



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



EFFECTIVIDAD DEL PROPÓLEO Y LA EQUINÁCEA COMO ANTISÉPTICO BUCAL EN LA
DISMINUCIÓN DE *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. ESTUDIO *IN VITRO*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN ESTOMATOLOGÍA DEL NIÑO Y DEL ADOLESCENTE

P R E S E N T A

OCAMPO VELÁZQUEZ ISRAEL

DIRECTOR: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE

ASESOR: Q.B.P. RUTH PAZ GONZÁLEZ



MÉXICO DF 2012



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.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Especialidad en Estomatología del Niño y del Adolescente por darme una nueva oportunidad de aprendizaje y ser mejor profesional en el área odontológica.

A la Dra. Raquel Retana por guiarme y otorgarme sus conocimientos, tiempo y paciencia para el desarrollo de esta investigación y hacerla posible.

A la Q.B.P. Ruth Paz quien me brindó la confianza, dedicación y aportación en el área de microbiología.

Al Laboratorio de Producción de Biológicos de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM, a la Química Patricia Vidal y al Laboratorio Química Humana de Referencia por brindarme su apoyo con las instalaciones, cepas y materiales con los cuales se realizó esta investigación.

A la Mtra. Silvia Servín, C.D. Esp. Miriam Castellón y al Mtro. Jesús J. Regalado quienes me orientaron y aportaron su experiencia y conocimiento hasta el final de este proyecto.

DEDICATORIAS

A toda mi familia que desde siempre me han apoyado en todo lo que he decidido, en mi educación y formación profesional como en la vida misma, las palabras nunca serán suficientes para transmitir lo orgulloso que me hacen sentir y por las lecciones que puedo aprender de su experiencia.

A mis amigos que cuento con mis manos y aún cuando las circunstancias nos separan siento su apoyo constante, sus consejos y ocurrencias, por compartir parte de su vida y externarme su amistad en cada momento.

Para quienes se alejaron aún un poco más y sin embargo dejaron una gran huella de felicidad y gratitud.

A todos mi éxito.

ÍNDICE

| | | |
|-------|---|----|
| I. | RESUMEN..... | 2 |
| II. | INTRODUCCIÓN | 3 |
| III. | MARCO TEÓRICO | 4 |
| | III.1. CAVIDAD ORAL..... | 4 |
| | III.2. ENJUAGUES..... | 14 |
| | III.2.1. CLORHEXIDINA..... | 16 |
| | III.3. MEDICINA COMPLEMENTARIA..... | 26 |
| | III.3.1. PROPÓLEO..... | 31 |
| | III.3.2. EQUINACEA..... | 44 |
| IV. | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 49 |
| V. | HIPÓTESIS..... | 50 |
| VI. | OBJETIVOS..... | 51 |
| VII. | MATERIAL Y MÉTODOS..... | 52 |
| | VII.1. TIPO DE ESTUDIO..... | 52 |
| | VII.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO..... | 52 |
| | VII.3. VARIABLES..... | 52 |
| | VII.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES..... | 52 |
| | VII.5. TÉCNICAS..... | 53 |
| | VII.6. DISEÑO ESTADÍSTICO..... | 53 |
| VIII. | RESULTADOS | 55 |
| IX. | DISCUSIÓN..... | 57 |
| X. | CONCLUSIONES..... | 60 |
| XI. | PERSPECTIVAS..... | 61 |
| XII. | BIBLIOGRAFÍA..... | 62 |

I. RESUMEN

La flora bucal, como cualquier flora de nuestro cuerpo, es parte importante en el proceso salud-enfermedad, debido a que contribuyen al desarrollo del sistema inmunológico. Al hablar de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* los asociamos frecuentemente a la caries dental e infecciones orales debido a su potencial patogénico, que se ha demostrado a través de diversos estudios.

Pensando en tener un control específico en la disminución de estos microorganismos se han desarrollado numerosos productos con la capacidad de reducir su crecimiento, uno de ellos son los enjuagues bucales que son ampliamente utilizados por sus agentes antimicrobianos activos que actúan en los dientes y encías, sin embargo, por su costo elevado y algunos efectos adversos, se limita su uso o se recomienda suspenderlo después de cierto periodo. Buscando alternativas, la medicina complementaria (homeopatía, herbolaria, por mencionar algunas) toma auge en la investigación y sugiere nuevos productos que cuentan con efecto antimicrobiano a bajo costo, de hecho algunos estudios indican que el propóleo y la equinácea disminuyen la flora bacteriana oral y los signos de gingivitis.

Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar "*in vitro*" la actividad antimicrobiana del propóleo y la equinácea, tomando la clorhexidina como testigo y agua destilada. Los microorganismos estudiados fueron *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. El procedimiento consistió en colocar sensidiscos de cada sustancia sobre la superficie de placas de agar Müeller Hinton previamente sembradas con una suspensión homologada de cada microorganismo. Todas las placas fueron incubadas de acuerdo a los requerimientos de oxígeno y tiempo de cada microorganismo. Los resultados se registraron a través de la extensión de los halos de inhibición microbiana observada. Resultados: los sensidiscos con propóleo presentaron halos de inhibición con una diferencia de -2.2mm respecto a la clorhexidina en relación a las dos cepas estudiadas en tanto que la equinacea mostró halos de inhibición de -2.0mm respecto a los del propóleo en la cepa de *Streptococcus mutans* no así en la cepa de *Staphylococcus aureus* donde mostró una actividad menor de -8.7mm en función a la clorhexidina. Puede concluirse que bajo las condiciones del presente estudio, el propóleo es más efectivo sobre los microorganismos probados que la equinacea.

II. INTRODUCCIÓN

Dentro de los problemas en salud a nivel mundial se encuentran las patologías que están relacionadas con el área odontológica. Dos de los microorganismos potencialmente patógenos de la cavidad oral son los *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, el primero como principal patógeno causante de caries dental y el segundo como partícipe en los procesos infecciosos a nivel parodontal.

Diversos han sido los estudios realizados en función al control de estos microorganismos a través de la medicina alópata, de estos reportes ha surgido la clorhexidina como el principal agente antimicrobiano que controla el desarrollo de los mismos. Sin embargo ante la creciente demanda de la población por la búsqueda de nuevos productos se han investigado diversas sustancias que puedan sustituir a la clorhexidina. De estas propuestas se desprende el propóleo y la equinacea, que han demostrado sus propiedades antimicrobianas.

Al respecto, tanto el propóleo como la equinacea tienen como componente los flavonoides que son compuestos bioactivos que desempeñan un papel importante en la terapéutica, motivo por el cual se pretende su uso para disminuir la prevalencia de las afecciones bucales provocadas por dichos microorganismos, en este caso los que ocupan la presente investigación que son *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, retomando así la confianza que depositan algunos sectores de la población en el uso de “productos alternativos”.

III. MARCO TEORICO

III.1. CAVIDAD ORAL

Desde hace tiempo, el hombre ha tenido una incesante preocupación por las enfermedades del sistema estomatognático, el tratamiento y rehabilitación, para prestar el servicio constante y fundamental que requiere. Se afirma que las lesiones dentarias son tan antiguas como la vida del hombre sobre el planeta¹.

La cavidad oral y tejidos de soporte son un ambiente húmedo, el cual tiene una temperatura relativamente constante (34 a 36°C), con un pH hacia la neutralidad en la mayoría de sus superficies y soporta el crecimiento de una gran variedad de especies. El resultado de la interacción entre el medio oral y la flora bacteriana así como su localización (superficies dentales, surcos y fosas de la cara oclusal, surco gingival), es un acúmulo bacteriano que se adhiere a la superficie dental o se sitúa en el espacio gingivodental, compuesto por una comunidad microbiana rica en bacterias aerobias y anaerobias, rodeadas por una matriz intercelular de polímeros de origen microbiano y salival que involucran el desequilibrio en la flora normal y el desplazamiento de estos a nuevos sitios^{2,3,4}.

Los microorganismos orales son parte importante en la salud y la enfermedad, contribuyen al desarrollo del sistema inmunológico y proveen de resistencia a la colonización por microorganismos patogénicos⁵⁻⁸. Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus*, básicamente las especies *mutans* junto con otras bacterias, han sido asociados con la caries, tanto en animales de experimentación como en humanos^{1,9}. Diversos investigadores han demostrado por medio de estudios microbiológicos en serie, que los *Streptococcus mutans* son la especie que se asocia con mayor certeza a la iniciación de esta patología en el ser humano^{2,3,7,8,10}. Es impresionante la evidencia en cuanto a que la naturaleza cualitativa de la flora en la placa determina el metabolismo y el potencial para la producción de caries. El *Streptococcus mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas humanas, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción⁹.

Los *Streptococcus mutans* son bacterias que presentan forma de coco Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos, los cuales miden de 0.5 a 0.8 µm de diámetro, anaerobios facultativos, no tienen movimiento, no forman esporas, comprenden parte de la flora microbiana resistente de la cavidad bucal y vías respiratorias altas, son patógenos oportunistas en enfermedades humanas como la caries dental^{1,3,11}.

El *Streptococcus mutans* su nombre lo recibe por su tendencia a cambiar de forma, que se puede encontrar como coco o de forma más alargada, como bacilo^{1,3}.

Cuando se habla de virulencia de un microorganismo, se está haciendo referencia a su capacidad de producir daño, es decir, generar una enfermedad. El grupo *mutans* posee características, tanto de actividad bioquímica como fisiológica, una de las cuales y de gran importancia, es la coagregación y su participación en otras enfermedades dentales como infecciones óseas, inflamación del tejido parodontal con la subsecuente pérdida de tejido óseo y órganos dentales^{1,7,8,10,12}. Los factores de virulencia son aquellas condiciones o características específicas de cada microbio que lo hacen patógeno, en el caso del *Streptococcus mutans*, las más involucradas en la producción de caries son: acidogenicidad, aciduricidad, acidofilicidad, síntesis de glucanos y fructanos, síntesis de polisacáridos intracelulares como el glucógeno, producción de dextranasa. La habilidad *Streptococcus mutans* de sintetizar glucanos insolubles a partir de la sacarosa de la dieta a través de las glucosiltransferasas facilita la formación de la biopelícula dental^{1,11}.

La reducida facultad de *Streptococcus mutans* para adherirse a las superficies dentarias procede de estudios que han demostrado la escasa dispersión intraoral de ese microorganismo desde lugares infectados hasta otros no infectados si es que llega a producirse. La tasa de renovación de este microorganismo se ha estimado de 2 a 3 ciclos generacionales cada 24 horas¹³.

Se han establecido diferentes metodologías para la detección de cepas potencialmente cariogénicas de *Streptococcus mutans*, dentro de éstos, la tipificación mediante mutacinas (bacteriocinas) producidas por el *Streptococcus mutans* es de gran utilidad, éstas representan un marcador epidemiológico para

establecer la fuente de infección y el mecanismo de transmisión, debido a que predomina un tipo productor de bacteriocinas en un individuo, de igual forma se ha comprobado que la producción de mutacinas está relacionado con la capacidad para producir caries; además mediante la tipificación por bacteriocinas se puede establecer la fuente de transmisión de la infección de padres a hijos y entre familiares cercanos¹⁴. Actualmente el recuento de *Streptococcus mutans* se utiliza como ayuda diagnóstica para seleccionar grupos de pacientes con riesgo de caries. Recuentos superiores a 100.000 UFC/mL de *Streptococcus* en saliva, se consideran indicadores de riesgo de caries, y recuentos salivares más bajos, concuerdan con una tendencia mínima a contraer esta enfermedad. Los altos grados de infección por *Streptococcus mutans* ($>10^6$ UFC \cdot $>10^5$ mL/saliva), significan elevado riesgo de caries y de transmisión del microorganismo. (Figura III.1.1) El recuento de estreptococos serviría también para evaluar la posibilidad de un tratamiento odontológico preventivo^{1,9}. (Figura III.1.2)

Debido a que la caries dental se considera una enfermedad infecciosa y existen numerosos estudios que comprueban la transmisibilidad de este microorganismo entre los humanos y sobre todo entre miembros de una misma familia, es que científicos de todo el mundo se han dedicado a estudiar esta bacteria¹. Hoy en día se considera a la caries dental como un proceso patológico complejo de origen infeccioso y transmisible de carácter multifactorial, que se inicia a partir de la ingestión de sacarosa en la dieta, cuando los microorganismos metabolizan glucosa y liberan ácidos orgánicos, como el láctico, propiónico y acético (entre otros), causan la disolución mineral de los tejidos duros del diente por los productos finales del metabolismo ácido de las bacterias capaces de fermentar a carbohidratos y así afectar el esmalte, la dentina y el cemento de no ser revertido a favor de los factores de resistencia. Esta patología es uno de los padecimientos más frecuentes de los seres humanos que prevalece y la padece el hombre moderno tal vez como producto de la industrialización, la tecnología, y la economía de nuestra sociedad. Es decir, los humanos siempre hemos estado colonizados por bacterias potencialmente cariogénicas; lo que ha cambiado es el aumento de grandes cantidades de azúcares refinados. Encuestas recientes han demostrado un alto consumo de sacarosa por el hombre, mientras que los registros fósiles de nuestros ancestros muestran claramente la casi ausencia de la caries dental, por ser poblaciones de bajo consumo de azúcares^{1,3,9}.



Figura III.1.1. Nivel de afectación dental debido a la presencia de *Streptococcus mutans* en el desarrollo de la caries (Fuente Propia).

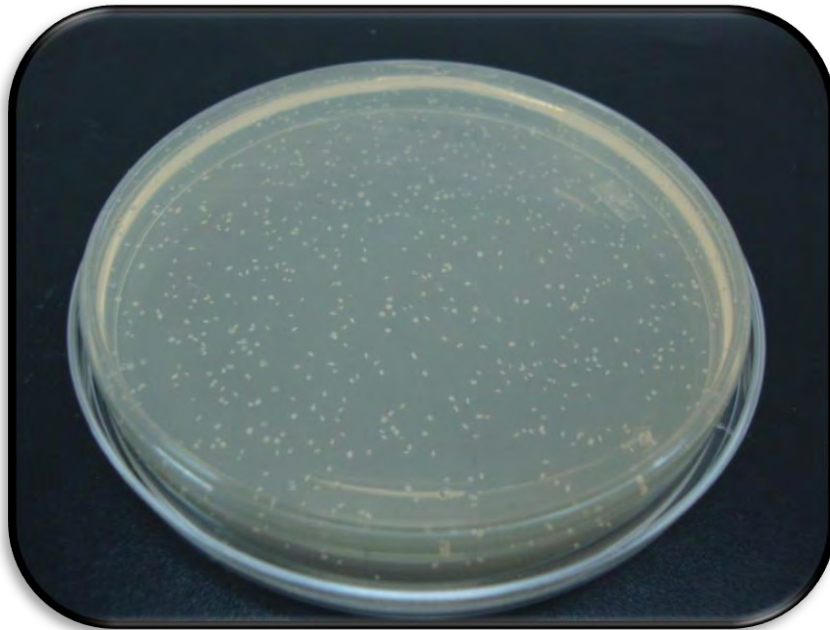


Figura III.1.2. Se observan colonias de *Streptococcus mutans* en un medio de agar Müller Hinton para su conteo en una dilución 10^7 para evaluar el posible tratamiento odontológico (Fuente propia).

