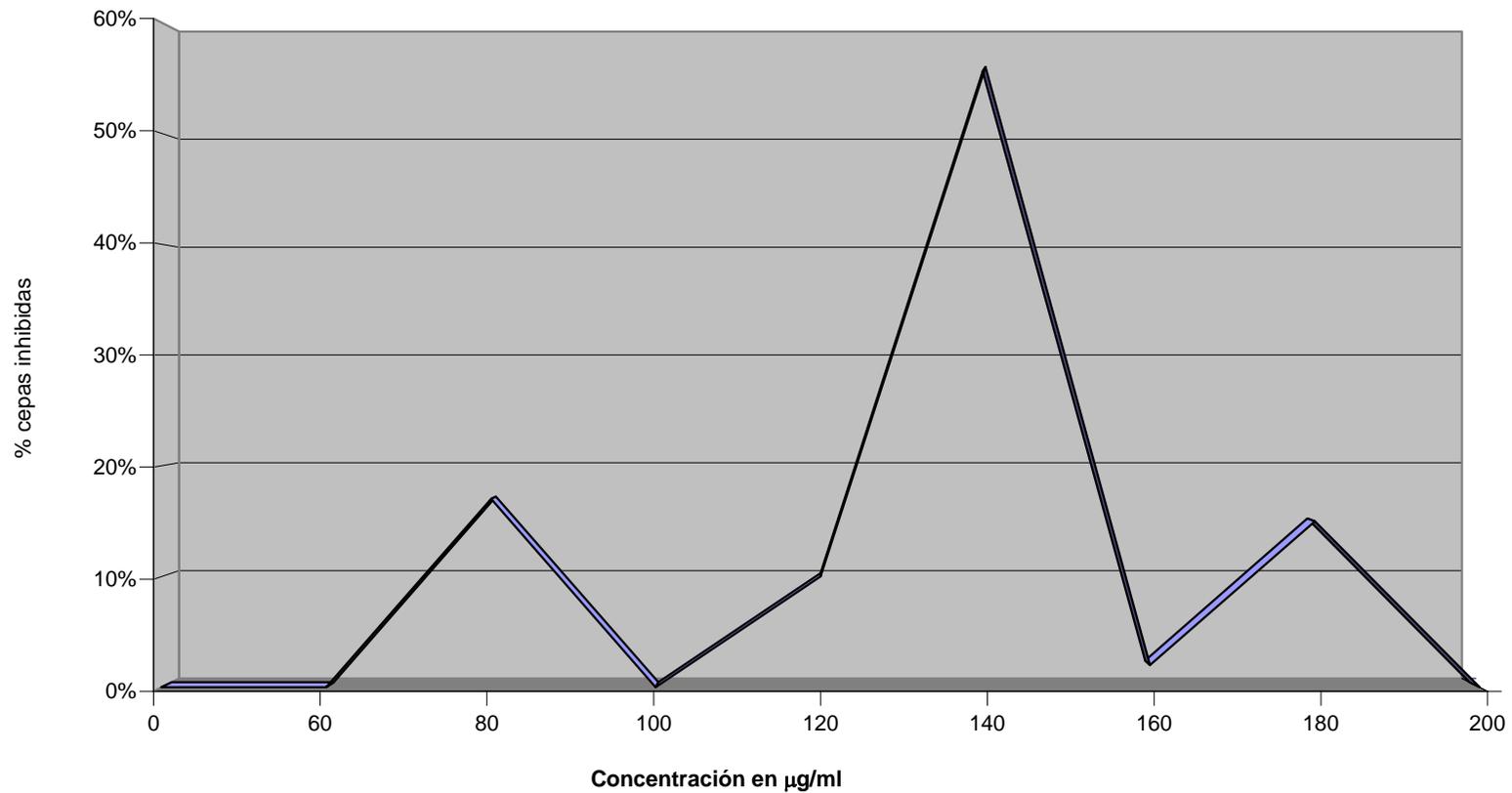


FIGURA 7. CMI de la AMOXICILINA MÁS ÁCIDO CLAVULÁNICO en las cepas Gram positivas encontradas

Equinacea Angustifolia

En la figura 8 se aprecia que el 17% (n = 16) de las cepas fue inhibida a la concentración de 80 µg/ml (4 ml), el 68% (n = 64) a la concentración de 120-160 µg/ml (6-8 ml) y el 15% (n = 14) a la concentración 180 µg/ml (9 ml).

FIGURA 8. CMI DE LA *Equinacea angustifolia* EN CEPAS GRAM POSITIVAS ENCONTRADAS



Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria en los microorganismos Gramnegativos detectados

Metronidazol

En la *Figura 9* se aprecia que el 100% (n = 17) de las cepas identificadas fue resistente al Metronidazol.

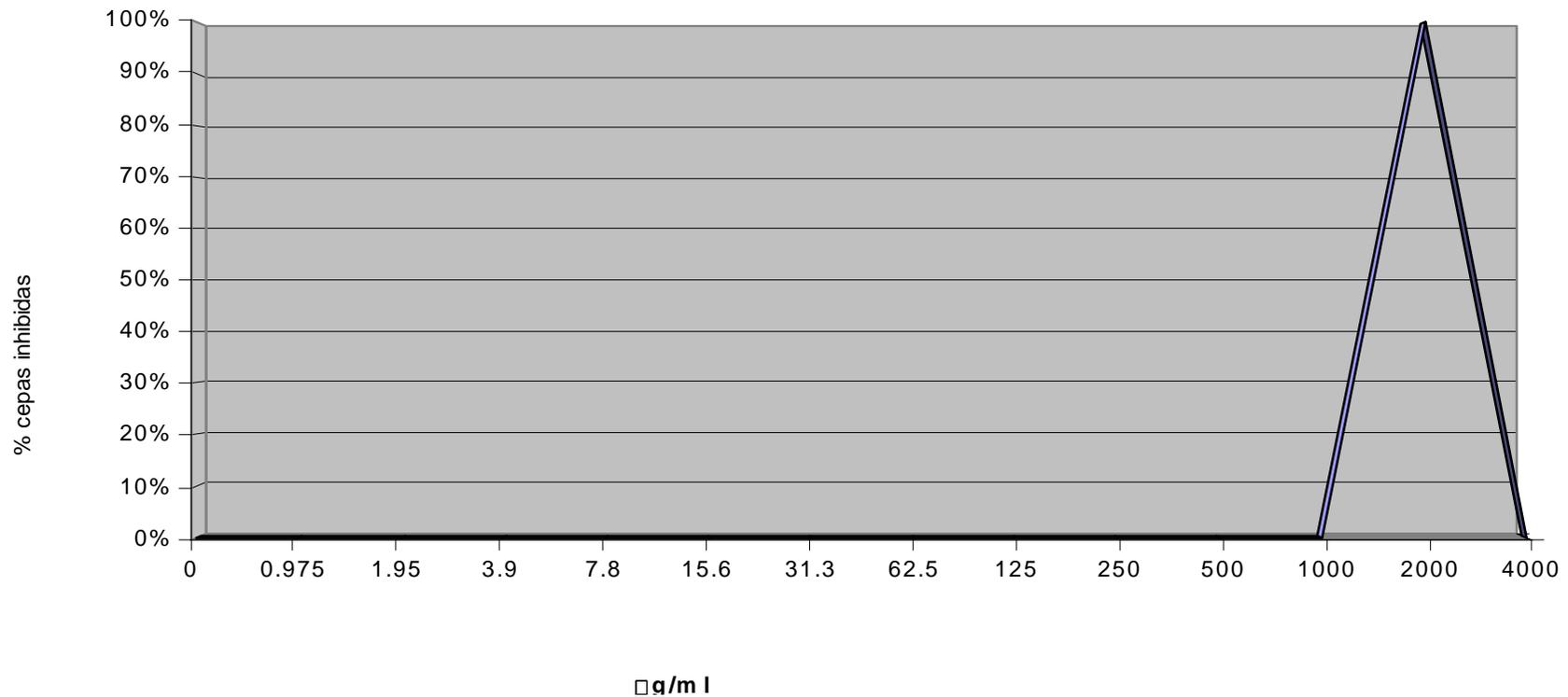


FIGURA 9. CMI del METRONIDAZOL en las cepas Gam negativas encontradas

Clindamicina

En la Figura 10 se observa que el 100% (n=17) de las cepas identificadas fue resistente en la concentración de 2000 $\mu\text{g/ml}$