La caries dental, bajo ciertas circunstancias, puede considerarse como una enfermedad infecciosa causada por la flora normal de la cavidad bucal. Como muchas enfermedades infecciosas, una masa crítica de bacterias cariogénicas es un pre-requisito, y esta masa crítica puede obtenerse solamente en presencia de sacarosa (disacárido compuesto de glucosa y fructosa), un sustrato en el cual la bacteria cariogénica se desarrolla produciendo glucanos y fructanos por medio de las enzimas glucosiltransferasas, permitiendo que se acumulen en las superficies dentales disolviendo la matriz mineral del diente. Una mancha blanco-tiza reversible es la primera manifestación de la enfermedad, la cual puede llevar a una cavitación si el mineral continúa siendo expuesto al reto ácido^{1,3}.

A diferencia de la mayoría de las enfermedades infecciosas, la caries dental es transmitida verticalmente de la madre al hijo. El genotipo del *Streptococcus mutans* de los niños se equipara al de sus madres en el 70 % de las veces. Cuando los dientes erupcionan, la cavidad bucal se hace receptiva a la colonización¹.

La necesidad de prevención estomatológica integral es una de las acciones fundamentales en atención primaria de salud al profundizarse en las causas de los problemas estomatológicos, y la comprensión de que por mucho tiempo se ha prestado mayor importancia al tratamiento y rehabilitación de los daños que prevenir los posibles factores desencadenantes de la patogénesis⁹.

Desde hace más de 20 años se ha venido investigando en una vacuna que permita, al igual que en el tétanos, la tosferina o la meningitis, prevenir y/o controlar la enfermedad. Las investigaciones en este campo están enfocadas a bloquear la adherencia inicial y la acumulación de la placa (Cuadro III.1.1). De igual forma, buscando prevenir la unión del *Streptococcus mutans* al diente, se han utilizado anticuerpos producidos en plantas y animales, lo cual llevaría a la inhibición del proceso de desmineralización y, por lo tanto, de la caries^{1,15}.

Cuadro III.1. Revisión sistemática de algunas investigaciones realizadas en relación a la patogenicidad de las cepas de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* como factor de riesgo para enfermedades en cavidad oral.

| TÍTULO | AUTOR | AÑO | RESULTADOS |
|--|---|------|--|
| Acción antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de <i>Rubus urticaefolius</i> | Silva JP Martins SA | 2000 | Los extractos presentaron actividad antimicrobiana contra determinadas especies de bacterias. Fueron realizadas 2 extracciones en 2 ensayos de actividad antimicrobiana por el método de la difusión en agar Müeller-Hinton, y Sabouraud. El extracto produjo halos de inhibición en cultivos de <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus sp</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ¹⁶ . |
| Halitosis en pacientes con problemas periodontales | Camon VC Díaz RRM Camon AC Revuelta PR Nischli GA | 2002 | El 19.3% de los pacientes con halitosis presentan enfermedad periodontal, el 43.2% problemas sistémicos asociados, y el 6% por problemas emocionales. En el 31.5% la cantidad de compuestos volátiles de sulfuro fue menor a 300 partes por billón (ppb) ¹⁷ . |
| Consideraciones del uso de antibióticos en infecciones odontogénicas | Morantes MF Yepes JF Pinto A | 2003 | Los microorganismos frecuentemente aislados en este tipo de infección son: <i>Streptococcus viridans</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphiromonas</i> y <i>Fusobacterium</i> . Para el manejo de las infecciones odontogénicas, se debe determinar la severidad de la infección, evaluar las defensas del huésped, eliminar la causa con un drenaje adecuado y administrar el antibiótico apropiado. Entre los antibióticos más utilizados se encuentran las penicilinas, cefalosporinas, macrólidos, lincosamidas y nitroimidazoles ¹⁸ . |
| Placa dentobacteriana | Baños FF Aranda JR | 2003 | Las bacterias en cavidad oral son los <i>lactobacilos</i> , <i>estreptococos</i> , <i>estafilococos</i> , <i>enterococos</i> , <i>veillonellae</i> , <i>neisseriae</i> y <i>coliformes</i> . Se asocian frecuentemente a la caries y enfermedad periodontal. Al parecer las enfermedades orales aparecen después de un desequilibrio entre los microorganismos orales por el potencial patogénico ² . |

Continuación...

| | | | |
|--|---|------|--|
| Niveles de <i>Streptococcus mutans</i> y prevalencia de caries dental en una población de escolares de la zona urbana de la ciudad de Zacatecas | Aguilera AL Galaviz P Padilla BR Aguilar RS Esparza F | 2004 | Se encontró una prevalencia de caries dental del 56%, así mismo se detectó una correspondencia entre los niveles de <i>S. mutans</i> y el CPOD por lo que es importante establecer mecanismos de control en la proliferación de este microorganismo ¹⁴ . |
| Colonización por <i>Candida albicans</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Streptococcus mutans</i> en pacientes portadores de prótesis dentales | Baena MT Moreno MV Martínez FF Aldape B | 2005 | La presencia en las muestras de la mucosa bucal de <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> y <i>S. mutans</i> fue de 51.4%, 52.4% y de 67.6%, respectivamente. <i>C. albicans</i> se aisló del 66,7% de las prótesis. <i>S. aureus</i> y <i>S. mutans</i> se aislaron del 49,5 % de las dichas prótesis. En un 86 % de los pacientes con estomatitis protética atrófica se aisló <i>C. albicans</i> y en un porcentaje parecido (84 % de los pacientes) se aisló <i>S. aureus</i> . El aislamiento de <i>S. mutans</i> fue menos frecuente, observándose en el 16% de las muestras orales de estos pacientes ¹⁹ . |
| Terapias y vacunas para infecciones bacterianas emergentes: aprendiendo del <i>estafilococo aureus</i> meticilino resistente. | Chandy CJ Schreiber JR | 2006 | La resistencia antimicrobiana y la diseminación en aumento del <i>estafilococo aureus</i> meticilino resistente en la comunidad ha obligado a nuevo interés en la prevención de infecciones estafilocócicas a través de la inmunización usando una variedad de blancos sobre las bacterias, particularmente polisacáridos capsulares ligados químicamente a moléculas portadoras de proteína, pronto pueden ser útiles como ayuda en la prevención de las infecciones ²⁰ . |
| Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar | Duque EJ Pérez QJA Hidalgo-Gato FI | 2006 | Realiza una revisión bibliográfica sobre las características del tejido adamantino, aspectos específicos del <i>Streptococcus mutans</i> , papel de la saliva en el medio bucal e influencia de la ingesta de carbohidratos que pueden predisponer a la aparición de caries dental. Se concluye que se debe aumentar la resistencia del esmalte e impedir la adhesión inicial del <i>Streptococcus mutans</i> para prevenir esta enfermedad; la saliva debe ser considerada como un sistema y debemos fomentar la educación nutricional e higiénica de la familia ¹ . |

Continuación...

| | | | |
|---|--|------|---|
| Association of <i>Streptococcus mutans</i> and <i>lactobacilli</i> with dental caries in children. | Pérez QJA Duque EJ Hidalgo Gato- FI | 2007 | Se obtuvo que el mayor porcentaje (62 %) de niños de piel blanca estaba afectados por caries, el 91,3 % y el 40 % de los niños pertenecientes al grupo de casos, tenían un alto grado de infección por <i>Streptococcus mutans</i> y <i>lactobacilos</i> , respectivamente, lo que demuestra una asociación positiva entre la caries dental y estas variables ⁹ . |
| Estreptococos cariogénicos predominantes, niveles de infección e incidencia de caries en un grupo de escolares. Estudio exploratorio | Sánchez PL, Acosta GE | 2007 | El 80% de los estreptococos correspondieron al grupo <i>mutans</i> (40% <i>S. sobrinus</i> , 32% <i>S. mutans</i> , 5% <i>S. rattus</i> y 3% <i>S. cricetus</i>). El 20% restante correspondió a otros estreptococos (<i>S. salivarius</i> , <i>S. mitis</i> y <i>S. sanguis</i>). El 55% de los niños presentó conteos ≥ 105 ufc/mL en placa y el 30% desarrolló caries en el molar estudiado. Un modelo de regresión logística múltiple de pasos sucesivos mostró asociación entre la bacteria predominante y los niveles de infección ($P < 0.01$). No se demostró asociación entre bacteria predominante e incidencia de caries ($P > 0.05$). Sin embargo con el mismo modelo ponderado según los niveles de infección, mostró una asociación significativa ($P < 0.0018$) ⁷ . |
| Caries de la infancia temprana | Alonso NMJ Karakowsky L | 2009 | Proveer educación de salud oral a los padres y estar conscientes de la naturaleza infecciosa y transmisible de la bacteria que causa la caries de la infancia temprana, los factores de riesgo asociados a ella, los métodos de valoración de riesgo de la salud oral, la guía anticipatoria y las decisiones apropiadas respecto a intervenciones efectivas y a tiempo así como la remisión apropiada ³ . |

Por otro lado, los *Staphylococcus* son cocos Gram positivos, catalasa positivos, que en el microscopio se observan como racimos de uvas. Es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas de 0.8-1.0 μm de diámetro, son inmóviles y carecen de esporas. Los *Staphylococcus* son ubicuos y pueden sobrevivir en condiciones ambientales de extrema sequedad, calor, hipoxia y alto contenido de sal. *Staphylococcus aureus* tiene muchas proteínas de superficie, incluso muchos componentes de la superficie microbiana que reconocen los receptores de las moléculas adhesivas de la matriz que le permiten ligarse a los tejidos y cuerpos extraños cubiertos con fibronectina, fibrinógeno y colágeno. Su

presencia o la de sus toxinas en los alimentos es signo evidente de falta de higiene y sus toxinas pueden ser causa de intoxicación cuando se ingieren con los alimentos. La mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* están recubiertas uniformemente por una proteína A, la cual ha demostrado una eficaz adaptación a las condiciones cambiantes del medio circundante²¹⁻²³.

Las infecciones por *Staphylococcus aureus* han sido un serio problema de salud para los seres humanos por milenios. El descubrimiento de la penicilina era inicialmente un arma importante para combatir estas infecciones, pero se desarrolló rápidamente resistencia a la penicilina a través de la producción de beta-lactamasa por el *Staphylococcus aureus*. La meticilina, una penicilina estable a beta-lactamasa, fue desarrollada posteriormente y utilizada con éxito contra *Staphylococcus aureus*. El desarrollo de estas cepas ha ocurrido generalmente en respuesta a la presión antibiótica. Otros factores de virulencia de importancia potencial incluyen las bacteriocinas, que matan a bacterias relacionadas con la cepa productora y la proteína de adhesión a colágeno, que puede facilitar adherencia al epitelio respiratorio en neumonía necrotizante. Algunos padecimientos que han sido ampliamente identificados son infecciones de piel y tejidos blandos, a menudo con formación de absceso (Figura III.1.3) y neumonía necrotizante severa, generalmente después de influenza. La terapia antibiótica para *Staphylococcus aureus* depende de la severidad de la enfermedad y de las exposiciones asociadas al personal de salud del paciente²⁰. Se han realizado estudios *in vitro* en donde la terapia con medicina alternativa ha dado buenos resultados en la inhibición de *Staphylococcus aureus*¹⁶. Otros estudios clínicos en humanos, se determinarán si la actual generación de vacunas tiene eficacia protectora adecuada en poblaciones target en riesgo más alto de infecciones estafilocócicas²⁰.

Además, es fundamental la educación nutricional e higiénica de la familia, la higiene bucal correcta con cepillado eficaz después de cada comida y acudir a revisiones periódicas al estomatólogo. La prevención es una estrategia dirigida a promover la salud bucal y prevenir problemas estomatológicos^{1,9}.



Figura III.1.3. Se observa la presencia de absceso periodontal (flecha), patología en la que se puede aislar el *Staphylococcus aureus* (Tomado de: http://www.infomed.es/rode/index.php?option=com_content&task=view&id=151&Itemid=1)²⁴.

III.2. ENJUAGUES

En la cavidad oral encontramos de forma natural un gran número de bacterias. Cuando estas bacterias se adhieren a las superficies orales forman una película gelatinosa adherente llamada biofilm, que es el principal agente etiológico de la caries, gingivitis y la enfermedad periodontal, que son las patologías más frecuentes a las que nos enfrentamos diario. El control del biofilm es fundamental para la prevención y tratamiento de estas enfermedades. Sin embargo la alta incidencia de caries, gingivitis y enfermedad periodontal indica que no es fácil lograr un control adecuado del biofilm solo con el cepillado dental. Para facilitar y mejorar el control del biofilm, se usan agentes químicos antimicrobianos como la clorhexidina, que han sido avalados por numerosos estudios. Estos pueden usarse solos o combinados, y se presentan en forma de dentífrico, enjuague, gel y spray²⁵.

Los enjuagues bucales son productos de administración eficaz de tipo cosmético y terapéutico en la boca. En la actualidad el consumidor enfrenta muchas opciones así como productos comercializados (Figura III.2.1). Se dispone de enjuagues bucales los cuales son un método para estabilizar y liberar muchos ingredientes farmacéuticamente activos que incluyen los compuestos cuaternarios de amoníaco, los ácidos bórico y benzoico así como los compuestos fenólico. Los astringentes de uso común son: alumbre, estearato de zinc, citrato de zinc y ácido acético o cítrico, el alcohol se utiliza como solvente. Los consumidores consideran que los enjuagues tienen beneficios principalmente cosméticos y no se utilizan con tanta frecuencia y de manera sistematizada en la higiene oral².

Un producto ideal para el control del biofilm debe tener las siguientes propiedades: (i) amplio espectro antimicrobiano, (ii) alta sustentividad (capacidad de retenerse en la boca después de su aplicación y de ir liberándose posteriormente, asegurando así una permanencia en el sitio de administración durante un tiempo suficiente), (iii) estabilidad química durante su almacenamiento, (iv) no causar reacciones adversas en la mucosa, (v) no producir resistencias bacterianas (seguridad ecológica)²⁵.



Figura III.2.1. Presentación y marcas de algunos enjuagues bucales auxiliares en la higiene dental (Fuente propia).

III.2.1. CLORHEXIDINA

Se ha descrito anteriormente la importancia al detener o inactivar el crecimiento del *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, ya que de no ser así, surgen las lesiones cariosas y tras la destrucción del esmalte ataca a la dentina y la pulpa dental produciendo su inflamación, pulpitis, y posterior necrosis (muerte pulpar), dando como resultado la inflamación del área que rodea el ápice o extremo de la raíz, periodontitis apical, pudiendo llegar a ocasionar una celulitis e incluso hasta llegar a producir un absceso (en el cual se ve involucrada la presencia de *Staphylococcus aureus*) y finalmente pérdida dentaria²⁶.

Por lo tanto, el reconocimiento de la caries dental como una enfermedad multifactorial en la cual actúan microorganismos específicos involucrados en su etiología, posibilita el empleo racional de antimicrobianos locales en la odontología moderna. Esto conduce a un control de la infección, y por consiguiente, una disminución del riesgo cariogénico del paciente²⁶.

Entre los antimicrobianos locales utilizados para realizar el control de placa se encuentran los enjuagues bucales, los cuales son soluciones hechas a base de antisépticos²⁶ como clorhexidina que desempeña una función importante en la reducción de los niveles de bacterias que producen caries y halitosis²⁷ y que se usan después del cepillado dental (Figura III.2.1.1). El Council on Scientific Affairs de la American Dental Association (ADA) implementó un programa de aceptación de sustancias de control de biofilm. Esas sustancias se valoran en estudios clínicos controlados con placebos de seis meses o más y deben demostrar mejor aumento de la salud gingival comparada con los controles²⁶.

Los agentes quimioterapéuticos pueden desempeñar una función principal como complemento de los métodos mecánicos para la prevención y el tratamiento de las patologías periodontales. Podemos beneficiar a nuestros pacientes mediante el uso de una amplia gama de productos. Sin embargo, para que esto sea realmente así, es decir un beneficio, es necesario que tengamos en cuenta las indicaciones, la forma de administración, las precauciones y efectos secundarios, así como las posibles interacciones farmacológicas. Por lo tanto, los criterios de selección de productos han de ser valorados por el profesional, no sólo en función de su eficacia sino también de las características particulares de los pacientes²⁸.



Figura III.2.1.1. Presentación de un enjuague con clorhexidina al 0.2% Oral-B® auxiliar en la higiene bucal (Fuente propia).

La idea de utilizar enjuagues para controlar las enfermedades periodontales como forma de tratamiento es muy atractiva debido a que son fáciles de utilizar por el paciente. El objetivo es alterar la cantidad y/o calidad de la placa supra y subgingival, de manera que el sistema inmunitario pueda controlar las bacterias y prevenir la aparición y/o progresión de las enfermedades periodontales. Un colutorio efectivo debe ser activo contra una amplia gama de especies bacterianas Gram+ y Gram-, incluyendo *Streptococcus* y *Fusobacterias*²⁸.

En tal sentido, y considerando a los enjuagues bucales como un método para el control del biofilm, se propone demostrar la efectividad de otros compuestos como el propóleo y equinácea, mediante el método de difusión en disco de papel de filtro y comparar la sensibilidad del *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* para sustentar su recomendación como método de prevención, destacando así sus efectos antimicrobianos²⁶.

La clorhexidina es un agente antibacteriano con un claro efecto contra el biofilm^{4, 6,25} donde a través del índice de placa permiten cuantificar el efecto de la

clorhexidina sobre el crecimiento del biofilm en 24 horas, estas mediciones permiten con un cierto grado de certeza evaluar agentes y formulaciones contra el biofilm, además de la facultad para reducir significativamente las poblaciones de *Streptococcus mutans*^{13,29}, controla otras bacterias orales como *Lactobacillus* siendo además efectivo en el control de hongos orales como la *Candida albicans* pero sólo las mata elevando la temperatura, aunque por su mecanismo de acción no consigue eliminar el biofilm ya formado, se incluye en los agentes antimicrobianos del tipo membrana-activo al actuar sobre la membrana citoplasmática con amplio espectro frente a microorganismo^{25,30-33}.

El efecto de un agente antiséptico debe penetrar el biofilm bacteriano. Estudios recientes han sugerido que los fenotipos bacterianos pueden cambiar cuando los organismos mutan de un estado planctónico (en suspensión o flotando libres) a un estado sésil (como parte de un biofilm). Este cambio unido al potencial efecto de secuestro de la matriz del biofilm puede dar lugar a susceptibilidades alteradas frente a los agentes antibacterianos. Por tanto, la eficacia de cualquier enjuague antiséptico depende no sólo de sus propiedades antimicrobianas que suelen demostrarse *in vitro*, sino también de su capacidad de penetrar el biofilm de la placa *in vivo*²⁸.

Al respecto la ADA ha aceptado el uso de clorhexidina²⁶, los datos muestran que los enjuagues con clorhexidina tienen los efectos antimicrobianos más extensos, ya que penetran el biofilm bacteriano y son reactivos contra las bacterias embebidas en el mismo²⁸.

La clorhexidina es un antiséptico seguro y eficaz usado en clínica dental comúnmente. Es un antimicrobiano no específico y no interviene con la cicatrización, aún cuando es aplicado a quemaduras abiertas en soluciones de clorhexidina al 0,5-1% en alcohol al 70%^{20,30,31}, su uso reduce casi el 50% de bacterias en la saliva debido a su amplio espectro de actividad sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras y anaerobios facultativos, algunos como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *sanguis*, *salivarius* y *Escherichia coli*. Esta acción es el resultado de la absorción de la clorhexidina a través de la pared celular del microorganismo, resultado de una alteración de los componentes intracelulares^{15, 32} además de inactivar la enzima glucosiltransferasa, responsable de la adhesión bacteriana en los dientes, y tiene efectos sobre el transporte de azúcar y la producción de ácido en las bacterias orales³⁴.

Su mecanismo de acción se puede dividir en varias fases: (i) Fase 1. Atracción hacia la superficie bacteriana. La diferencia de carga eléctrica permite la unión entre bacterias (cargadas negativamente) y las moléculas de clorhexidina cargadas positivamente, (ii) Fase 2. Alteración de la membrana celular externa y unión con la membrana citoplasmática alterando su permeabilidad. Se producen fugas de elementos citoplasmáticos de bajo peso molecular, (iii) Fase 3. Coagulación y precipitación del contenido citoplasmático. Muerte de la bacteria. (Figura III.2.1.2)

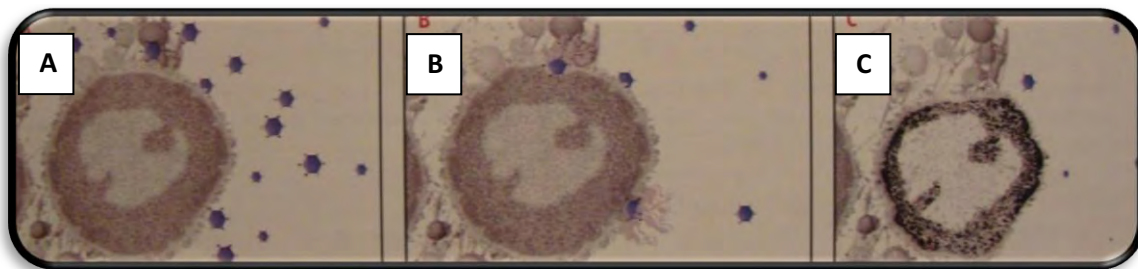


Figura III.2.1.2. Mecanismo de acción de la clorhexidina. A. unión de la clorhexidina cargada de forma positiva (catiónica) a las superficies con carga negativa (aniónicas). B. la clorhexidina atraviesa la capsula externa bacteriana (glucocálix) uniéndose a la membrana interna o citoplasmática, con lo que altera su permeabilidad. C. La pérdida de líquidos citoplasmáticos conduce a la coagulación y precipitación citoplasmática, lo que provoca la muerte bacteriana. (Tomado de: Sociedad Española de Periodoncia y Osteointegración 2009)³⁵.

Dependiendo de la concentración, la clorhexidina ejerce diferentes efectos sobre las bacterias. A bajas concentraciones es bacteriostático, quedando su acción limitada a la fase 2 y permitiendo que la membrana de la bacteria se recupere. A concentraciones mayores, la clorhexidina es bactericida al alcanzar la fase de coagulación del contenido citoplasmático bacteriano²⁵.

Los investigadores han estudiado el valor de enjuagues con clorhexidina para reducir el *Streptococcus mutans* a una concentración de 0.2%. La clorhexidina tiene alta sustantividad, por lo que su efecto antimicrobiano es prolongado debido a esto se considera el «gold standard» de los antisépticos^{15, 28, 36}.

En contraparte, la clorhexidina se inactiva con la mayor parte de los tensoactivos en los dentífricos y por lo tanto no debe utilizarse inmediatamente antes o después del cepillado dental regular⁴. Sin embargo, debido a su propiedad para reaccionar con otros productos aniónicos, hay que tener ciertos cuidados en su uso. La molécula catiónica de la clorhexidina queda inactiva al reaccionar con los surfactantes aniónicos presentes en pastas de dientes, por lo que su uso no debe ser simultáneo, el fabricante recomienda que el paciente sea informado de la necesidad de eliminar totalmente cualquier resto de pasta dentífrica o bien esperar 30 minutos entre el cepillado y el enjuague, lo cual dificulta su cumplimiento correcto, además se aconseja no enjuagarse con agua posteriormente^{25,28}.

El digluconato de clorhexidina en solución alcohólica a 0.12 % se utiliza cada 12 horas en colutorio o enjuagatorio durante 30 a 60 segundos, se considera que la clorhexidina adsorbida a la hidroxiapatita inhibe la colonización bacteriana. Los efectos adversos vinculados con su utilización son las manchas de manera frecuente, la modificación en la sensación del gusto hasta cuatro horas después del enjuague, incremento en la formación de cálculo, descamación de tejido superficial e hipersensibilidad, pigmentación sobre el dorso de la lengua, tinción del biofilm (o de los materiales de obturación y restauración de los dientes), erosión de la mucosa por alteraciones en las células epiteliales superficiales, sequedad bucal y sensación urente en algunas personas; este efecto colateral depende de la concentración y habitualmente puede ser controlado con enjuagues de doble dilución. Tiene escasa capacidad alergénica, pero en ocasiones puede aparecer cierto grado de hipersensibilidad. Las reacciones adversas son más frecuentes en las soluciones que contienen alcohol. Éstas son más eficaces, pero su metabolito, el acetaldehído, es más tóxico para las células eucariotas, razón por la cual se recomiendan los preparados en solución acuosa^{4,28,31,34,37}.

La adsorción selectiva de las superficies dentarias y su subsiguiente liberación de agentes antimicrobianos, sugieren un nuevo concepto en la prevención de enfermedades. Solo con más investigación en este campo será posible saber hasta qué grado puede aplicarse clínicamente y que ayuda es posible esperar de él en el desarrollo de agentes antibacterianos y en la prevención de caries¹³.

Por ello son necesarios estudios para saber la dosis adecuada, el vehículo y su dosis de aplicación, así como la duración y frecuencia del tratamiento necesarios

para ejercer su efecto anticaries, ya que sorprende la escases de datos disponibles sobre su efecto a largo plazo para la prevención de caries.

Estos efectos nos permiten buscar otras alternativas dentro de la medicina complementaria basada en las plantas medicinales, de las cuales se han realizado estudios que reportan sus beneficios y han recibido un creciente interés en la literatura médica internacional, en gran medida por la cantidad de trabajos que han mostrado la alta incidencia del uso de estas diferentes terapias por los pacientes, así como la creciente información acerca de su efectividad³⁸.

La clorhexidina se comercializa principalmente en concentraciones de 0.20% y 0.12% con distintas formas de presentación como enjuague, gel bioadhesivo, en pasta dentífrica, en aerosol y en forma de barniz para su uso adecuado no solo hay que tener en cuenta la concentración, sino también el volumen de enjuague. Cuando prescribimos clorhexidina en altas concentraciones (0.20%) se requiere un menor volumen de colutorio y un menor tiempo de enjuague que cuando prescribimos en menor concentración (0.12%) para obtener la misma dosis^{16, 30, 31}.

Un enjuague con menor concentración de clorhexidina retardará la aparición de tinciones en tejidos duros y blandos, asociados al uso prolongado de la misma²¹. En la determinación de clorhexidina en enjuague se ha descrito el uso de la cromatografía líquida como un sistema rápido, sencillo y específico. Este sistema permite además determinar la clorhexidina en diferentes fluidos biológicos como orina, suero, saliva con una sensibilidad bastante alta³⁰.

En un intento por incluir este agente entre los productos de consumo frecuente, se presento un chicle que contiene clorhexidina y xilitol²⁵, aunque los preparativos han sido diversamente combinados con otros ingredientes activos tales como el fluoruro de sodio, etanol y timol³⁴.

Un estudio demostró que la aplicación de altas dosis de clorhexidina y fluoruro sódico producían la remineralización de las lesiones afectadas. Otro estudio apoya el uso semanal de enjuagues con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.12% en pacientes de alto riesgo de caries. Sin embargo, es necesaria la

monitorización periódica de *Streptococcus mutans* para asegurar la efectividad en la disminución del riesgo de caries del paciente. Pese a la comercialización en Estados Unidos del gluconato de clorhexidina al 0.12% para el tratamiento de la gingivitis, no se recomienda normalmente este preparado para el control de caries, ya que la combinación de un colutorio de clorhexidina (2.2 milimolar) utilizado dos veces diariamente junto a enjuague diario de un colutorio NaF (11.9 mM) provocó una ligera pérdida mineral en comparación con el esmalte sano. Estos investigadores comprobaron también una pérdida mineral menor con esta combinación que con sólo el régimen de colutorio con fluoruro. Sin embargo, para el grupo de pacientes con alto riesgo de caries, parece necesaria la utilización de clorhexidina para suprimir al *Streptococcus mutans*³⁶. (Cuadro III 2.1.1)

La clorhexidina también se puede administrar a través de dispositivos de liberación lenta como los chips de clorhexidina, que están formados por una matriz de gelatina biodegradable en 2.5 mg de digluconato de clorhexidina que se va liberando durante 7 a 10 días. Los resultados en cuanto a la eficacia de los chips son contradictorios y actualmente son poco usados²⁵.