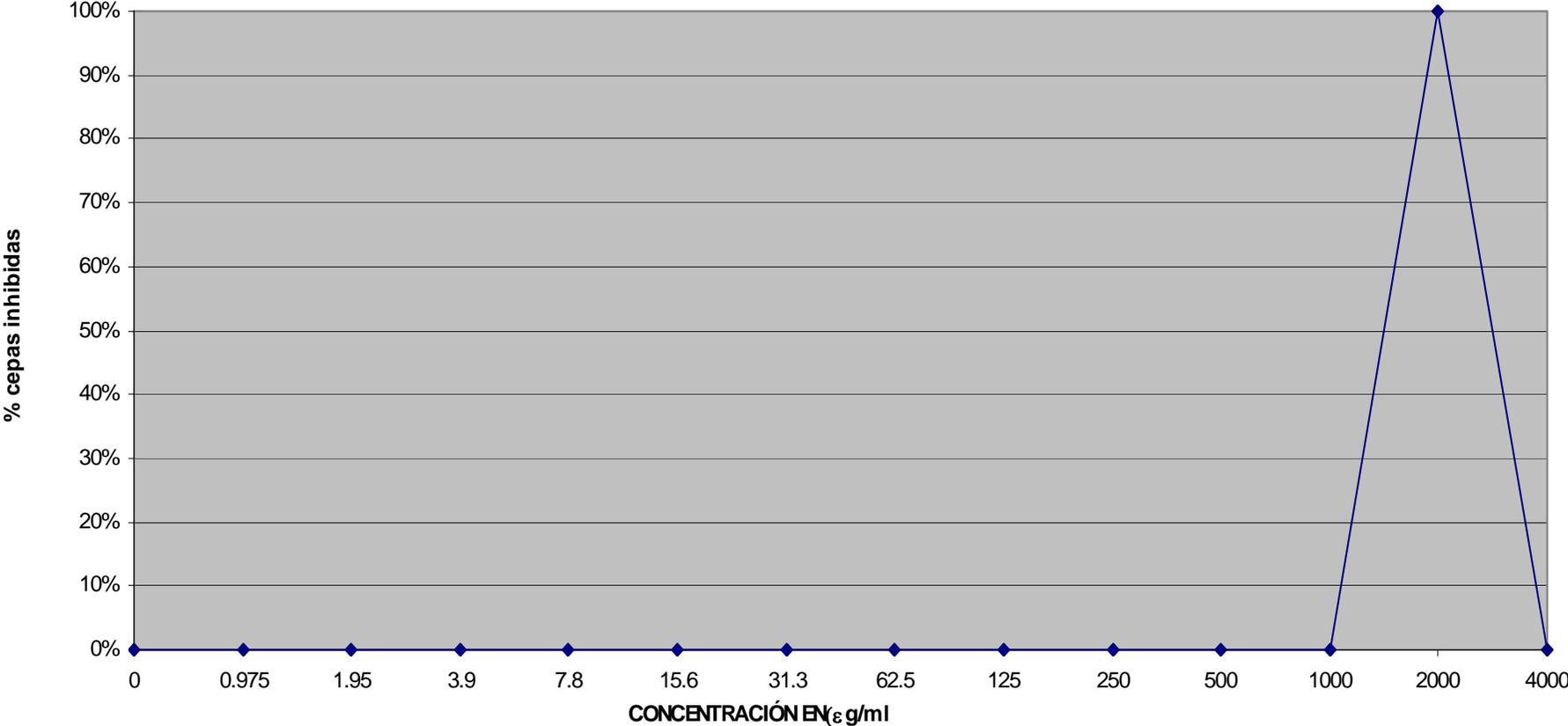


FIGURA 10. Porcentaje de CMI de la CLINDAMICINA en cepas gram negativas encontradas

Amoxicilina con ácido clavulánico

Figura 11. El 14% (n = 2) de las cepas fue sensible en la concentraciones de 0.975 µg/ml, el 21% (n = 3) moderadamente sensibles en el intervalo de 3.9-7.8 µg/ml, y el 65 % (n = 12) de las cepas fueron resistentes a la concentración de 250-1000 µg/ml.

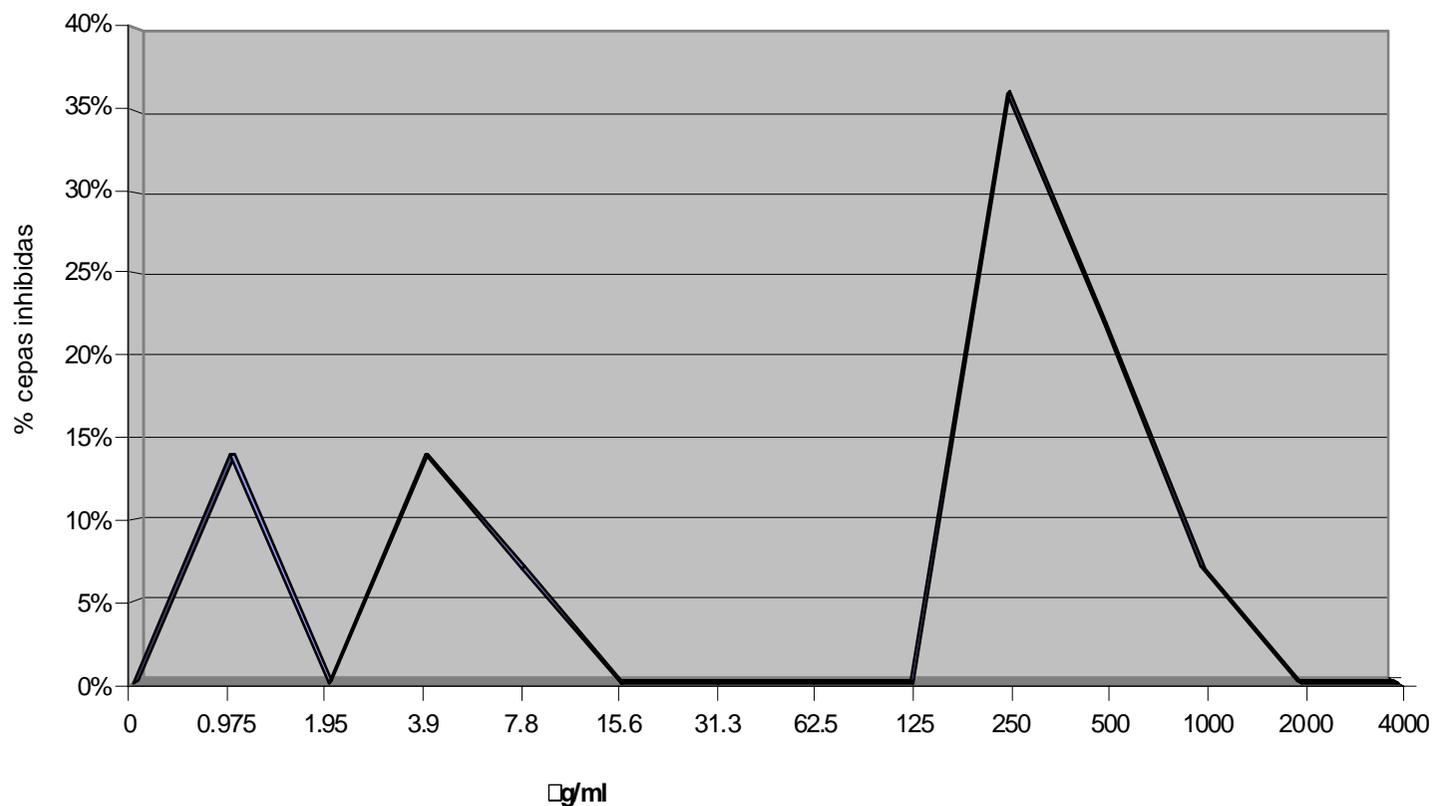


FIGURA 11. CMI de la AMOXICILINA MÁS ÁCIDO CLAVULÁNICO en las cepas Gram negativas encontradas.

Equinacea Angustifolia

En la Figura 12 se aprecia que el 93% (n = 15) de las cepas fueron inhibidas a la concentración de 140 $\mu\text{g/ml}$ (7 ml) y el 7% (n= 2) a una concentración de 180 $\mu\text{g/ml}$ (9ml)

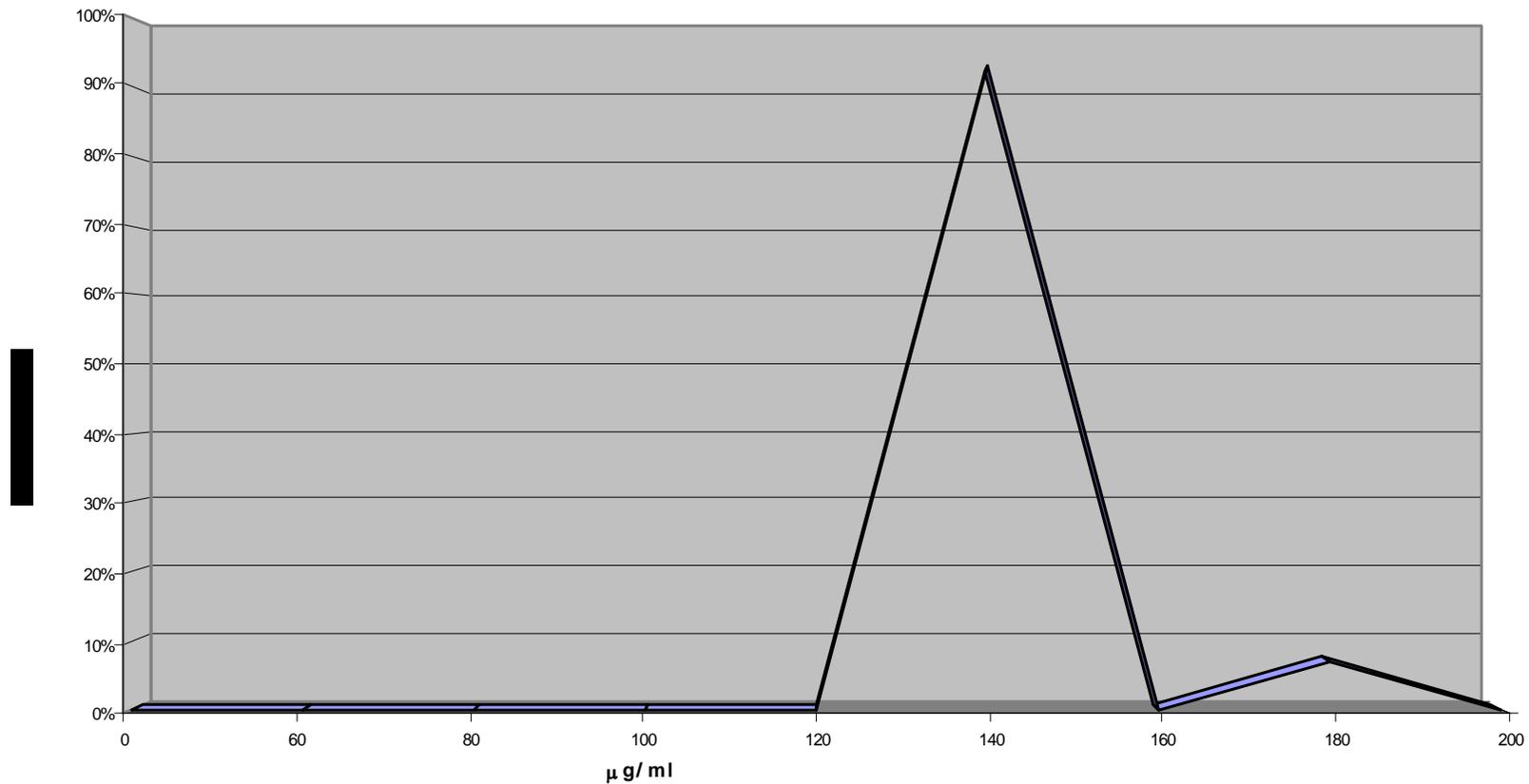


FIGURA 12. CMI de la *Echinacea angustifolia* en las cepas Gram negativas encontradas

RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS GRAMPOSITIVAS A LOS ANTIBIÓTICOS

Staphylococcus spp

En la figura 13 se observa que el 93% (n=13) fue resistente a la (E) *Eritromicina*, el 86%(n=12) a (AM) *Ampicilina*, (PE) *Penicilina*, (CAZ) *Ceftazidima*, (DC) *Dicloxacilina* respectivamente cada uno, 79% (n=11) de las cepas fue resistente a la (CF) *Cefalotina*, el 71% (n=10) al (SXT) *Trimetoprim/sulfametoxol*, el (CTX) *Cefotaxima* , (CXM) *Cefuroxima*, (TE) *Tetraciclina*, el 64%(n=9) (GE) *Gentamicina* y el (PEF) *Pefloxacina* con el 29%(n=9).

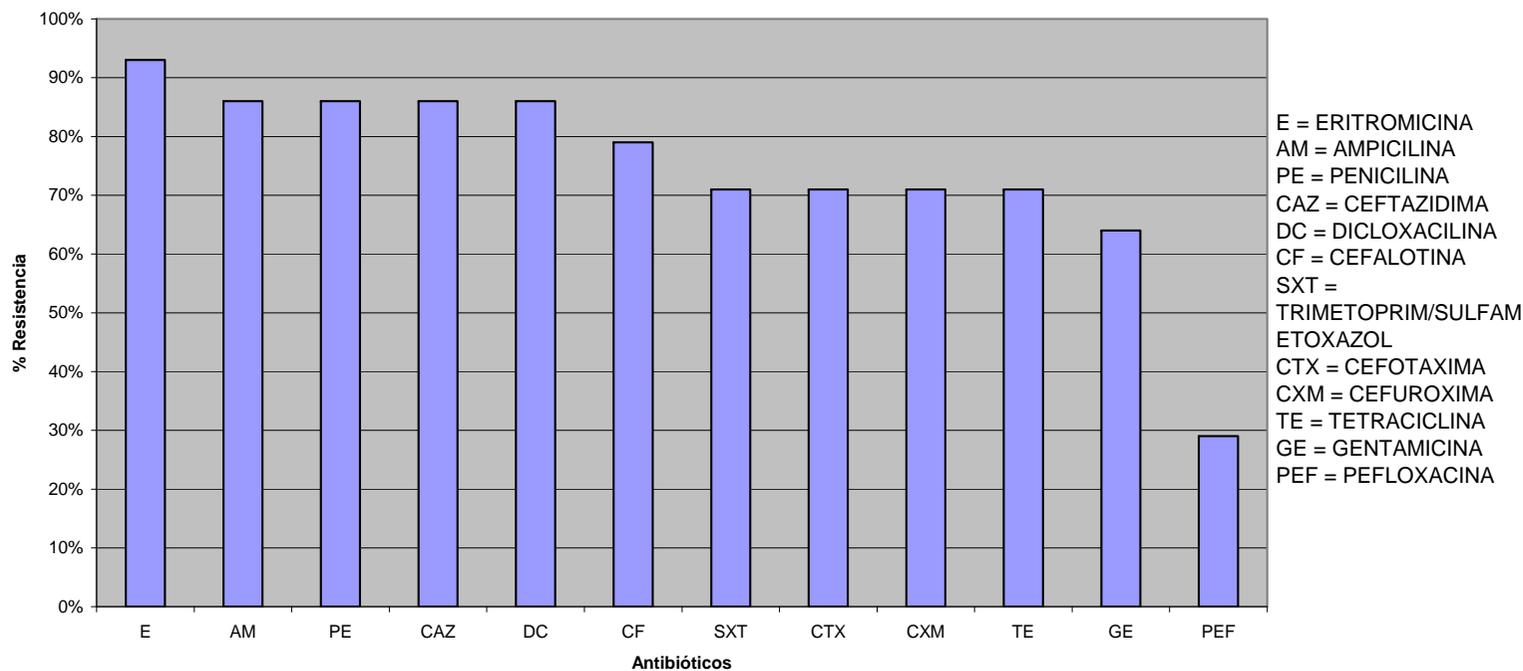


Figura 13. Resistencia a los antibióticos por las cepas de *Staphylococcus spp*.