Cuadro III.2.1.1. Revisión sistemática de estudios realizados en función a la actividad antimicrobiana de la clorhexidina.

| TÍTULO | AUTOR | AÑO | RESULTADOS |
|--|----------------------------|------|---|
| Pautas de tratamiento en Odontología Preventiva y Conservadora | Kenneth J. | 1995 | La Odontología debe reconducir su atención hacia el desarrollo de protocolos estandarizados para la "odontología preservadora": diagnosticar caries, estimar y monitorizar el riesgo de caries, detener la progresión de las caries activas y remineralizar las lesiones no cavitadas y proponer un plan de tratamiento que puede asegurar su optimización ³⁶ . |
| Antisépticos en medicina bucal: la clorhexidina | Chimenos KE | 2003 | Estos medicamentos actúan reduciendo la acción de la flora bacteriana y preparar el terreno para que, si han de utilizarse, los antibióticos y los antiinflamatorios logren su efecto a dosis más bajas y en menor tiempo. La existencia de enfermedades y tratamientos debilitantes reducen la respuesta inmunitaria del paciente y justifican ampliamente el empleo de los antisépticos tópicos ³¹ . |
| Efecto inhibitorio en placa microbiana y propiedades antibacterianas de enjuagatorios de clorhexidina | Yevenes LI <i>et al</i> | 2003 | Las concentraciones de clorhexidina fueron 0,1174%, 0,1168% Y 0,091%. Las metodologías usadas sugieren que 0,1% en clorhexidina es capaz de tener actividad antiplaca y antimicrobiana cuando es usada en colutorios, no siendo necesarias concentraciones más elevadas ³⁰ . |
| Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del conducto radicular | Santos EA | 2003 | El gluconato de clorhexidina al 0.12% usado alternadamente con el hipoclorito de sodio al 2.5% tiene mayor efectividad antibacteriana sobre bacterias anaeróbicas como soluciones antisépticas del conducto radicular en piezas dentarias de pacientes con diagnóstico de necrosis pulpar séptica. (<i>aureus</i>) ³² . |
| Antimicrobial effect in vitro of chlorhexidine and calcium hydroxide impregnated gutta-percha points | Bozza FL | 2005 | Los conos con clorhexidina presentaron halos de inhibición en la 1ª etapa con todos los microorganismos probados y en la 2ª etapa con Sm, Ef, Ca, Sta y Pg. Los conos con hidróxido de calcio, tanto Hygienic como Roeko, no produjeron halos de inhibición con ninguna de las cepas probadas. El pH de los caldos no se |

Continuación...

| | | | | |
|---|-----------------|---------|--|--|
| | | | | modificó. En el recuento de UFC los conos con clorhexidina produjeron inhibición total para todas las cepas. Se encontró efecto significativo para material ($p < 0.05$) (ANOVA). Puede concluirse que bajo las condiciones del presente estudio, los conos que contienen clorhexidina son los más efectivos sobre los microorganismos probados (<i>aureus</i>) ²⁹ . |
| ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios | Calsina-Gomis G | 2005 | | Revisando la literatura nos encontramos que hay pocos artículos que comparen la clorhexidina al 0,12% con la clorhexidina al 0,20% y comprobamos como la mayoría de ellos tienen un tiempo de estudio menor al recomendado por las «Guidelines of the Council on Dental Therapeutics» para los estudios con colutorios, que es de seis meses ³⁵ . |
| Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica | Enrile Rojas FJ | de 2005 | | Los colutorios, en particular, la clorhexidina y los aceites esenciales disminuyen la formación de placa y la gingivitis, incluso en zonas de difícil acceso, teniendo excelentes características de seguridad y tolerabilidad. No obstante, en ningún caso pueden sustituir al control mecánico de la placa sino que actuarán como coadyuvante del mismo ²⁸ . |
| Enjuagues bucales para el tratamiento de la halitosis | Zbys F et al | 2008 | | Los enjuagues bucales que contienen agentes antibacterianos como clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio pueden desempeñar una función importante en la reducción de los niveles de bacterias que producen halitosis en la lengua y los enjuagues bucales que contienen dióxido de cloro y zinc pueden ser efectivos para neutralizar los compuestos de azufre odoríferos. Aún se necesitan ensayos controlados aleatorios bien diseñados con un tamaño de muestra mayor, una intervención y un período de seguimiento más extensos ²⁷ . |
| Intervenciones de clorhexidina para la prevención de caries en los adultos [protocolo] | Bailey D et al | 2011 | | La mayoría de los estudios clínicos de investigación de clorhexidina han estudiado sus efectos antiplaca y antigingivitis y concluyeron que la evidencia de un total efecto preventivo de caries con clorhexidina es sugestiva pero no concluyente ³⁴ . |

Continuación...

| | | |
|---|--|--|
| Sensibilidad del <i>Streptococcus mutans</i> a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro) | Aguilera MC, 2011 Romano E, Ramos N, Rojas L | Los resultados obtenidos demuestran que el <i>S. mutans</i> es sensible a todos los enjuagues bucales, sin embargo existieron diferencias entre las mediciones del halo de inhibición de cada enjuague, teniendo el triclosán un halo de 35 mm, clorhexidina 8 mm y cloruro de cetilpiridinio 3 mm ²⁶ . |
| Comparación de tres soluciones irrigantes utilizadas en endodoncia | Azuelo HM, Artículo de revisión Ordoñez AF, Tinjacá MV | La eficacia antimicrobiana de una sustancia irrigante es directamente proporcional a la concentración que se use, a mayor concentración se obtendrá mejor efecto. El irrigante que hasta el momento presenta más y mejores propiedades es el cloruro de sodio, por lo tanto sigue y seguirá siendo el irrigante de elección en el tratamiento de conductos radiculares ³³ . |

III.3. MEDICINA COMPLEMENTARIA

En las últimas décadas la atención a la salud se ha vuelto más compleja y especializada, las instituciones de salud están formadas por una diversa cantidad de médicos especialistas, trabajadores sociales, psicólogos, terapeutas, nutriólogos, médicos en formación y enfermeras; pero también existe una clase de atención en salud como acupunturistas, médicos herbolarios, proveedores de suplementos nutricionales, curanderos espirituales y una gama de intervenciones que van desde lo serio a la charlatanería. Este grupo de terapias agrupadas con el nombre de Medicina Complementaria (MC) también llamada Medicina Alternativa (MA), ha recibido un creciente interés en la literatura médica internacional, en gran medida por la cantidad de trabajos que han mostrado la alta incidencia del uso de estas diferentes terapias por los pacientes, así como la creciente información acerca de su efectividad³⁸ (Cuadro III.3.1), dicho lo cual cabe mencionar que en México existe la Dirección General de Medicina Tradicional adscrita a la Subsecretaría de Innovación y Calidad desde el 2002, se incorporó originalmente en la estructura de la Coordinación de Salud y Nutrición, para los Pueblos Indígenas, en la Dirección General de Equidad y Desarrollo en Salud, ahora denominada Dirección General de Planeación y Desarrollo en Salud³⁹. La medicina complementaria abarca todas las prácticas e ideas que se escapan del dominio de la medicina tradicional en varios países; sus defensores consideran que previene y trata la enfermedad o que promueve la salud y el bienestar. Estas prácticas complementan a la medicina convencional: contribuyendo a un objetivo común, colmando una demanda que no satisfacen las prácticas convencionales y diversificando el marco conceptual de la medicina⁴⁰.

El término alternativo simplemente significa “otro”, y se refiere a todas aquellas técnicas terapéuticas que hasta hace algunos años no se enseñaba en las escuelas médicas, ni era reportada en revistas médicas y que se inscriben en contraposición a la Medicina Ortodoxa (MO), convencional o también llamada científica, la cual domina en los centros e instituciones que enseñan o usan la medicina. Más recientemente ha surgido el término de “Nueva Medicina” que sugiere la síntesis de la sabiduría de antiguas tradiciones curativas como la Medicina Tradicional China (MTCH) y la Ayurveda, la perspectiva crítica y la tecnología de la ciencia moderna³⁸. Muchas formas de medicina complementaria, incluyendo la acupuntura, la fitoterapia, la homeopatía, la hipnosis y la osteopatía, están experimentando un proceso de profesionalización en las sociedades desarrolladas y cada vez están más integradas en las prestaciones sanitarias⁴⁰.

Cuadro III.3.1. Revisión sistemática de algunos estudios que se han realizado en cuanto al uso y efectividad de la medicina complementaria

| TITULO | AUTOR | AÑO | RESULTADOS |
|---|-----------------------------|------------|---|
| La medicina complementaria en el mundo | Aedo SFG Granados SJC | 2000 | Se acude a la Medicina Complementaria principalmente por padecimientos crónicos. Los resultados de estudios debidamente controlados, para observar los efectos terapéuticos de las diferentes terapias es muy desigual, así que es importante que el profesional de la salud se informe, lo que le permitirá identificar los efectos adversos o benéficos de estas terapias sobre sus pacientes ³⁸ . |
| La odontología en el pueblo maya | Salas LMA | 2001 | Aportaciones acerca de los diversos instrumentos y plantas medicinales aplicados en la terapéutica dental para el limado, incrustación y cuidado dental ⁴¹ . |
| Actualización terapéutica en la aplicación de la medicina natural y tradición en Estomatología | Bellón LS Aldama B E | 2005 | A partir de este documento, ofrecemos los conocimientos mínimos necesarios para estimular y propiciar la utilización de la Medicina Natural y Tradicional en los tratamientos estomatológicos tanto en el campo asistencial como en el investigativo, para contribuir a ampliar cada vez más nuestras posibilidades terapéuticas ⁴² . |
| Medicina complementaria y alternativa | Filshie J, Carolyn NJ | 2006 | Los tratamientos complementarios están muy generalizados y son de fácil acceso para los pacientes, muestran beneficios claros y prometedores en muchos campos. Sin embargo, se necesita una investigación de gran calidad para establecer si existen datos científicos suficientes para apoyar la integración adicional de estas prácticas en los servicios sanitarios ⁴⁰ . |
| Plantas medicinales | Torrent- Farnell J | 2008 | Esto permite al profesional conocer las diferentes opciones de tratamiento en fitoterapia de las patologías más prevalentes e indagar más en las indicaciones, posología, efectos secundarios, contraindicaciones e interacciones con otros fármacos ⁴³ . |

 Continuación...

| | | | |
|--|-------------|------|---|
| Determinación de los efectos terapéuticos (antisépticos, antiinflamatorios y analgésicos) del compuesto “Hierbas Suecas” para el tratamiento de algunas afecciones bucales (TESIS DOCTORAL) | González MR | 2010 | Se confirmó el potencial del compuesto amargo sueco en cuanto al efecto antiinflamatorio antibiótico y no se pudo comprobar el efecto analgésico al menos por el método químico ⁴⁴ . |
|--|-------------|------|---|

El uso de plantas como recurso natural se remonta a tiempos muy antiguos, la medicina convencional realmente como la conocemos hoy, es de aparición reciente, quizá apenas dos siglos y sin embargo hoy en día es la ciencia, quien confirma la presencia en las plantas, de compuestos químicos con acciones farmacológicas denominados principios bioactivos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por los laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas para su uso en la terapéutica alopática⁴⁴.

Un dato interesante que ha surgido en diferentes estudios epidemiológicos es que si bien muchos pacientes usan simultáneamente la medicina complementaria y la medicina tradicional, la mayoría no le comunica esto a sus médicos, ya sea por el deseo de evitar la censura, o por considerar que su médico no se encuentra instruido sobre el tema, asumiendo la responsabilidad de las interacciones entre ambos tratamientos. Los estudios etnográficos han revelado que la primera razón por la cual los pacientes usan medicina complementaria es para ganar beneficios terapéuticos³⁸, de ahí que el interés de la población en la medicina alternativa y complementaria ha crecido considerablemente en las últimas décadas, las razones primordiales que argumentan para su uso se basan en que son tratamientos seguros, de bajo riesgo y por la facilidad que tienen para su adquisición⁴⁴ además de evitar la toxicidad, los métodos invasivos, o los efectos secundarios, o bien alcanzar niveles de calidad de vida no alcanzados con las terapias convencionales³⁸. Aunque algunos tratamientos son menos agresivos y más seguros, esto crea un ambiente favorable para la potencial explotación de los pacientes vulnerables⁴⁰, incluso algunos escogen la medicina complementaria por razones filosóficas o aceptan los modelos explicativos de que la medicina tradicional trata los síntomas y no las causas, algunos prefieren un alto grado de involucramiento en la toma de decisiones, o están insatisfechos con la actitud de los practicantes de la medicina convencional, otros buscan el tratamiento

complementario cuando el convencional ha sido decepcionante para su padecimiento ya sea crónico o agudo (las enfermedades severas o crónicas típicamente motivan a los pacientes a buscar a la medicina complementaria como opción terapéutica), por último, cuando un sistema de curación forma parte del grupo cultural al que el paciente pertenece. Un meta análisis realizado se encontró que un promedio de 46% de médicos veía a las terapias complementarias útiles o moderadamente útiles, incrementándose esta opinión conforme más jóvenes eran los médicos³⁸. A pesar de que la fitoterapia se ha venido empleando durante siglos, sólo se han estudiado unas cuantas especies de plantas para posibles aplicaciones médicas. Los datos disponibles sobre seguridad y eficacia de las plantas, de sus extractos y de sus ingredientes activos y de los preparados que las contienen son incluso menor⁴⁰.

En 1985 se calculaba que la cuarta parte de los ingredientes activos de los fármacos modernos procedía de plantas. Actualmente, más del 50% de los productos farmacéuticos norteamericanos modernos procede directamente, o es un análogo sintético, de productos químicos de origen natural⁴⁰.

Su principal ventaja se basa en dos ideas, por un lado la reducción de los efectos secundarios y por otro, un efecto de sinergismo entre los diferentes compuestos³⁸. Esta puede utilizarse sola o en combinación con medicamentos convencionales, y es por ello que conviene conocer el perfil de eficacia y seguridad, así como el riesgo de potenciales interacciones. A lo anterior cabe añadir el uso creciente de plantas medicinales que provienen de otros países⁴³.

Así es como la medicina complementaria ha tenido un creciente interés por parte de la población para usar las diferentes terapias. En México existen pocos estudios sobre la prevalencia del uso de la Medicina Complementaria en Odontología, sin embargo es evidente el aumento de su uso. Como factor social se pueden ubicar dos tendencias: una insatisfacción creciente junto con pérdida de la confianza en la biomedicina tecnológicamente sofisticada y un incremento en las demandas para controlar el costo de la salud³⁸.

En los momentos actuales y en contraposición con los avances alcanzados en la creación de nuevos medicamentos en el mundo, la utilización de la medicina natural, cobra cada vez más defensores y ejecutores, debido fundamentalmente a

las formas naturales de curación⁴². Hoy en día encontramos productos fitoterapéuticos en diferentes formas galénicas: cápsulas, comprimidos, aceites esenciales, jarabes, gotas, emulsiones, pomadas, cremas, colirios, supositorios, óvulos, etc. La gran mayoría de ellos están hechos a partir de extractos vegetales. Pero en el mercado encontramos otros productos considerados como complemento alimentario y que son de venta libre. En herboristerías o tiendas de dietética la ley ampara su comercialización siempre y cuando no haya ninguna indicación terapéutica. De esta manera nos hallamos ante un panorama muy disperso y el usuario se encuentra en muchas ocasiones con una información poco precisa. Seguramente muchos de nuestros pacientes consumen dichos productos y no nos lo comentan, ya que ellos mismos no los consideran medicamentos, sino complementos⁴³.

III.3.1. PROPÓLEO

Las medicinas de las cuales depende la vida y la muerte del hombre, la enfermedad y la salud, deben ser cuidadosamente distinguidas las unas de las otras. Para este propósito los medicamentos deben ser testificados mediante cuidadosas experiencias sobre el organismo sano. Por estos métodos podemos obtener un conocimiento preciso de los remedios y evitamos todo error en su empleo en las enfermedades. Es solamente por la correcta selección de estas medicinas que puede ser restaurada rápida y permanentemente la salud del organismo. Al probar las medicinas para averiguar sus efectos, los sujetos en experimentación deben ser personas exentas de enfermedades y quienes sean delicadamente irritables y sensibles⁴⁵.

El propóleo ha sido utilizado en la medicina popular para tratar diversas dolencias, desde infecciones cutáneas hasta heridas de guerra⁴⁶. Se conoce desde la más remota antigüedad y ha sido utilizado por diferentes culturas con diversas finalidades, con el posterior desarrollo de la farmacéutica y tratamientos fitoterápicos en los últimos años, se han realizado algunas investigaciones acerca de los productos provenientes de la apicultura y sus potenciales beneficios para la salud oral⁴⁷.