Staphylococcus aureus

En la figura 14 el 100% (n=21) de las cepas fue resistente a (CF) Cefalotina, (E) Eritromicina y a la (AM) Ampicilina respectivamente, el 95%(n=20) (SXT) Trimetoprim/sulfametoxazol, el 89%(n=19) al (CTX) cefotaxima, el 78% (n=16) (CXM) Cefuroxima, el 67% (n=14) (PEF) Pefloxacina, el 56% (n=12) con (PE) Penicilina, (CAZ) Ceftazidima,(TE) Tetraciclina, el 39% (n=8) (GE) Gentamicina, el 33 % (n=7) (DC) Dicloxacilina.

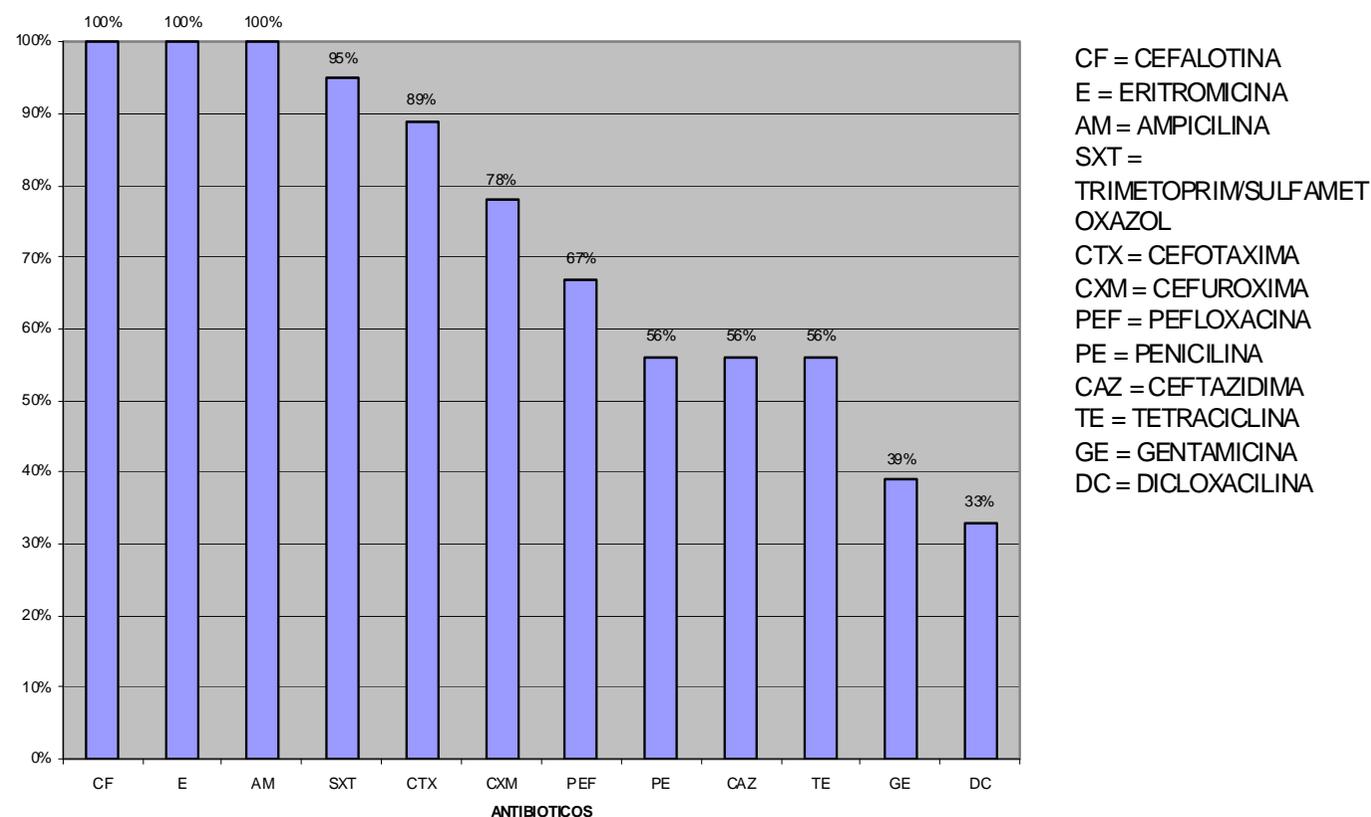


Figura 14. Resistencia a los antibióticos por las cepas de Staphylococcus aureus

RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS A LOS ANTIBIOTICOS

En la figura 15 se observa que el 100% (n=17) de las cepas fue resistente ala (CF) Cefalotina, el 93%(n=16) (CL) Cloranfenicol,(CRO) Ceftriaxona,(AM) Ampicilina el 71% (n=12) (AK) Amikacina y el (SXT) Trimetoprim/ sulfametoxazol, el 50% (n=9) el (CTX) Cefotaxima y la (GE) Gentamicina, el 43% (n=7) el (NET) Netilmicina, el 29% (n=5) la (PEF) Pefloxacina y la (CB) Carbenicilina y el 21% (n=3) NF = Nitrofurantoina.

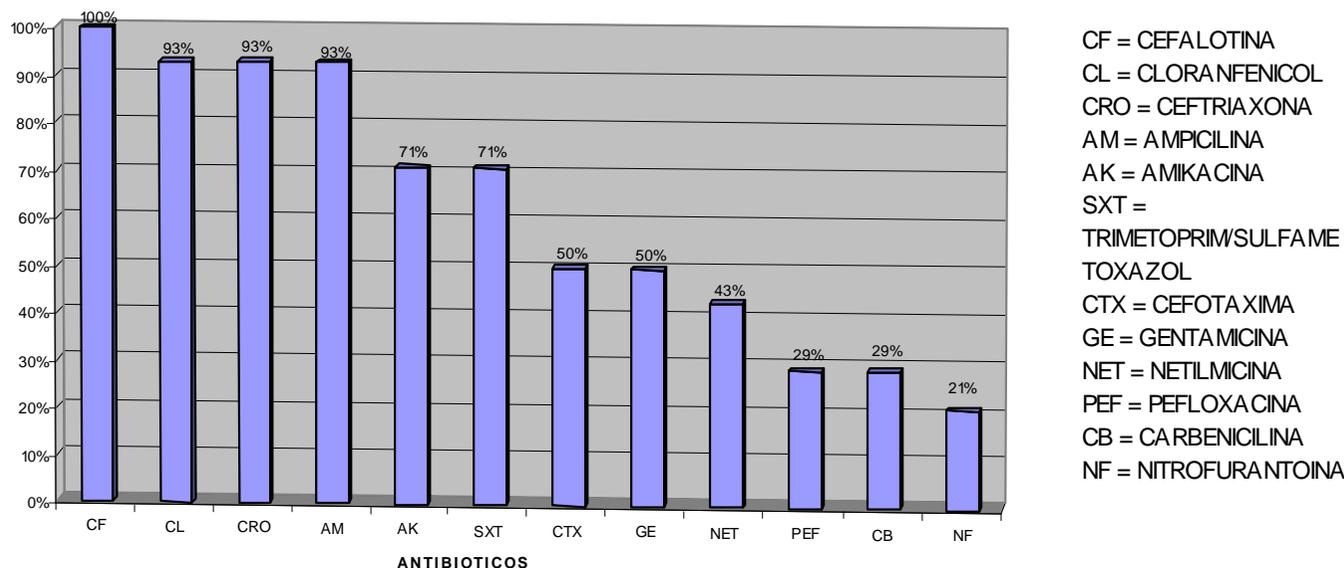


Figura 15. Resistencia a los antibióticos por las cepas Gram Negativas.