El propóleo es un producto derivado de las abejas y consiste en una sustancia compleja constituida por una gran variedad de compuestos químicos, el cual es recolectado de diversas plantas y árboles mezclados con cera, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia (Figura III.3.1.1). Se postula que diferentes propóleos pueden presentar diferentes propiedades químicas y farmacológica⁴⁷⁻⁵⁰.



Figura III.3.1.1. Se muestran algunas marcas comerciales de extractos de propóleo con propiedades antimicrobianas (Fuente propia)

Dependiendo de su origen y vejez el propóleo se puede encontrar en una amplia gama de colores que va desde el amarillo pálido hasta el marrón oscuro, casi negro pasando por los tonos rojizos y verdosos, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos.

El sabor del propóleo es a menudo agrio, a veces amargo y en ocasiones ligeramente picante; al masticarlo se puede tener la sensación de una quemadura, además puede generar un adormecimiento de la lengua y de la mucosa bucal. Al olfato el propóleo presenta un aroma agradable, una mezcla del olor de la miel, la cera y algunas esencias (canela, vainilla, eucalipto, etc., que dependen de la región donde se obtiene); si se quema expelen un olor que recuerda el incienso pero más delicado, suave y raro. La consistencia del propóleo varía con la temperatura; por debajo de los 4°C es duro y quebradizo, hacia los 15°C es duro y friable, alrededor de los 30°C se va convirtiendo en una masa blanda y maleable y a medida que se va elevando la temperatura se hace pegajosa, viscosa y se derrite alrededor de los 60-70°C, aunque el punto de fusión puede alcanzar los 100°C o más; si el calentamiento se realiza al baño María puede observarse que se divide en dos partes bien diferenciadas: una que cae al fondo y otra que sobrenada en la superficie llamada cera de propóleo^{46,49}.

Las distintas propiedades terapéuticas del propóleo han sido verificadas por prestigiosos científicos en diversas partes del mundo, coincidiendo casi siempre los resultados, independientemente de las diferencias en la composición que están determinadas principalmente por la flora del área ecológica, los ciclos evolutivos de las plantas proveedoras de resinas que condicionan cambios en las concentraciones de las mismas, microorganismos presentes en el entorno geográfico, factores climatológicos, influyendo también las características macroscópicas y organolépticas del propóleo y la técnica de obtención⁴⁸ (Cuadro III.3.1.1).

Por otra parte, el mecanismo de la actividad antimicrobiana del propóleo es complejo y puede ser atribuido al sinergismo entre algunos de sus compuestos, tales como flavonoides, que son sustancias naturales que interfieren en la inhibición de la actividad enzimática de varias proteínas que son necesarias para el crecimiento y desarrollo de los mismos, contribuyendo a la posible solución de un problema de salud pública como es la caries dental, junto con los ácidos aromáticos, ácidos grasos, ésteres, hidroxiácidos, sesquiterpenos y otros compuestos fenólicos. En general, la actividad antimicrobiana de este compuesto es más activo contra bacterias Gram positivas que contra bacterias Gram negativas; sin embargo, se ha demostrado su carácter inhibitorio en microorganismos bucales Gram negativos involucrados en procesos cariogénicos y periodontopatogénicos como *Streptococcus mutans*. Su potencial antiinflamatorio ha sido atribuido a la capacidad de estimular la inmunidad celular ya que promueve la actividad fagocítica e inhibición de la síntesis de prostanglandinas, mediadoras de este proceso⁴⁸.

Los flavonoides y ácidos fenólicos, junto con sus ésteres, se consideran los principales compuestos bioactivos del propóleo, desempeñan un papel considerable en la terapéutica por sus múltiples funciones fisiológicas. Estos compuestos poseen importantes funciones antioxidantes que minimizan la peroxidación lipídica y el efecto de los radicales libres, contribuyendo de esta manera a reducir el riesgo de afecciones cardiovasculares por su acción directa en los capilares sanguíneos y el envejecimiento⁴⁸.

Cuadro III.3.1.1. Revisión sistemática de algunos estudios realizados en función a las propiedades antimicrobianas del propóleo

| TÍTULO | AUTOR | AÑO | RESULTADOS |
|--|--|------|---|
| Efectos antipsoriásico, antiinflamatorio y analgésico del propóleo rojo colectado en Cuba | Ledón N <i>et al</i> | 1996 | El propóleo rojo tiene un uso potencial en el tratamiento de esta enfermedad, estudios farmacológicos y toxicológicos preclínicos, así como ensayos clínicos a doble ciego son necesarios para elucidar la utilidad del propóleo rojo en el tratamiento de la psoriasis ⁵¹ . |
| Estudio comparativo del efecto del cepillado con una crema dental con propóleos rojos y de un gel con clorofila | Gispert AE | 1998 | El promedio de colonias de <i>Streptococcus mutans</i> decrece considerablemente, y por consiguiente el grado de infección, este último con una diferencia pequeña de 5% favorable a los propóleos rojos. La acción del gel dental con clorofila tiene mejor capacidad individual de remineralización por lo tanto, ambos productos pueden ser utilizados en la prevención de caries dental ⁵² . |
| Actividad anticaries de una crema dental con propóleos | Gispert AE | 2000 | Los resultados finales reflejan que el grupo que se cepilló con la crema dental que contiene propóleo redujo significativamente el número de dientes afectados en el 85,6 %, y el número de caries en 72,7 % ⁵³ . |
| Efecto de extractos de propóleo verde sobre bacterias patogénicas aisladas de leche de vacas con mastitis | Pinto MS <i>et al</i> | 2001 | Los resultados mostraron que el extracto etanólico de propóleo extractos, etanólico comercial y, a una proporción menor, el metanólico inhibió el crecimiento de las muestras de bacterias Gram-positivas <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus sp</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> ⁵⁴ . |
| Comparative antiplaque activity of propolis extract and chlorhexidine in vivo | Abdullah BA, Al-Talib RA, Al-Sultan FA | 2003 | El extracto alcohólico de propóleo se puede utilizar como complemento mecánico de control de placa durante la fase de mantenimiento de la terapia para asegurar un nivel bajo sostenido de placa y esto puede contar con la aprobación del paciente, ya que es una sustancia natural y carente de componente químico industrial ⁵⁵ . |

Continuación...

| | | | |
|---|---|------|---|
| Goma de mascar con efecto anticaries | Daza EG, Benavides OF | 2004 | El promedio del número de colonias de <i>Streptococcus mutans</i> disminuyó significativamente en un 15% para el grupo expuesto a la goma con propóleo y presentó un aumento para las otras gomas de mascar, siendo del 8% para las que contienen glucosa y del 47 % para la que contiene un edulcorante no fermentable ⁵⁶ . |
| Acción antimicrobiana in vitro de conteniendo fitoterápicos | Barreto VL, Costa Feitosa AMS, Araújo TJ, Chagas FK, Costa LK | 2004 | Las soluciones puras de los dentífricos presentaron capacidad antimicrobiana contra cepas patrón, equivalente a la del dentífrico con triclosán, excepto el Gessy Cristal®. Además, los dentífricos diluidos a 1:2 presentaron acción antimicrobiana contra las bacterias orales recuperadas de la saliva, excepto el Parodontax® ⁵⁷ . |
| Estudio del propóleo de Santiago del Estero, Argentina | Chailloul L, Herreral HA | 2004 | El índice de oxidación, las concentraciones de compuestos fenólicos y flavonoides y la actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus aureus</i> permiten concluir que la calidad del propóleo de los departamentos estudiados es buena ⁵⁸ . |
| Propóleos: anti - Staphylococcus aureus actividad y sinergias con los fármacos antimicrobianos | Memorias del Instituto Oswaldo Cruz | 2005 | Los resultados demostraron el sinergismo entre la actividad de <i>Staphylococcus aureus</i> y fármacos antimicrobianos, especialmente aquellos agentes que interfieren en la síntesis de proteínas bacterianas ⁵⁹ . |
| Uso de extractos etanólicos de propóleo para el control de Staphylococcus aureus in vitro obtenidos de leche de vacas con mastitis | Neacato VS | 2005 | Los tratamientos con propóleo se encuentran ocupando los rangos intermedios, en donde se puede apreciar un incremento del radio del halo de inhibición a medida que este producto se encuentra más diluido ⁶⁰ . |
| Caramelos a base de propóleos y su posible aceptación en la ciudad de Mérida | Isla M, Vit P, Brito R, Mejía A, Molina E, Isla J | 2005 | Se obtuvo un caramelo a base de propóleos, ingrediente con propiedades medicinales que ameritan continuar su estudio para verificar la bioactividad en esta forma sólida oral. Las características fisicoquímicas y sensoriales del caramelo experimental fueron adecuadas ⁶¹ . |

Continuación...

| | | | |
|--|--|------|--|
| Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional | Manrique AJ | 2006 | Todos los extractos etanólicos de propóleos (EEP) estudiados mostraron actividad antimicrobiana, al inhibir el crecimiento del <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25.923 con halos de inhibición de hasta 30 mm y del <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9.341. Los resultados sugieren que los propóleos estudiados muestran influencia estacional en la inhibición del crecimiento bacteriano y que los EEP pueden ser usados como agentes antimicrobianos contra <i>S. aureus</i> y <i>M. luteus</i> ⁶² . |
| Eficacia de la tintura de propóleo al 20 % en el tratamiento de la hiperestesia dentinaria | Fernández GKI, Martín RO, Arias HS, Paz LE | 2007 | El propóleo al 20 % fue una terapia eficaz cuando se presentaron hiperestesis leves y moderadas. Se observó remisión de los síntomas de forma significativa a partir de las 48h, sin embargo, en la hiperestesia severa la probabilidad de eliminar el dolor a las 72h fue del 50 % ⁶³ . |
| Concentración mínima bactericida “in vitro” del extracto etanólico de propóleos de Chepén (Perú) sobre <i>Listeria monocytogenes</i> | Diestra GEA, Del Castillo-Algarate EF, Gerónimo-Gonzales M, Mercado-Martínez P | 2008 | La concentración mínima bactericida “in vitro” del extracto etanólico de propóleo proveniente de Chepén sobre <i>Listeria monocytogenes</i> es de 1,23 mg/ml ⁶⁴ . |
| Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos (Revisión de literatura) | Peña RC | 2008 | Los resultados de esta investigación bibliográfica permiten destacar la importancia de los propóleos para la salud y al mismo tiempo el interés creciente manifestado por el considerable aumento de la patentes de productos a base de propóleos, a nivel mundial ⁴⁹ . |
| Antibacterianos naturales orales. Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos | Moromi H <i>et al</i> | 2009 | Usando cepas ad hoc adicionadas con tres diluciones de extractos de propóleo, se encontró un efecto antibacteriano inversamente proporcional a la concentración de la dilución. La dilución al 0.8% es más efectiva respecto a la clorhexidina y 41% mayor referente al testigo ⁶⁵ . |

Continuación...

| | | |
|--|---|---|
| <p>Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) y <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)</p> | <p>Mayta TFR, 2010 Sacsacuispe CS</p> | <p>El presente trabajo mostró que el EEP al 30% tuvo una mayor actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> que el extracto etanólico de propóleo (EEP) al 10% frente al <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) $p=0,007$. Sin embargo, tal diferencia no pudo ser encontrada entre el EEP al 10% y 30% frente al <i>S. mutans</i> (ATCC 25175) $p=0,865$. Además, se evidenció que la actividad antibacteriana del EEP al 10% y 30%, en comparación a los controles positivos, hubo diferencia significativa ante la clorhexidina al 0,12% y ante la amoxicilina. La actividad antibacteriana del EEP al 30% contra el <i>S. mutans</i> fue superior frente al listerine® ($p<0,001$), pero menor ante la clorhexidina al 0,05%, al analizar y comparar los resultados para el <i>S. aureus</i> se pudo apreciar que la acción antibacteriana del EEP al 30% fue mayor frente al listerine® $p<0,001$ y alcanzo en efectividad a la clorhexidina 0,05% debido a que no hubo diferencia entre ambas ($p=0,211$)⁴⁷.</p> |
| <p>Uso del propóleo en Odontología</p> | <p>Premoli G, 2010 Laguado P, Díaz N, Romero C, Villareal J, González A</p> | <p>El propóleo tiene efectos antimicrobianos, antiinflamatorio y anticariogénico, estimulante de la generación de la dentina, impedimento en la formación de caries y placa dental⁴⁸.</p> |
| <p>Comparative evaluation of the efficacy of different concentrations of chlorhexidine mouth rinses in reducing the <i>mutants streptococci</i> in saliva: An <i>in vivo</i> study</p> | <p>Jayaprakash R, 2010 Sharma A, Moses J</p> | <p>La clorhexidina en concentraciones diferentes (0.02%, 0.06%, 0.12%) reduce de forma eficiente el recuento de <i>Estreptococo mutans</i>⁶⁶.</p> |
| <p>Propolis mouthwash: A new beginning</p> | <p>Dodwad V, 2011 Kukreja BJ</p> | <p>El enjuague bucal de clorhexidina es mejor que el propóleo y la solución salina en la inhibición de la formación de placa. El propóleos se encontró que era apenas un poco mejor que la clorhexidina en la mejora del índice gingival⁶⁷.</p> |

 Continuación...

| | | |
|--|-------------------------------|--|
| Clinical Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis: A Phase II Study | Pereira REM <i>et al</i> 2011 | El enjuague bucal sin alcohol de propóleo verde de Brasil (MGP 5%) mostro una reducción de la gingivitis en un 40% y una reducción del índice de placa del 70% ⁵⁰ . |
|--|-------------------------------|--|

Según el instituto de Química Orgánica de Moscú, su análisis químico ha arrojado la presencia de un gran número de sustancias minerales y oligoelementos, primordialmente en forma de radicales libres o asociados a formas proteicas, entre los cuales se distinguen: aluminio, bario, boro, bismuto, cobalto, calcio, cobre, cromo, estaño, estroncio, fósforo, hierro, litio, manganeso, molibdeno, níquel, plata, plomo, potasio, selenio, silicio, titanio, vanadio, yodo y zinc. Muchas de estas sustancias desempeñan un papel importante a nivel de numerosas vías metabólicas celulares⁴⁸.

Existe otro grupo de compuestos que resultan de fundamental importancia en la actividad biológica del propóleo y en el metabolismo celular, destacándose el ácido nicotínico y pantoténico; además de lactosas, polisacáridos y aminoácidos que representan un papel preponderante en numerosas reacciones celulares. En los estudios del propóleo se han encontrado, vitaminas C, E, A, B2, B6, B1 Y PP, especialmente B3 o nicotinamida, sustancias de naturaleza proteica, ácidos grasos no saturados y ésteres de ácidos aromáticos, que justifican en parte su gran actividad biológica⁴⁸.

Gran importancia tiene el hecho de que el propóleo es transportado indistintamente por la sangre y por la linfa a todos los órganos en el ser humano, donde es metabolizado.

Su sitio de acción se considera que son los núcleos hipotalámicos de autorregulación, su acción es la de estabilizar el sistema homeostático, homeotáxico, mejorando la capacidad de defensa, funcionamiento y adaptación del organismo, así como los modelos morfofuncionales normales. Ésta sería la explicación de algunas respuestas aparentemente contradictorias que presenta su

aplicación. El propóleo es un producto de extraordinario interés para la medicina e industria farmacéutica⁴⁸.