DISCUSIÓN

Pacientes analizados

En este estudio analizamos un total de 60 pacientes con enfermedad periodontal que son infecciones localizadas en las encías y estructuras de soporte del diente causadas por microorganismos que colonizan la cavidad oral en una estructura compleja llamada biopelícula. Esta enfermedad periodontal se considera un serio problema de salud bucal en nuestro país, así como en los Estados Unidos de América (EUA), alrededor de 25% a 30% de los sujetos mayores de 30 años, sufren de algún grado de enfermedad periodontal, desde ligera inflamación con sangrado al sondeo hasta pérdida de inserción severa, incluyendo 3.1% de periodontitis severa ⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. En Centroamérica y Suramérica, faltan estudios detallados sobre la prevalencia de la enfermedad periodontal. Los datos de Brasil, Argentina y Chile muestran cifras de periodontitis severa de 5.5%, 10% a 49% y 50%, respectivamente ⁽²⁶⁾. En Colombia, se presenta una pérdida de inserción periodontal de 50.2% que incluye 1.2% de pérdida de inserción severa en sujetos con más de 30 años. En África, los mayores de 25 años muestran una pérdida de inserción periodontal severa entre 18% y 99%. Según Albandar⁽²⁴⁾, la enfermedad periodontal también afecta poblaciones en vía de desarrollo, donde hay aspectos genéticos, culturales e individuales que tienen una influencia importante en su desarrollo. En este estudio se encontró que el 62% (n = 37) de los pacientes presentó periodontitis y el 38% (n = 23) gingivitis (*figura 4*).

Si bien es cierto que, mucha de la información obtenida acerca de la microbiota de la periodontitis ha emergido de estudios realizados en países desarrollados^(27,28,29,30), investigaciones realizadas en otros países han indicado diferencias cualitativas y cuantitativas cuando se compara con la comúnmente percibida ^(31,32,33). Estas variaciones observadas pueden ser debido a los diferentes patrones clínicos de periodontitis, al número de pacientes, sitios y/o muestras estudiadas o por los métodos de diagnósticos empleados en cada estudio.

Varios estudios reportan que, existen una serie de factores de riesgo, los cuales pueden predisponer a los individuos a desarrollar periodontitis desde edades muy tempranas, tales como sexo, edad, hábito de fumar, inadecuada higiene bucal, nutrición, estrés, ingesta de ciertos medicamentos, y el nivel socioeconómico de los individuos ^(34,35,36).

En cuanto al sexo, algunos autores reportan que el sexo no influye en la aparición de la periodontitis. Sin embargo, Genco (1996), refiere que la enfermedad es más frecuente en hombres que en mujeres a edades comparables ⁽³⁵⁾.

Dentro de nuestro estudio se encontramos que acuden al dentista mayor porcentaje del sexo femenino con el 65% (n = 39) y el 35% (n = 21) al sexo masculino (*figura 1*).

Tal situación puede deberse a que los hombres muestran una escasa higiene bucal, en comparación con las mujeres; pero aún cuando se corrigen los hábitos de higiene, se iguala el nivel socioeconómico y la edad de los individuos en los estudios, el sexo masculino sigue asociándose con enfermedad periodontal severa.

Schenkein y col.(1993), quienes reportaron no encontrar diferencia en la microbiota subgingival de hombres y mujeres en varios grupos étnicos ⁽³⁷⁾.

En relación con la edad, (*figura 2*) se aprecia la edad de los pacientes estudiados el 29% (n = 17) de los pacientes presentó una edad comprendida en el intervalo de 51 a 60 años, seguido por el 24% (n =14) de 31 a 40 años, de 15 % (n = 9) en los rangos de 41 a 50 y 61 a 70 años, en cada caso, de 8% (n = 5) en el intervalo de 20 a 30 años y de 3% (n = 2) en los rangos de 10 a 19 y de 71 a 90 años, en cada caso. Varios autores coinciden en señalar que la periodontitis crónica, afecta a individuos de diferentes edades, la cual puede iniciarse en el adulto joven y progresa durante toda la vida, pero en general es clínicamente significativa a partir de los 35 años ^(4,38,39,40). Estudios de prevalencia y epidemiológicos de la

periodontitis crónica, evidencian más enfermedad en grupos de mayor edad cuando son comparados con los grupos más jóvenes. Genco (1996), refiere que ello se debe al grado de destrucción activa de los tejidos durante la vida más que a una edad relativa, factor intrínseco o anomalía que afecte la susceptibilidad periodontal; por lo que manifiesta, que la edad, no es un factor de riesgo, por lo menos hasta los 70 o 75 años⁽³⁵⁾. Por su parte, Gjermo (2000), señala que hay evidencias de que la tasa de destrucción periodontal se incrementa en individuos a partir de los 30-35 hasta 55-60 años aproximadamente y luego se estabiliza ⁽⁴¹⁾. Esta asociación puede deberse, a la destrucción del tejido periodontal o a los cambios ambientales acumulados durante la enfermedad.

La diabetes es otro de los factores de riesgo de las periodontitis por la disminución de la funcionalidad de los PMN, pero con incremento de la liberación de colagenasa, por la típica microangiopatía diabética ⁽⁴⁶⁾ o porque los sujetos con periodontitis controlan peor la glucemia. ⁽⁴⁷⁾

La enfermedad periodontal se considera la sexta complicación de la diabetes, se produce por que en estos pacientes la función de los polimorfos nucleares se encuentra alterada, la adherencia, la quimiotaxis y la fagocitosis. Oliver y col reportaron mayor prevalencia de periodontitis en pacientes con diabetes no controlada en presencia de grandes depósitos de cálculo ellos también reportaron que en pacientes con diabetes no controlada pero con buena higiene se producía poca enfermedad periodontal leve. ⁽⁴²⁾

En los paciente presentados en este estudio el 18% (n = 11) de ellos fueron diabéticos y el 82% (n = 49) no diabéticos (*figura 3*). Por lo que el diagnóstico periodontal se establece luego de analizar con atención los antecedentes del caso y valorar los signos y síntomas clínicos así como los resultados del sondeo, radiografías, etc.

El mayor deterioro periodontal se puede dar a través de dos vías principales: una de ellas porque la diabetes les hace más susceptible al daño tisular y la otra, porque limita su capacidad reparativa. Los fibroblastos y las células endoteliales,

abundantes y esenciales en el tejido periodontal, son células sensibles a la glucosilación no enzimática, proceso bioquímico de fijación de la glucosa a los tejidos, que bajo condiciones de normalidad no es dañino, pero que ante estados hiperglucémicos, es responsable de cambios irreversibles en las estructuras moleculares tisulares.⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾

IDENTIFICACIÓN MICROBIANA

En los últimos años la preocupación de los microbiólogos orales ha sido reinterpretar el rol de las bacterias de la cavidad bucal ya que ésta es el foco y cuna donde diferentes tipos de microorganismos se alojan, propagan y diseminan hacia diferentes órganos del sistema en general.⁽⁶¹⁾

En este estudio se aislaron un total de 111 cepas de microorganismos distintas distribuidos en 8 especies y en 3 géneros diferentes (cuadro 1), dentro de las cuales 17 fueron Gram negativas (15.3%) y 94 Gram positivas (84.7%).

Microorganismos Grampositivos

El microorganismo aislado con mayor frecuencia en este estudio (cuadro 1), fue *Streptococcus* spp con el 44%, la microbiota, en las afecciones gingivales relacionadas con la placa, muestra claro predominio de estreptococos orales en un 50%.⁽⁴⁵⁾ Seguido por *Staphylococcus aureus* con el 19%, este porcentaje puede deberse probablemente a que esta bacteria es un patógeno de la nasofaringe. Un ejemplo, es el estudio realizado en 80 pacientes de la CUSI-Iztacala, en donde se realizaron cultivos nasales, se aisló a *S. aureus* en el 80% de los casos.⁽⁴⁸⁾ En otro estudio realizado en pacientes de la CUSI-I durante un periodo de 7 años, se aislaron 403 cepas de *S. aureus* de la nasofaringe, de un total de 1454 cepas bacterianas identificadas.⁽⁴⁹⁾ Por otra parte, se realizaron exudados óticos a 34 niños que presentaban fuertes irritaciones y que habían estado anteriormente en tratamiento endoperiodontal debido a la presencia de caries, se aisló a *S. aureus* en un 11%.⁽⁵⁰⁾

También en este estudio logramos aislar *Staphylococcus* spp con el 13%, *Candida* spp con el 9%. Su prevalencia varía de acuerdo a la población estudiada y al

método de cultivo. Se estima que en personas sanas se encuentra en un rango de entre 30% y 50%.⁽⁵¹⁾

La inmunoglobulina A (IgA) secretoria en saliva juega un papel importante en la defensa contra la infección, ya que se ha demostrado que inhibe la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales y pacientes con infección muestran niveles incrementados de anticuerpos IgA.⁽⁵²⁾

La candidiasis oral debe ser considerada como un signo, pues para que se manifieste clínicamente debe existir un cambio local o enfermedad sistémica subyacente. De este modo *C. albicans* se transforma en patógeno; de ahí que es importante interrogar al paciente sobre aquellos factores que facilitan su desarrollo.⁽⁵²⁾

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria en los microorganismos Grampositivos detectados.