La composición del propóleo es un tema sumamente debatido; gran parte de las divergencias de opinión están dadas en las variaciones que induce la poca uniformidad de sus componentes. Sin embargo las diferencias y variaciones en el propóleo no están dadas por la diversidad de compuestos químicos que lo conforman pues su composición básica se mantendrá estable; las diferencias se manifiestan fundamentalmente en la cantidad de cada elemento particular presente en la muestra. El origen floral y composición palinológica de los propóleos depende en gran medida de las especies vegetales presentes en una zona^{46,49}.

Así, más de 300 compuestos químicos se han descrito en los propóleos de diversos orígenes. En forma similar se ha encontrado presencia de flavonoides en muestras comerciales. En muestras de propóleos tipificadas palinológicamente se demostró la presencia de terpenos y flavonoides. Entre estos últimos se ha reportado la presencia de acacetina, ácido cinámico, cumarina, galangina, izalpina, kaempferido pinocembrina, preniletina, viscidona y vainillina. La preniletina se ha identificado en extractos epicuticulares obtenidos de *Haplopappus foliosus*^{49,50}.

En pruebas de laboratorio el propóleo disminuyó la incidencia de caries en ratas. Basados en el hecho de que las ratas desarrollan caries de la misma forma que en los humanos y que algunas sustancias que previenen caries en los humanos también lo hacen en los animales, se piensa que se puede deber a la acción del cloroformo no polar, del extracto etanólico de propóleo, y especialmente, a las fracciones de hexano que lo componen; igualmente se sugiere que en la inhibición enzimática podrían estar involucrados los flavonoides presentes en el propóleo⁵⁶.

La efectividad antimicrobiana de los extractos depende del solvente empleado, la procedencia del propóleo y de la especie bacteriana evaluada, siendo los extractos etanólicos (EEP) los más efectivos; además impiden la síntesis de glucanos y pueden influenciar en la composición química y microbiana de la placa dental. Sin embargo, en el propóleo tipo 6 del Brasil, la fracción hexano del EEP es la responsable de la acción inhibitoria potente contra *Streptococcus mutans* y la

inhibición de las glucosiltransferasas. Otros estudios, afirman que el propóleo no puede difundirse en áreas profundas del diente ya que su efecto sobre los *Lactobacillus*, responsables de la progresión de la caries en áreas profundas, es muy limitado, por cuanto su efectividad es en caries de esmalte o dentina de poca profundidad⁴⁸, considerando que contenidos superiores a 2 mg de propóleos son tóxicos para la dentina. Las sustancias del propóleos inhiben la glucosil transferasa, enzima relacionada con la fijación de microbios al tejido dentario. La apogenia y tt-farnesol serían en parte responsables de tal inhibición. Obviamente la acción sinergista de varios compuestos flavonoides y terpenos presentes en el propóleos mejora la acción de este producto natural⁴⁹.

La farmacodinamia ha sido revisada recientemente, destacando propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, anestésico, analgésicas bacteriostáticas, bactericidas, antivirales, fungicidas, antioxidantes y antineoplásicas^{49, 52,56,58}. No obstante, muchas de estas cualidades aún requieren de una verificación adicional. Al propóleo se le atribuyen múltiples propiedades las cuales podrían llevar a que tengamos a disposición un excelente medio terapéutico en la medicina humana, sin embargo todavía se mencionan más propiedades como antiparásito, antialérgico y antipirético. Aunque es un hecho que algunos reportes se basan en pocos casos estudiados y que tales estudios no revisten la categoría establecida para los fármacos y medicamentos; los más recientes trabajos tienden a superar esta deficiencia³⁶.

Se ha sugerido que el extracto etanólico de propóleo tiene efecto bactericida causada por la presencia de ingredientes muy activos, sin embargo es inestable. Se sugiere que la combinación de extractos de propóleo con antimicrobianos puede permitir la reducción de la dosis clínica de determinados antibióticos y por lo tanto, disminuir la incidencia de efectos secundarios y al mismo tiempo potenciar la terapia con antibióticos en el tratamiento de infecciones en que la resistencia bacteriana como el *Staphylococcus aureus* se convierte en un factor determinante⁵⁴.

La situación se torna más crítica ya que *Staphylococcus aureus*, es resistente a mas de 200 antibióticos como se ha demostrado en recientes investigaciones. Con el descubrimiento de la penicilina y el advenimiento de los antibióticos modernos, se comenzó a dejar de lado el uso del propóleo y paradójicamente, en la actualidad esa tendencia ha comenzado a revertirse⁶⁵.

Los métodos empleados para la extracción de propóleo requieren una adecuada estandarización. La primera forma de utilización del propóleo consistió en tomarlo puro y aprovecharlo en forma de emplastos, vaporizaciones, o consumiéndolo pulverizado mezclado con miel con fines terapéuticos. Lo más común es que se use un extracto etanólico de propóleo (EEP) como base para la elaboración de las diferentes formulaciones que incluyen propóleo, pues el etanol ha demostrado ser efectivo para la extracción de los compuestos fenólicos, flavonoides, En este caso se usa una mezcla de etanol, cloroformo y acetona, seguido de hidróxido de potasio etanol y acetólisis. La acetólisis permite separar gran cantidad de material orgánico post-extracción. Otros autores simplifican la extracción con etanol seguido de hidróxido de potasio, ultrasonido y tratamiento de acetólisis, con lo cual mejoran la concentración, pero debe tenerse en cuenta que muchos de los componentes del propóleo pueden ser mas solubles en agua u otros solventes diferentes al etanol; por tanto la extracción con alcohol etílico debería considerarse parcial^{46,49}.

Para el caso del extracto etílico de propóleo debe almacenarse en frascos de vidrio ámbar perfectamente cerrados y a temperatura menor de 15°C en lugares secos y alejados de la luz (preferiblemente oscuros), igualmente la respuesta biológica comienza a degradarse entre nueve y once meses después. También se encuentra propóleo en presentaciones comerciales de cosméticos a los cuales se agrega como sustancia activa en productos dentífricos, enjuagues bucales, entre otros⁴⁶.

Se distribuye en farmacias y almacenes naturistas, y en la actualidad carece de un estándar de calidad. Las propiedades biológicas y farmacológicas más estudiadas son aquellas que lo describen como agente antiinflamatorio, antioxidante, antiséptico y antineoplásico^{46, 49}.

Hoy en día, una de las actividades más importantes del propóleo es su actividad antimicrobiana la cual se le atribuye básicamente a los flavonoides, que es un compuesto bioactivo de grandes potencialidades para el tratamiento como antiséptico, antiinflamatorio, anticaries, en cirugía oral, endodoncia, periodoncia y patología bucal entre otras^{43,48}.

Por lo tanto, es pertinente suministrar información actualizada del uso del propóleo en odontología; ya que este compuesto ha sido y es usado actualmente en una gran variedad de entidades como úlceras bucales, heridas sépticas faciales, gingivitis, periodontitis y alveolitis, ayudando también al proceso de reparación y cicatrización de las fibras colágenas y fibroblastos; razón por la que constituye un compuesto con gran eficacia en la eliminación de la flora microbiana bucal⁴⁸, estomatitis aftosas, cirugía bucal, recubrimiento pulpar, bolsas periodontales, etc., sin embargo, relacionado con las más frecuentes afecciones estomatológicas, la caries dental, existen pocos reportes, pero en uno que estimamos muy importante se plantea que el ácido cinámico y el cafeico, ambos presentes en la composición de los propóleos, poseen actividad contra el *Streptococcus mutans*, microorganismo fuertemente asociado con la caries dental en el humano^{53,68}.

Considerando que hace ya algún tiempo se vienen exponiendo los beneficios del propóleo ante diversas afecciones por su amplia acción terapéutica, se ha propuesto el uso de enjuagues bucales antimicrobianos para reducir los niveles de las bacterias orales, especialmente *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. De hecho se ha demostrado que los enjuagues bucales son un complemento eficaz para el cepillado y el hilo dental para la higiene^{50,53}.

Con ello se logra desinfectar y desodorizar la cavidad bucal, reforzar el esmalte dental a través de la remineralización, desinflamar las encías, prevenir caries y combatir la placa bacteriana. La solución de propóleo también se ofrece en vaporizador para realizar aplicaciones en la cavidad bucal. Se recomienda tomar de 10 a 20 gotas con un vaso de agua 3 veces al día. Tópicamente se puede utilizar con más frecuencia, lavando la lesión antes de aplicar, de 4 a 5 veces diarias. Se puede aplicar sobre la piel a cualquier edad. El propóleo se comercializa con fines medicamentosos bajo una amplia gama de preparados galénicos que permiten aprovechar al máximo sus propiedades farmacológicas en diversas formas farmacéuticas como tinturas, extractos, cápsulas, preparados combinados, aerosoles y otras, es interesante para abordar problemas nacionales de salud pública, porque puede tener aplicaciones bucofaríngeas y anticaries, ya probadas en enjuagues bucales con propóleos⁶¹.

Por eso, cuanto más se avanza en el descubrimiento de antibióticos más poderosos, más se necesitan conocer las propiedades terapéuticas del propóleo, que a través de sus extractos parciales o totales, se ha mostrado efectivo contra

cepas de gérmenes patógenos que ya adquirieron resistencia a los antibióticos tradicionales y que curiosamente con el tiempo no han mostrado resistencia al propóleo. Los tratamientos con propóleo se encuentran ocupando los rangos intermedios, en donde se puede apreciar un incremento del radio del halo de inhibición a medida que este producto se encuentra más diluido⁶⁰.

Frente a la posible actividad alérgica del propóleo se presenta fuerte discusión. Sin embargo, es reconocido como causante de dermatitis por contacto en un reducido número de apicultores (enfermedad ocupacional), en los afectados puede aparecer eczema, prurito de mayor o menor intensidad y manchas rojizas en la piel, que se vuelve quebradiza y seca, llega incluso a provocar úlceras que pueden agravarse. Tal afección puede evitarse mediante la aplicación de una mezcla que contenga dos partes de amoníaco por ocho de glicerina, luego de lavar muy bien los restos de propóleo que estuviesen sobre la piel. Al aumentar el número de personas en contacto con propóleo se han reportado casos de alergia al mismo aunque en pequeño número, entre personas que no son apicultores, debido al consumo de pastillas dulces que contenían 0.5% de extracto de propóleo. En general, el propóleo es un producto bien tolerado. Faltan estudios sobre los efectos alérgicos debidos a las ceras presentes en estos productos^{46,48,49}.

El extracto de propóleo es muy bien tolerado y, en general, no presenta contraindicaciones. No presenta incompatibilidad con otras terapias farmacológicas⁶⁹.

Finalmente, es de destacar que la búsqueda de alternativas de origen natural para la terapéutica de muchas enfermedades ha constituido el impulso que conduce a retroceder en el tiempo y recurrir a los beneficios que aporta la naturaleza, como es el caso del propóleo, del que como hemos visto en esta revisión existen numerosos antecedentes⁵⁰ desde el punto de vista médico y se sugiere que tiene diversas propiedades terapéuticas en el área de odontología⁴⁸.

Por lo tanto, la estandarización de los propóleos es una necesidad. Cabe destacar que posiblemente en otros países la autoridad sanitaria los considera como alimento o suplemento alimentario⁴⁹.

III.3.2. EQUINÁCEA

Actualmente se conocen más de un millón y medio de especies vegetales que forman parte de la biodiversidad. En este término se concilia el deseo del ser humano por convivir con la naturaleza y reconocerse como parte de ella, la diversidad biológica implica una riqueza de valor incalculable; es el patrimonio natural legado irrepetiblemente por la evolución.

Las plantas de todas las regiones de la tierra han mostrado ser útiles de diversas maneras, además de su función básica como alimento, han servido como materia prima a muchas culturas, ya sea como adorno o prenda de vestir tal como se les encuentra en la naturaleza o transformada, han desempeñado importantes papeles en mitos y tradiciones, también han sido usadas por los indígenas en ceremonias civiles y religiosas, así como para propósitos medicinales, para curar cualquier tipo de enfermedad o dolencia, desde hace miles de años. En suma son las plantas objeto de alto interés para la humanidad⁷⁰.

Hasta el día de hoy algunas personas siguen utilizando la medicina alternativa para tratar diversas enfermedades y dolencias⁷¹. La homeopatía, sistema médico desarrollado desde hace más de dos siglos por Samuel Hanheman, se basa en principios hipocráticos, utiliza medicamentos preparados por diluciones progresivas de compuestos minerales, animales o vegetales, en algunos estudios cuidadosamente controlados, ha mostrado su eficacia en algunos tipos de dolor, así como ser un factor protector en contra de infecciones⁷².

La equinácea angustifolia por ejemplo, es una planta perenne de 60-100 cm de altura. Las hojas más o menos dentadas en los bordes, son anchas y ovaladas, con el haz de color verde intenso y pelo algo áspero en ambas caras. La inflorescencia es un capítulo que se compone de aproximadamente 20 flores liguladas radiales, de color púrpura violeta, que permanecen primero verticales y después horizontales, y de numerosas flores tubulares en la parte central en forma de sombrero o erizo, de unos 3 cm de altura por 3-5 cm de anchura⁷⁰.

Es una planta originaria de las praderas del norte de América donde se ha estado utilizando desde 600 años atrás por las tribus cheyenes, con propósitos medicinales, en forma externa es utilizada contra picaduras de serpientes, insectos y quemaduras mientras que internamente su uso es indicado para controlar la tos, los resfríos, el dolor de garganta, las infecciones e inflamaciones. Es importante saber que existen varias especies y variedades de equinácea, de las cuales solo tres tienen significado medicinal: Equinácea angustifolia, Equinácea purpurea y Equinácea pallida, las partes utilizadas son la raíz, las flores y las hojas⁷⁰.

En cuanto a su composición química contiene alrededor de 0.1% de un glicosido llamado echinacosido, aunque su principal componente es la echinaceína, un complejo de isobutilamida. Dependiendo de las especies el aceite esencial puede tener un alto porcentaje de alquil cetonas saturadas o isobutilamidas. Porciones aéreas frescas de las plantas contienen un complejo altamente volátil llamado "germacrene alcohol", el cual no se identifica en las partes secas de la equinácea⁷⁰.

Los extractos de la planta equinácea (familia Compositae) (órigenes de donde es donde se encuentra) son ampliamente utilizados en algunos países europeos y en los Estados Unidos^{73, 74}. La planta es rica en vitaminas y minerales, como niacina (vitamina B3), hierro, cromo, manganeso, selenio, silicio y zinc⁷¹. También contiene flavonoides, polisacáridos, alquilamidas, ácido glicósido-quirácico y poliacetilenos⁷⁵. La mayoría de los productos disponibles con el término equinácea difieren apreciablemente en su composición, principalmente debido a la variabilidad en los componentes de la planta, los métodos de extracción y el agregado de otros componentes (Figura III.3.2.1). Para todos los estudios, al menos dos autores evaluaron de forma independiente la calidad y la elegibilidad de los ensayos y extrajeron los datos⁷³.