La administración sistémica de antibióticos sí puede aportar una mejoría del estado clínico periodontal ya que a través del suero pueden acceder de manera fácil a las zonas más profundas del periodonto enfermo. Además los antibióticos pueden eliminar periodontopatógenos de otras zonas de la cavidad oral que actúan como reservorios con el consiguiente efecto profiláctico.⁽⁵⁴⁾

En el presente estudio, se reporta que el total de las cepas fue resistente al metronidazol y el 99% a la clindamicina (*figura 5 y 6*). En cambio la Amoxicilina más ácido clavulánico el 52% y el 6% de las cepas fueron sensibles en los intervalos de 0.975-1.95 µg/ml y 3.9-7.8 µg/ml, respectivamente, mientras que el 2% fue resistente en la concentración de 31.3 µg/ml y el 40 % resistente en la concentración de 125-1000 (µg/ml).

En el tratamiento antibiótico de las periodontitis, en primera línea estaría amoxicilina/ácido clavulánico. Las tetraciclinas tienen además una importante acción colagenolítica, muestran tasas de resistencia por debajo del 5%. Aunque existen importantes controversias sobre su actividad *in vitro*, parece que las resistencias son prácticamente nulas a la asociación amoxicilina/ácido clavulánico. Las tetraciclinas que, tienen además una importante acción colagenolítica,

muestran tasas de resistencia por debajo del 5%. Aunque existen importantes controversias sobre su actividad *in vitro*, parece que las resistencias son prácticamente nulas a la asociación amoxicilina/ácido clavulánico.⁽⁵⁵⁾

Diversos investigadores encuentran que la tasa de producción de betalactamasas se encuentra en torno al 40%, esto le confiere resistencia a penicilina y amoxicilina pero no a la asociación amoxicilina/ácido clavulánico que, otra parte, anularía la acción de otras enzimas libres en el surco gingival procedentes de otras bacterias. El 5-25% de las cepas son resistentes a clindamicina y menos del 5% a metronidazol que además difunde muy bien en el líquido crevicular. Por lo que es efectivo para anaerobias.

desde el punto de vista microbiológico, amoxicilina/ácido clavulánico resulta ser la asociación más eficaz en el tratamiento de las periodontitis siguiéndole metronidazol más amoxicilina, metronidazol y clindamicina.⁽⁵⁶⁾

Microorganismos Gramnegativos

En este estudio (cuadro 1), se identificó a *E. coli* con el 5%, *K. ozaenae* con el 5%, *E. agglomerans* con el 2%, *E. hafniae*, *E. aerobacter*, *A. faecalis* y *C. freundii* con el 1%, en cada caso.

En la universidad de Oslo, Noruega se analizaron pacientes con periodontitis, y se aisló la especie de *Escherichia coli* y el género *Acinetobacter spp.*⁽⁵³⁾

Resistencia a antibióticos en cepas Gramnegativos

En el presente estudio nosotros reportamos que el 100% de las cepas fueron resistentes al *Metronidazol* (figura 9) y a la *Clindamicina* (figura 10),

Desde 1984 se utilizó el ácido clavulánico asociado a las penicilinas y llegó la era de los inhibidores de las betalactamasas⁽⁵⁹⁾ por lo que en este estudio se utilizó amoxicilina más ácido clavulánico en el que 14% de las cepas fue sensible en la concentraciones de 0.975 µg/ml, el 21% moderadamente sensibles en el intervalo de 3.9-7.8 µg/ml, y el 65 % de las cepas fueron resistentes a la concentración de 250-1000 µg/ml.(figura 11). Las concentraciones mínimas

inhibitorias (CMI) se utilizaron por el método establecido por la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ⁽⁶⁰⁾

Resistencia a antibioticos de las cepas Grampositivas

Staphylococcus spp

En este estudio se encontró que el 93% fue resistente a la (E) *Eritromicina*, el 86% a (AM) *Ampicilina*, (PE) *Penicilina*, (CAZ) *Ceftazidima*, (DC) *Dicloxacilina* respectivamente cada uno, 79% de las cepas fue resistente a la (CF) *Cefalotina*, el 71% al (SXT) *Trimetoprim/sulfametoxazol*, el (CTX) *Cefotaxima*, (CXM) *Cefuroxima*, (TE) *Tetraciclina*, el 64%(GE) *Gentamicina* y el (PEF) *Pefloxacina* con el 29%. (figura 13). Diversos autores refieren que Los macrólidos muestran resistencias entre el 18% y el 90% de los casos (menos para azitromicina, el compuesto de este grupo más activo sobre bacilos gramnegativos anaerobios estrictos). ⁽⁵⁷⁾

En 1992 se realizó un estudio, con cepas de *Staphylococcus spp* aisladas de muestras de 250 pacientes con infecciones orofaciales, encontrando que la mayoría de las cepas fue resistente a la *Penicilina*, la cual era considerada como uno de los antibioticos de primera elección por su gran actividad antimicrobiana, al igual que los inhibidores de β – Lactamasas. ⁽⁶⁴⁾

Staphylococcus aureus

En este estudio se reporta que el 100% de las cepas fue resistente a (CF) *Cefalotina*, (E) *Eritromicina* y a la (AM) *Ampicilina* respectivamente, el 95% (SXT) *Trimetoprim/sulfametoxazol*, el 89% al (CTX) *cefotaxima*, el 78% (CXM) *Cefuroxima*, el 67% (PEF) *Pefloxacina*, el 56% con (PE) *Penicilina*, (CAZ) *Ceftazidima*,(TE) *Tetraciclina*, el 39% (GE) *Gentamicina*, el 33 % (DC) *Dicloxacilina*.(figura 14). En distintas partes del mundo, se ha reportado que la frecuencia de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la penicilina es alrededor del 80%.⁽⁶²⁾ Nuestros porcentajes de resistencia a estos antibióticos nos preocupan, debido a que se ha reportado que los antibióticos de primera elección

para tratarlas infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* son la Dicloxacilina y Penicilina. ⁽⁶³⁾

Los datos obtenidos también son semejantes a los de un estudio realizado en 5 hospitales diferentes, las muestras fueron tomadas de la orofaringe de estudiantes universitarios. *Staphylococcus aureus* mostró una resistencia a la Penicilina de 86.2%. También fue resistente a la Eritromicina, Gentamicina y Kanamicina en un 42%(en cada uno de los casos). El 100% de las cepas aisladas fue sensible a la vancomicina, cefalotina y clindamicina. Sin embargo nuestros datos difieren en cuanto a la Cefalotina y clindamicina en el caso anterior. En el 2001 ⁽⁶⁵⁾ en el estudio realizado, con 93 cepas de *Staphylococcus aureus* aislada de la orofaringe, se encontró que la resistencia para la Gentamicina fue de 18.3 % y para Cefalotina de 4.3%.⁽⁶⁵⁾

En este trabajo se encontró que la mayoría de las especies fue resistente a la *Cefalotina*, *Eritromicina*, Penicilina y a la Ampicilina respectivamente. La resistencia a ampicilina reportada por diversos autores es parecida a la reportada en nuestro estudio.

RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS GRAM NEGATIVAS A LOS ANTIBIOTICOS

Con el uso y abuso de los antibióticos han surgido cepas bacterianas resistentes a antibióticos, debido principalmente a la producción de enzimas mediadas por plásmidos o transposones ⁽⁵⁸⁾ por lo que podemos encontrar en este estudio (*figura 15*) se observa que el 100% de las cepas fue resistente a la (CF) *Cefalotina*, el 93% (CL) *Cloranfenicol*, (CRO) *Ceftriaxona*, (AM) *Ampicilina* el 71% (AK) *Amikacina* y el (SXT) *Trimetoprim/ sulfametoxazol*, el 50% el (CTX) *Cefotaxima* y la (GE) *Gentamicina*, el 43% el (NET) *Netilmicina*, el 29% la (PEF) *Pefloxacina* y la (CB) *Carbenicilina* y el 21% NF = Nitrofurantoina. El grupo de los aminoglucósidos (*Gentamicina*, *Amikacina*, *Netilmicina*) actúan sobre las bacterias sensibles, principalmente bacterias Gramnegativas aerobias, pasando a través de las porinas y después son transportados por moléculas de oxígeno hasta el sitio de acción, inhibiendo la síntesis de proteínas a nivel de las subunidades 30s de los ribosomas (encargados de la lectura del código genético), formando proteínas

defectuosas no funcionales y por lo tanto, modifican la traducción del ARNm. Para ejercer su acción, es necesario que las bacterias se encuentren en fase de crecimiento. ⁽⁵⁹⁾ Sin embargo en este estudio se encontró que para las bacterias aerobias Gramnegativas la Gentamicina, Amikacina obtuvimos porcentajes altos de resistencia, el netilmicina fue menos resistente que los antibióticos anteriormente mencionados.

Equinacea Angustifolia

Las bacterias generalmente no son removidas con las técnicas de rutina y los agentes quimioterapéuticos tienen un papel como ayudantes con el cuidado en el hogar. Entre los enjuagues que actualmente se consiguen en el mercado, los de clorhexidina, aceites esenciales, hexetidina y cetilpiridinio, entre otros, tienen aprobación por la Asociación Dental Americana. ⁽⁶⁶⁾

El uso de Echinacea angustifolia 2D (decimal) que es un medicamento homeopático de origen vegetal, con las características mencionadas anteriormente su aplicación favorece la recuperación de la salud bucal de los pacientes, reduciendo las posibilidades de que experimente un efecto secundario. ⁽²²⁾

Maria Espejel Mejia, creación del primer enjuague bucal homeopático desarrollado en México para tratar la gingivitis. Comentó que esta solución bucal, además de tratar la gingivitis, disminuye la placa dentobacteriana y la halitosis bucal. El enjuague lo utilizaron tres veces al día después del cepillado diluido en 10 mL de agua (20 gotitas) manteniéndolo en la boca durante 1 minuto. Es importante no ingerir alimentos hasta después de media hora de su uso, aunque para mantener una boca sana es necesario combinar este enjuague con una adecuada técnica de cepillado. ⁽²²⁾ En este estudio in Vitro encontramos para los gram positivos el 17% (n = 16) de las cepas fue inhibida a la concentración de 80 µg/ml (4 ml), el 68% (n = 64) a la concentración de 120-160 µg/ml (6-8 ml) y el 15% (n = 14) a la concentración 180 µg/ml (9 ml). (figura 8) mientras que en las gram negativas el 93% (n = 15) de las cepas fueron inhibidas a la concentración de 140 µg/ml (7 ml) y el 7% (n= 2) a una concentración de 180 µg/ml(9ml) (figura 12).

CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir el 18% de los pacientes fueron diabéticos por lo que observamos que es frecuente trabajar con pacientes con enfermedades sistémicas por lo que debemos estar informados.
- El 62% de los pacientes presentó peridontitis por lo que podemos observar la prevalencia de esta enfermedad en la población mexicana.
- El 15.3% fueron Gram negativas y el 84.7% Gram positivas por lo que prevalecen las bacterias aerobias Gram positivas.
- Dentro de los Gram positivos se encontró con mayor frecuencia el *streptococcus spp* seguida del *staphylococcus aureus*.
- En el grupo de los Gram negativos encontramos *Escherichia coli* como la bacteria más común seguida de la *Klebsiella ozaenae*.
- La mayoría de las especies Grampositivas y Gramnegativas aisladas fueron resistentes a los principales antibióticos de elección ya que con el uso y abuso de los antibióticos han surgido cepas bacterianas resistentes a estos.
- Los datos obtenidos en este trabajo evidenciaron la importancia de aislar e identificar las bacterias con el propósito de prescribir adecuadamente el antimicrobiano mas eficaz el cual en este estudio fue la amoxicilina más ácido clavulánico. Aunque para las Gram negativas el 65% fue resistente a este.
- La Echinacea Angustifolia resulto eficaz tanto para Gram positivas como negativas con una concentración de 180 µg/ml (9ml) el 100% de los microorganismos fue sensible hasta esta concentración. Que corresponde el 18% de Echinacea Angustifolia (tintura madre) diluida en el 82% de agua.

BIBLIOGRAFIA

1. Newman, Hubert, LA PLACA DENTAL, Ecología en la flora de los dientes humanos, Editorial El manual moderno, México, 1982 (1,4,7, p.).
2. Flores Torres, Sylvia X, LA MICROBIOLOGIA BUCAL, México, 1983, Pág. 85.
3. Kroes, I, Lepp PW, Relman DA: Bacterial Diversity within the human subgingival crevice, Proc Natl Acad Sci USA, 1999,96: 14547.
4. Carranza Fermin, et al. Periodontología clínica, Mc Graw Hill, México D.F. 2006 (9 edición, p. 100-117).
5. Cumache, Virginia. (1997) Relación del tabaquismo y la placa dental en pacientes del postgrado de periodoncia de la Facultad de Odontología de la UCV. Trabajo de ascenso.
6. JAN LINDHE (2000) CAPITULO #3,4,5 Periodontología Clínica e implantodontología Odontológica 3ra Ed Madrid (pag 102-134, 143-178, 191-225).
7. Liébana, J. (1997).Microbiología Periodontal y Periimplantaria. Microbiología Oral. Mc GrawHill Interamericana. P:465-492.
8. Abraham, E.P. E. Chain; C.M. Fletch; H. W. Florey; A.D.Gardener; N.G. Healtley y M.A.Jennings, 1941. Futher observations on penicillin.Lancet 2: 177-188.
9. Murray, R, Kilham, L. Wilcox,C. y Finland, M. 1964. Development of streptomycin resistance of Gram-negative bacilli in vitro and during treatment.Proc. Soc Exptl.Biol.Med. 53:470-474.
10. Bryan, L.E. 1980. Mechanisms of Plasmad mediated Drug Resistance. En: Stuttard, C. and K.R. (eds) "Plasmids and Transposons: Enviromental effects and Maintenance Mechanisms". Academis Pree, New York,pp57-81.
11. Amábile Cuevas, C.F. 1988. La Resistencia bacteriana a los antibioticos Ciencia y Desarrollo. Núm 80. CONACYT. Año XIV:57-68.
12. . <http://www.fredmeyer.com/Es-Herb/Echinacea.htm>. 17 Enero 2007
12. Melchart D, Walther E, Linde K, et al. Echinacea root extracts for the prevention of upper respiratory tract infections: A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Arch Fam Med* 1998;7:541-5.
13. <http://www.botanical-online.com/medicinalsequinacea.htm>. Febrero 2007

14. Taylor JA, Weber W, Standish L, y otros. Eficacia y seguridad del echinacea en tratar infecciones superiores de la zona respiratoria en niños: un ensayo controlado seleccionado al azar. *Diario de la asociación médica americana.* 2003; 290 (21): 2824-2830.
15. Leuttig B, Steinmuller C, et al. Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of *Echinacea purpurea*. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:669–75.
16. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckman J, eds. *Medicina herbaria: Monografías ampliadas de la Comisión.* 2000:88 - 102.
17. Barrett BP, RL marrón, Locken K, y otros. Tratamiento del frío común con echinacea sin refinar: un ensayo seleccionado al azar, double-blind, placebo-controlado. *Medicina interna.* 2002; 137 (12): 939-946.
18. Dorn M, Knick E, Lewith G. Placebo-controlled, double-blind study of *Echinacea pallida redix* in upper respiratory tract infections. *Comp Ther Med* 1997;5:40–2.
20. See DM, Broumand N, Sahl L, Tilles JG. In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. *Immunopharmacol*(1997;35:229–35.)
21. Premio Internacional a Académica de Iztacala. Lo otorgan a la red Global de mujeres Inventoras e innovadoras del reino unido en mujeres. Maura Espejel Mejia. GACETA UNAM, p.3 6 noviembre 2006..
22. Espejel, Mejia Maura, Guzmán Candido, et al. Colutorios de *Echinacea Angustifolia* 2D en el tratamiento de gingivitis simple en niños de 8 a 13 años. *ADM* 2006:LXIII, 6: 205-209. *ADM* 2006:LXIII, 6: 205-209.
23. Bauer, A.W.; w.M. Kirby: J. C. Sherris. M. Turk. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol,* 45:493-496.