Esta actividad podemos asociarla con los compuestos que contiene la equinácea como vitaminas (B3) y minerales, hierro, cromo, manganeso, selenio, silicio y zinc, flavonoides, polisacáridos, alquilamidas, ácido glicósido-quirácico y poliacetilenos^{71,75}.

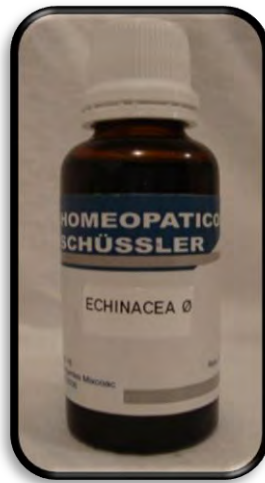


Figura III.3.2.1. Presentación comercial de la equinácea en su uso como antimicrobiano.

Del extracto lipofílico de las raíces de la Equinácea angustifolia se han aislado un gran número de alcanidas. Ellos varían entre especies y entre las diferentes partes de la planta. Un estudio indica que la distribución de la corteza de la raíz y las raíces secundarias de la Equinácea angustifolia es donde se encuentran las concentraciones más altas, mientras que los tallos y las hojas carecían de alcanidas. También contiene flavonoides como el ácido cafeico y sus derivados. Una serie de experimentos farmacológicos han demostrado que los extractos de Equinácea angustifolia que contienen alcanidas tienen importantes propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras. La inhibición de las COX-2 es conocida como una estrategia efectiva para suprimir el dolor y la inflamación. Las alcanidas aisladas de la Equinácea angustifolia inhibe la COX-2 dependiente de la prostaglandina E2, pero no inhibe la expresión de COX-2 en el nivel de la transcripción o traducción. Por lo tanto de los preparados de la Equinácea angustifolia se pueden considerar que tienen una acción antiinflamatoria y corresponden con lo observado in vitro de los efectos de las alcanidas. Una gran cantidad de datos recientes sugieren que las alcanidas que contienen los extractos de Equinácea angustifolia no solo pueden ser inmunoestimulantes, sino también poseen actividad antiinflamatoria y antiviral⁷⁰.

Algunos estudios como los realizados en el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Vizcaínas (1998) y por el pdr for herbal medicines (2000) han sugerido que los componentes polisacáridos y las glicoproteínas son los responsables de las propiedades antiinflamatorias de la planta⁷⁰.

La literatura reporta algunos efectos adversos de la Equinácea angustifolia cuando se administra de manera sistémica como son: aumento en la salivación, náusea, vómito, fiebre, sarpullido, dificultad para respirar, mareo y disminución de la presión arterial. Sin embargo, otros autores no reportan efectos indeseables cuando la Equinácea angustifolia es empleada de manera tópica y su aplicación favorece la recuperación de la salud bucal de los pacientes reduciendo las posibilidades que experimenten un efecto secundario⁷⁰.

El uso de colutorios de Equinácea angustifolia favorece la recuperación de la salud bucal debido a que posee propiedades antimicrobianas, desintoxicantes y de estimulante del sistema inmune sin efectos secundarios, sin embargo, no existe suficiente evidencia científica sobre su utilización en tratamiento de enfermedades periodontales, de ahí la importancia de realizar investigaciones sobre terapéuticas con equinácea, que tengan bajo costo, alta efectividad y que no generen efectos adversos como los de los medicamentos existentes para el tratamiento de la gingivitis⁷⁰.

El uso de Equinácea angustifolia 2D (decimal) por ejemplo, es un medicamento homeopático de origen vegetal, que posee propiedades de estimulante inmunitario, fungicida, bactericida; sialogogo (estimulante de la secreción salival), antigripal, antiinflamatorio, antibiótico, desintoxicante, antiviral, cicatrizante, purificador de la sangre, antialérgico, sudorífico, antiséptico, su aplicación favorece la recuperación de la salud bucal de los pacientes, reduciendo las posibilidades de que experimente un efecto secundario^{72,74,75}(Cuadro III.3.2.1)

Un uso muy frecuente estaba relacionado con los problemas dentarios y encías dolorosas. Será a partir de 1970 que productos a base de equinácea vuelven a ocupar un lugar importante gracias al interés de las personas en buscar una nueva solución terapéutica.

Cuadro III.3.2.1. Revisión sistemática de algunas investigaciones realizadas en función a la actividad antimicrobiana de la equinácea.

| TÍTULO | AUTOR | AÑO | RESULTADOS |
|---|---|------------|---|
| ¿Que se auto administra su paciente?: interacciones farmacológicas de la medicina herbal. Artículo de revisión | Covarrubias GA Nuche CE Tellez IM | 2005 | Las plantas medicinales son una industria más aceptada por la población, lo que genera la necesidad de comprender las interacciones farmacológicas que se pueden presentar con fármacos que se emplean en cualquier rama de la medicina ⁷⁵ . |
| Colutorios de Equinácea angustifolia 2D en el tratamiento de gingivitis simple en niños de 8 a 13 años | Espejel MM, Guzmán FC, Delgado RJ | 2006 | La Equinácea angustifolia eliminó en 19 de 31 casos la gingivitis y disminuyó el biofilm en un 47% ⁷² . |
| Estado de salud periodontal de gestantes después del uso de una pasta dental con extractos vegetales (tesis) | Coronado TD. | 2009 | El estado de salud periodontal mejoró al cabo de 28 días de uso, afirmando que la pasta experimental logró reducir los índices periodontales y que es efectiva en la reducción de la placa bacteriana, inflamación y sangrado gingival ⁷¹ . |
| Estudio del efecto inmunomodulador de la Equinácea purpúrea en pacientes con Herpes Labial Recurrente | Prado AB Le-Bert ZM Carrión AF Honeyman MJ | 2010 | La hiperactividad de células Treg podría explicar el estado de inmunosupresión, se propone la equinácea como una alternativa inmunoterapéutica beneficiosa ⁷⁴ . |

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el quehacer odontológico se han descrito innumerables patologías que aquejan al ser humano. Algunos estudios epidemiológicos realizados centran su atención en la caries dental y parodontopatías así como infecciones apicales, las cuales describen la importancia de los *Streptococcus* y *Staphylococcus* en la aparición de dichos procesos patológicos, concretamente *mutans* y *aureus* respectivamente. En respuesta a ello, la práctica odontológica ha investigado y aplicado medidas preventivas para hacer frente a estos microorganismos, una de las cuales son los enjuagues bucales, frecuentemente empleada la clorhexidina como agente antimicrobiano, sin embargo se han descrito efectos secundarios que son una desventaja en su uso. Actualmente se tiene un creciente interés por ofrecer tratamientos eficaces a bajo costo y menores efectos adversos. A partir de esta referencia surge la inquietud por buscar una alternativa para el paciente encontrando una posible respuesta en la medicina complementaria, la cual muestra el aumento de su uso por factores sociales que reportan dos posibles tendencias: la pérdida de la confianza en la medicina tradicional y su incremento en las demandas para controlar el costo de la salud. De ahí la importancia de la presente investigación, para proponer el propóleo y la equinácea, dos sustancias comúnmente utilizadas en la medicina complementaria como un auxiliar en la higiene bucal para controlar dichos microorganismos. De este panorama se desprende la pregunta de investigación ¿Cuál es la efectividad del propóleo y la equinácea como antisépticos bucales en la disminución de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus in vitro*?

V. HIPÓTESIS

Considerando la información teórica respecto a la efectividad del propóleo y la equinácea como antimicrobianos suponemos que su uso como antisépticos bucales disminuirá en un porcentaje igual o mayor el *Streptococcus mutans* y el *Staphylococcus aureus* que el estándar de oro (clorhexidina).

VI OBJETIVO

Determinar la efectividad del propóleo y la equinácea como antisépticos bucales en la disminución del *Streptococcus mutans* y el *Staphylococcus aureus in vitro*.

VII MATERIAL Y MÉTODOS

VII. 1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental

VII.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se estudió 1 cepa de *Streptococcus mutans* y 1 cepa de *Staphylococcus aureus*

VII.3. VARIABLES

Independientes: tratamiento; propóleo al 30%, tintura de equinácea, clorhexidina al 0.2% (estándar de oro), agua destilada (control).

Dependientes: inhibición de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*

VII.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

| Variable | Definición | Nivel de medición | Categorías |
|-------------------------------------|--|--------------------------|--------------------------------------|
| Propóleo | Producto derivado de las abejas con propiedades antimicrobianas | Cualitativa Nominal | Con propóleo Sin propóleo |
| Equinácea | Producto derivado de las plantas con propiedades antimicrobianas | Cualitativa Nominal | Con equinácea Sin equinácea |
| Clorhexidina | Producto químico con propiedades antimicrobianas | Cualitativa Nominal | Con clorhexidina Sin clorhexidina |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Patógeno causante de infecciones apicales | Cuantitativa Discreta | mm de inhibición |
| <i>Streptococcus mutans</i> | Patógeno causante de caries dental | Cuantitativa Discreta | mm de inhibición |

VII.5. TÉCNICAS

Se preparó medio de cultivo Müller Hinton en un matraz de vidrio según indicaciones del fabricante, después se colocó en cajas Petri para llevar a cabo el estudio, antes de iniciar se realizó una prueba control por 24 horas para descartar contaminación la cual consistió en incubar una caja Petri a 37°C en la estufa destinada para ello.

Para el recuento bacteriano se colocó la cepa de *Streptococcus mutans* en un tubo de ensaye con solución salina, después de realizaron diluciones a razón de 10^1 , 10^2 , hasta 10^9 una vez realizadas las diluciones se sembró a doble capa en cada una de las cajas etiquetadas con cada dilución, se incubó a 37°C por 24 horas y se registro el recuento en el formato diseñado para ello (figura VII.5.1).

A partir de las diluciones realizadas, se colocó 1ml de cada dilución en cajas Petri individuales con medio de cultivo Müller Hinton etiquetadas previamente con la dilución homogenizando para la uniformidad en la distribución de la muestra, hecho lo cual, se impregnó un disco de papel filtro estéril con la sustancia a estudiar, en este caso es un disco con propóleo repitiendo el procedimiento con el enjuague oral B con clorhexidina (estándar de oro) y un disco con agua (control), se incubó a 37°C por 48 horas (figura VII.5.2). La prueba se realizó por triplicado.

Transcurridas las 48 horas se midió el halo de inhibición de crecimiento bacteriano y se vaciaron los resultados de halos de inhibición en mm en el formato diseñado para ello. La técnica se utilizó de la misma forma para el *Staphylococcus aureus*.

VII.6. DISEÑO ESTADÍSTICO

Para la interpretación de los datos obtenidos se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 17, se calcularon valores promedio \pm desviación estándar y como prueba de comparación se utilizó Análisis de Varianza (ANOVA) y como prueba pos hoc Tukey con un 95% de confianza.

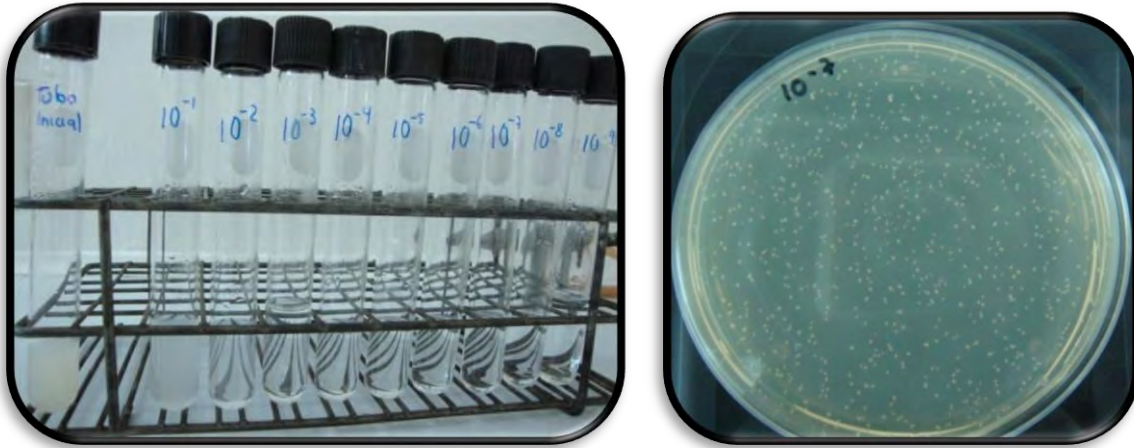


Figura VII.5.1. Se muestra los diferentes grados de turbidez de cada dilución así como la caja Petri para el recuento bacteriano. (Fuente propia)

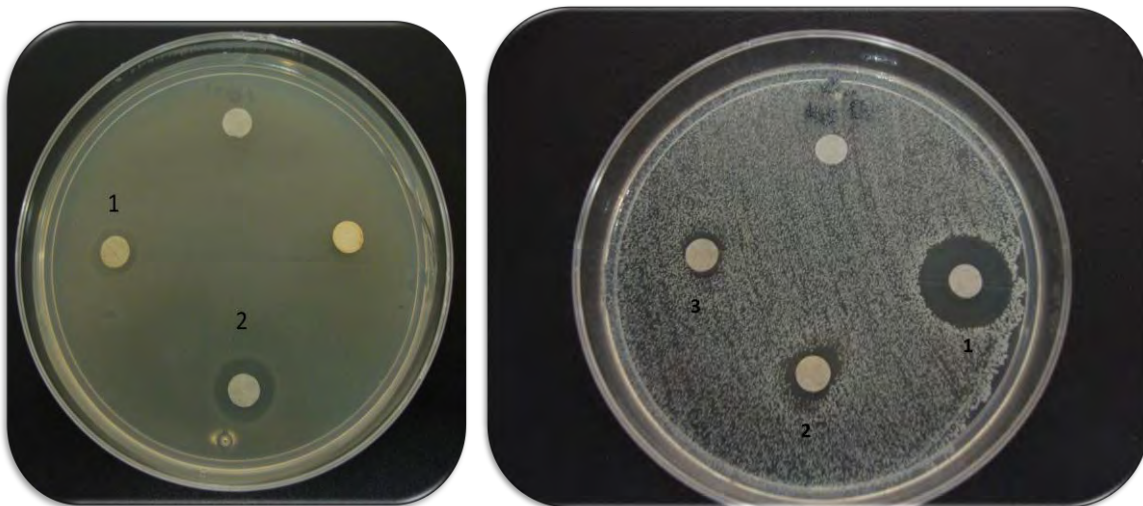


Figura VII.5.2. A la izquierda se muestra la comparación de los halos de inhibición entre el propóleo (1) y la clorhexidina (2) en la cepa de *Streptococcus mutans*; a la derecha se muestra la comparación de los halos de inhibición entre clorhexidina (1), propóleo (2) y equinacea (3) en la cepa de *Staphylococcus aureus*. (Fuente propia)

VIII. RESULTADOS

Usando cepas de *Streptococcus mutans* para este estudio y colocando una muestra comercial de propóleo (La Tía Trini[®]), equinácea (Shüssler[®]) y clorhexidina (estándar de oro; Oral B gingivitis[®]) se encontró que el propóleo presentó halos de inhibición con un valor promedio de 16 mm y una desviación estándar de 2.9 mm, la equinácea 14 mm y una desviación estándar de 1.4 mm, la clorhexidina 18 mm y una desviación estándar de 0.9 mm. Al comparar los halos de inhibición entre las sustancias no se encontraron diferencias significativas.