- 24.. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999; 70: 13-29.
25. Albandar JM. Periodontal diseases in North America. *Periodontol2000* 2002; 29: 31-69.
26. Gjermo P, Rosing CK, Susin C, Oppermann R. Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol 2000* 2002; 29: 70-78.
27. Slots, J. 1979: Subgingival microflora and periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 6:35- 82.
28. Dzink, J.; Tanner, A.; Haffajee, A.; Socransky, S. 1985. Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. *J. Clin. Periodontology* 12: 648-659.
29. Hafajee, A.; Socransky, S. 1994: Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 5: 78-111.
30. Grenier, D.; Turgeron, J. 1994: Ocurrence and identity of proteolytic bacteria in adult periodontitis. *J. Periodontol. Res.*29: 365 - 370.
31. Ali, R.; Bakken, V.; Nilsen, R.; Skaug, N.1994: Comparative Detection Frecuency of 6 Putative Periodontal Pathogens in Sudanese and Norwegian Adult Periodontitis Patients. *J. Periodontol.* 65: 1046 - 1052.
32. Ali, R.; Velcescu, C.; Jivanescu, M.; Lofthus, B; Skaug, N. 1996: Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingivalplaque samples from Romanian adult periodontitis patients. *J. Clin Periodontol.* 23: 133-139.
33. Ali, R.; Johnnessen, A., Dahlen, G.; Socransky, S.; Skaug, N. 1997: Comparison of the

subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in Northern Cameroon.

J. Clin Periodontol. 24: 830-835.

34. Botero, L.; Alvear, F.; Echeverri, H. 1995: Factores de riesgo en enfermedad periodontal.

Rev. Fac. Odont. Univ. Ant. 7 (1): 51-59.

35. Genco, R. 1996: Current View of Risk Factors for Periodontal Diseases. J. Periodontol. 67

(10): 1041- 1049.

36. Umeda, M; Chen, C.; Bakker, I.; Contreras, A.; Morrison, J.; Slots, J. 1998: Risk Indicators

for Harboring Periodontal Pathogens. J. Periodontol. 69:1111-1118.

37. Schenkein, H; Burmeister, J.; Koertge, T.; Brooks, C.; Best, A.; Moore, L.; Moore, W. 1993: The influence of race and gender on Periodontal Microflora. J. Periodontol. 64(4):292-296.

38. Marsh, P.; Martin, M. 2000: Oral Microbiology. Fourth edition. Wright. England.

39. Tanaca, S.; Murakami, Y.; Ogiwara, T.; Shoji, M.; Seto, K.; Nagasaki, M.; Fujisawa, S.

40. Kinane, D. 1999: Periodontitis Modified by Systemic Factors. Ann. Periodontol 4(1):54-63.

41. Gjermo, P. 2000: The impact of age. J. Clin. Periodontol. Suppl. 1. 27:9.

42. Alpagot T Silverman Crevicular fluid elastasa levels in relación to periodontitis and metabolic control of diabetes J Periodontol Res 2001 :36:169-174.

43. Lalla E, Lamster IB, Schmidt AM. Enhanced interaction of advanced glycation end products with their cellular receptor RAGE: Implication for the pathogenesis of accelerated periodontal disease in diabetes. Ann Periodontol 1998; 3: 13-19.

44.. Grossi S, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two way relationship. Ann Periodontol 1998; 3: 51-61.

45. Socransky SS, Haffajee AD. Biofilms dentales: objetivos terapéuticos y difíciles. Periodontol 2000 2003;3:12-55.

- 46.. Takahashi K, Nishimura F, Kurihara M, Iwamoto Y, Takashiba S, Miyata T, et al. Subgingival microflora and antibody responses against periodontal bacteria of young Japanese patients with type 1 diabetes mellitus. *J Int Acad Periodontol* 2001;3:104-11.
47. Sastrowijoto SH, van der Velden U, van Steenberghe TJ, Hillemans P, Hart AA, Graaff J, et al. Improved metabolic control, clinical periodontal status and subgingival microbiology in insulin-dependent diabetes mellitus. A prospective study. *J Clin Periodontol* 1990;17:233-42.
48. Paniagua , G. Monroy E., García O,Vaca, S. 1998. Effect of Betalactamase Inhibitors on Minimum Inhibitory Concentration of Ampicilina and Amoxicillin for *Staphylococcus aureus* strains. *Rev latin Microbiol* 40:128-134.
49. Jiménez, M. 1996. Patrones de Resistencia a Antibióticos de Bacterias aisladas de pacientes de la Clínica Universitaria Iztacala durante 7 años. Tesis Profesional. Licenciatura. UNAM Iztacala.
50. G. Mogi 1988. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in otitis media with efüsión. *Archives of otolaryngology head and neck surgery*. 114(11): 1262-1265.
51. Bastian Jr. , Reade Jr. The prevalence of *Candida albicans* in the mouths oral mucous membrane keratoses. *Oral Surgery* 1989; 53(2): 148-151.
52. Romero Cabello R. *Microbiología y parasitología humana*. 2a. edición ; editorial Medica Panamericana 1999. p. 544-547.
53. Trude, H.; Caugant, D.S: and Olsen , I. 2003. Antibiotic Resisitance in Bacteria Isolate from Subgingival Plaque in a Norwegian Population with refractory Marginal Periodontitis. *Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47: 1443-1446.
54. Slots J, Ting M. Utilización de antibióticos sistémicos en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Periodontol* 2000 2002;28:106-76.
- 55.Liñares J, Martín-Herrero JE. Bases farmacomicrobiológicas del tratamiento antibiótico de las enfermedades periodontales y perimplantarias. *Av Odontostomatol* 2003;especial:23-33.

56. Liébana J, Castillo AM, Álvarez M. Enfermedades periodontales: consideraciones microbiológicas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004;9
57. Kleinfelder JV, Mueller RF, Dieter L. Fluorquinolones in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol* 2000;71:202-7
58. Medina Rodriguez R., Benitez Coss A. Gómez Cantú A. Antimicrobianos y bacterias en la consulta odontologica (primera parte) *Odontologia clinica*, 2006;5: 4-10.
59. Houndt T, Ochman H Long-term shifts in patterns of antibiotic resistance in enteric bacteria. *Appl Envir Microbiol* 2000; 66: 5406-9.
60. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antibacterial susceptibility test for bacteria that grow aerobically 5th ed. Approved standars. NCCLS document M7-A5 2001., Wayne,PA.
61. Almer Noa, Martin MV, Pealing, Ireland RS, Smith Antibiotic prescribing knowledge of national health service general dental practitioners in England and Scotlan. *J. Antimicrobiol Chemotherapy* 2001, 47:233-237.
62. O Brien T.F. an the International Survey of Antibiotic resistance Group, 1986 . Resistance to antibiotic at medical centers in different parts of the world.*J.Antimicrob. Chemother* 18 (Suppl.C.)243-253.
63. Ehrenkranz,N.J. 1984. Enfermedades por estafilococos. En:Kagan, B.M. Tratamiento con antiicrobianos 3 ed. Interamericana, México, 209-217.
64. apariio G, Paz-Ramirez M, Ribas-Aparicio RM, Giono-Cerezo S, Rivera E. 1994. Resistencia a antibioticos por *Staphylococcus aureus* de origen diverso y su utilidad en la tipificación de cepas . *Rev La-Bacta*; 6(2):47-52.
65. Navarro-Navarro M, Cardoza-Amador JL, Rendón-Ibarra CA,Rivera Castañeda. Resistencia a los antibioticos en cepas comunitarias y hospitalarias de *Staphylococcus aureus*. *Bol. Clin Hos Infant Edo Son*; 18(1):9-13.
66. Barnett ML. The role of therapeutic antimicrobial mouth rinses in clinical practice: control of supragingival plaque and gingivitis. *J Am Dent Assoc* 2003; 134:699-704.