Usando cepas de *Staphylococcus aureus* para este estudio y colocando una muestra comercial de propóleo (La Tía Trini[®]), equinácea (Shüssler[®]) y clorhexidina (estándar de oro; Oral B gingivitis[®]) se encontró que el propóleo presentó halos de inhibición con un valor promedio de 14 mm y una desviación estándar de 3.8 mm, la equinacea 10 mm y una desviación estándar de 1.6 mm, la clorhexidina 18 mm y una desviación estándar de 1.5 mm. Al comparar los halos de inhibición entre las sustancias se encontraron diferencias significativas entre la equinacea y la clorhexidina de $p=0.0001$ (Cuadros VIII.1, VIII.1.1, VIII.2, VIII.2.1).

Cuadro VIII.1. Evaluación in vitro de la acción antimicrobiana del extracto de propóleo y clorhexidina frente al *Streptococcus mutans*. (Halos de inhibición)

| Tratamiento | S. mutans Promedio + DE (mm)* |
|---------------------|---|
| Propóleo | 16 ± 2.9 |
| Equinacea | 14 ± 1.4 |
| Clorhexidina | 18 ± 0.9 |
| Control | 0 ± 0.0 |

*ANOVA $p > 0.05$.

Cuadro VIII.1.1. Evaluación in vitro de la acción antimicrobiana del extracto de propóleo y clorhexidina frente al *Staphylococcus aureus*. (Halos de inhibición)

| Tratamiento | S. aureus Promedio + DE (mm)* |
|---------------------|---|
| Propóleo | 14 ± 3.8 |
| Equinacea | 10 ± 1.6 |
| Clorhexidina | 18 ± 1.5 |
| Control | 0 ± 0.0 |

*ANOVA $p > 0.05$.

Cuadro VIII.2. Análisis comparativo entre los tratamientos para *Streptococcus mutans*

| Tukey HSD | Tratamiento | S. mutans | | |
|-----------|--------------|------------------|----------------|-------------------|
| | | Propóleo sig. | Equinacea sig. | Clorhexidina sig. |
| | Propóleo | - | 0.836 | 0.743 |
| | Equinacea | 0.836 | - | 0.090 |
| | Clorhexidina | 0.743 | 0.090 | - |

ANOVA. Prueba pos hoc Tukey 95%.

Cuadro VIII.2.1. Análisis comparativo entre los tratamientos para *Staphylococcus aureus*

| Tukey HSD | Tratamiento | S. aureus | | |
|-----------|--------------|------------------|----------------|-------------------|
| | | Propóleo sig. | Equinacea sig. | Clorhexidina sig. |
| | Propóleo | - | 0.090 | 0.062 |
| | Equinacea | 0.090 | - | 0.0001* |
| | Clorhexidina | 0.062 | 0.0001* | - |

*ANOVA. Prueba pos hoc Tukey 95%.

IX DISCUSION

Del gran número de bacterias que se encuentran en la cavidad bucal, los microorganismos pertenecientes al género *Streptococcus* y *Staphylococcus*, básicamente las especies *mutans* y *aureus* junto con otras bacterias, juegan un papel importante en el desarrollo de la caries dental^{1,9} e infecciones de tejidos blandos, a menudo con formación de absceso¹⁹. Las patologías causadas por estos microorganismos han sido un serio problema de salud para los seres humanos. Estos procesos de no recibir tratamiento, dentro de su evolución trae consigo la pérdida de órganos dentarios así como complicaciones periodontales entre otras.

La necesidad de la prevención estomatológica integral es cada vez más urgente al profundizarse en las causas de los problemas estomatológicos, y la comprensión de que por mucho tiempo se ha prestado mayor importancia a la reparación de los daños que ha evitar la influencia de factores desencadenantes de la patogénesis⁹.

El estudio aquí presentado vierte su interés en la Medicina Complementaria como una alternativa para hacer frente a estas necesidades, siendo el propóleo y la equinácea dos sustancias que se han descrito en varios estudios sus propiedades antimicrobianas y que hemos llevado a un plano de investigación experimental en relación al *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* comparando su actividad antimicrobiana con la clorhexidina (estándar de oro) y el agua destilada (control).

Con base en los resultados obtenidos en nuestro estudio y evaluando la actividad antimicrobiana del propóleo contra la clorhexidina se encontró que en la cepa de *Streptococcus mutans* hubo un halo de inhibición de 16 ± 2.9 mm del propóleo comparado con la clorhexidina (18 ± 0.9 mm) no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.743$) por lo que ambos compuestos presentan esta propiedad antimicrobiana que ha sido descrita por otros autores en un enjuague de propóleo verde al 5%^{50,55}; así mismo un estudio realizado por Mayta *et al* en 2010 encontró que el efecto del extracto etanólico del propóleo al 30% fue menor ante la clorhexidina al 0.05% en la disminución de dicho microorganismo⁴⁷, lo cual está acorde con nuestros resultados. Moromi *et al* en 2009 encontró un efecto antibacteriano del propóleo inversamente proporcional a la concentración

de las diluciones que realizó, siendo la dilución al 0.8% más efectiva en este caso respecto a la clorhexidina⁶⁵, de lo anterior podemos observar que diversos estudios reportan la actividad antimicrobiana del propóleo frente a *Streptococcus mutans* (Gispert *et al* 1998 y 2000^{52,53}, Daza 2004⁵⁶) en diferentes presentaciones ya sea goma de mascar o crema dental a base de propóleos rojos al 0.68%.

Por lo anterior, el potencial anticariogénico del propóleo ha sido demostrado y ha revelado la reducción de la incidencia de caries y acumulación de placa dental *in vitro* e *in vivo*; sugiriendo que existen dos mecanismos asociados con las propiedades anticariogénicas/antiplaca del propóleo como son la actividad antimicrobiana contra bacterias cariogénicas y la inhibición de la enzima glucosiltransferasa⁴⁸.

En relación a los resultados obtenidos y evaluando la actividad antimicrobiana de la equinácea contra la clorhexidina se encontró que en la cepa de *Streptococcus mutans* hubo un halo de inhibición de 14 ± 1.4 mm de equinácea comparado con la clorhexidina (18 ± 0.9 mm) no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.090$) sin embargo fue menor el halo de inhibición a lo reportado por el propóleo. Las propiedades antimicrobianas encontradas coinciden con lo descrito por algunos autores (Covarrubias 2005⁷⁵, Espejel *et al* 2006 quien utilizó 1 mL = 20 gotas de Equinácea 2D diluidas en 10 mL de agua⁷², Linde *et al* 2008⁷³, Coronado 2009⁷¹, Prado *et al* 2010⁷⁴).

Ahora bien, los resultados obtenidos con respecto a la actividad antimicrobiana del propóleo contra la clorhexidina aplicada a la cepa de *Staphylococcus aureus* hubo un halo de inhibición de 14 ± 3.8 mm de propóleo comparado con la clorhexidina 18 ± 1.5 mm no encontrándose una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.062$) respecto a la actividad antimicrobiana del propóleo frente a *Staphylococcus aureus*, lo cual concuerda con un estudio donde el extracto etanólico de propóleo al 30% alcanzó la misma efectividad a la clorhexidina ($p=0.211$)⁴⁷, asimismo otros autores como Chailloul *et al* 2004⁵⁸, Manrique 2006⁶², Neacato 2005⁶⁰, Pinto *et al* 2001⁵⁴ describen una efectiva actividad antimicrobiana del propóleo frente a *Staphylococcus aureus* y cepas Gram positivas⁴⁸.

Finalmente los resultados obtenidos para la actividad antimicrobiana de la equinácea en comparación con la clorhexidina en contra de *Staphylococcus*

aureus mostraron un halo de inhibición mayor para la clorhexidina (18 ± 1.5 mm vs 10 ± 1.6 mm), diferencia que fue estadísticamente significativa ($p=0.0001$). En este sentido, estos resultados son acordes con Sharma *et al* 2010 donde las cepas de *Staphylococcus aureus* fueron menos sensibles a los efectos bactericidas de equinácea pero se observó una disminución en la respuesta inflamatoria de los pacientes⁶⁸.

X CONCLUSIONES

Hipótesis

*Considerando la información teórica respecto a la efectividad del propóleo y la equinácea como antimicrobianos suponemos que su uso como antisépticos bucales disminuirá en un porcentaje igual o mayor el *Streptococcus mutans* y el *Staphylococcus aureus* que el estándar de oro (clorhexidina).*

Conclusiones

- Los resultados sugieren que el propóleo tiene un efecto antimicrobiano similar a la clorhexidina contra *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.
- Los hallazgos reportados de la equinacea en este estudio frente a *Staphylococcus aureus* mostraron una actividad menor respecto al estándar de oro.
- La equinacea mostró una actividad antimicrobiana menor que el propóleo y la clorhexidina sin embargo el efecto antimicrobiano frente al *Streptococcus mutans* fue aceptable.

XI PERSPECTIVAS

- Se busca seguir realizando estudios sobre la efectividad del propóleo como medida efectiva en el control de la caries y la equinácea en el control de las infecciones periodontales con el fin de comercializar un enjuague bucal.
- Es importante difundir los resultados obtenidos con la finalidad de limitar el uso del propóleo y la equinácea de manera indiscriminada considerando el riesgo que puede generar en una resistencia microbiana

XII BIBLIOGRAFIA

1. Duque de Estrada RJ, Pérez QJA, Hidalgo-Gato FI. Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. Rev Cubana Estomatol Enero-Marzo 2006; XLIII (1).
2. Baños RF, Aranda JR. Placa dentobacteriana. Revista ADM Enero-Febrero 2002; LX (1): 34-6.
3. Alonso NM, Karakowsky L. Caries de la infancia temprana. Perinato Reprod Hum Abril-Junio 2009; XXIII (2): 90-97.
4. Higashida B. Odontología preventiva. Mc Graw-Hill. 2000: 61-78, 148-149.
5. Brook G. Microbiología médica de Jawetz. Medica panamericana, 1999.
6. Silverstone, I. Caries Dental: etiología, patología y prevención. Manual moderno, 1985.
7. Sánchez PL, Acosta GE. Estreptococos cariogénicos predominantes, niveles de infección e incidencia de caries en un grupo de escolares. Estudio exploratorio Investigación. Revista ADM Marzo-Abril 2007; LXIV (2): 45-51.
8. Correa JL. Antibióticos y antiinflamatorios de origen herbolario en la práctica odontológica (Tesis). México: UNAM; 2004.
9. Duque de Estrada RJ, Pérez QJA, Hidalgo-Gato FI. Association of Streptococcus mutans and lactobacilli with dental caries in children. Rev Cubana Estomatol Octubre-Diciembre 2007; XLIV (4).
10. INI. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. 1994; 15.
11. Aricapa BDP. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2009.
12. Özan F, Sümer Z. Efecto de enjuague bucal con propóleos en microorganismos orales y humanos de los fibroblastos gingivales. J Dent Octubre 2007; I (4): 195-201.
13. Menaker L. Bases biológicas de la caries dental. Salvat Editores. 1986: 422-424, 429-431.
14. Aguilera GLA *et al.* Nivel de *Streptococcus mutans* y prevalencia de caries dental en una población de escolares de la zona urbana de la ciudad de Zacatecas. Revista ADM Mayo-Junio 2004; LXI (3): 85-91.
15. Nikiforuk G. Caries dental: aspectos básicos y clínicos. Buenos Aires: Mundi. 1986.
16. De Paula SJ, Martins SA. Acción antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de *Rubus urticaefolius*. Rev Cubana Plant Med Enero-Abril 2000; V (1).

17. Camon VC *et al.* Halitosis en pacientes con problemas periodontales. Noviembre-Diciembre 2002; LIX (6): 207-210.
18. Morantes MF *et al.* Consideraciones del uso de antibióticos en infecciones odontogénicas. Revista ADM 2003; LX (5):185-192.
19. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005; 10:E27-E39.
20. Chandy CJ, Schreiber JR. Terapias y vacunas para infecciones bacterianas emergentes: aprendiendo del *estafilococo aureus* meticilino resistente. Pediatr Clin N Am 53 (2006) 699–713.
21. Academia Americana de Pediatría. Red Book, Atlas de enfermedades infecciosas en pediatría (traducción). Argentina: Panamericana 2009: 97-119.
22. Pascual AM, Calderón PV. Microbiología alimentaria, metodología analítica para alimentos y bebidas. España: Díaz de Santos 2000: 77-92 páginas.
23. Pahissa A. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. España: Editorial ICG 2009.
24. http://www.infomed.es/rode/index.php?option=com_content&task=view&id=151&Itemid=1
25. Sociedad Española de Periodoncia y Osteointegración. Manual de higiene dental. Panamericana 2009: 107-108, 112-113.
26. Aguilera M.C, Romano E, Ramos N, Rojas L. Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). Odus Científica Enero-Junio 2011; XII (1).
27. Zbys F *et al.* Enjuagues bucales para el tratamiento de la halitosis. <http://bases.bireme.br/cgi-in/wxisffi1M.exe/iah/cochrane/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=BREVIEWS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=C D006701&indexSearch=ID>
28. Enrile de Rojas FJ, Santos-Aleman A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. RCOE 2005; X (4): 445-452.
29. Bozza FL *et al.* Antimicrobial effect in vitro of chlorhexidine and calcium hydroxide impregnated gutta-percha points. Acta odontol latinoam 2005; XVII (2): 51-56.
30. Yevenes, LI *et al.* Efecto inhibitorio en placa microbiana y propiedades antibacterianas de enjuagatorios de clorhexidina. Rv Periodon Implantol. 2003; XV (1): 19-24.
31. Chimenos K.E. Antisépticos en medicina bucal: la clorhexidina. JANO Enero 2003; LIX (1): 458.
32. Santos EA. Efectividad antibacteriana del gluconato de clorhexidina al 0.12% y el hipoclorito de sodio al 2.5% como soluciones antisépticas del

- conducto radicular. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2003.
33. Azuero HM, Ordoñez AF, Tinjacá MV. Comparación de tres soluciones irrigantes utilizadas en endodoncia. Artículo de revisión.
 34. Bailey D *et al.* Chlorhexidine interventions for the prevention of caries in adults (Protocol for a Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 11, 2011.
 35. Calsina-Gomis G, Serrano-Granger J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. RCOE 2005; X (4): 457-464.
 36. Anusavice K.J. Pautas de tratamiento en Odontología Preventiva y Conservadora. JADA June 1995; CXXVI.
 37. Mc Donald RE. Odontología pediátrica y del adolescente. Panamericana. 1990: 446-47.
 38. Aedo SF, Granados SJ. La medicina complementaria en el mundo. Revista Mexicana de Medicina Física y Rehabilitación 2000; 12: 91-99.
 39. Programa de Acción Específico 2007-2012. Medicina Tradicional y Sistemas Complementarios de atención a la salud, Secretaria de Salud, Subsecretaria de Innovación y Calidad, México.
 40. Filshie J. Medicina complementaria y alternativa. Rev Chil Neuro-Psiquiat 2004; XLII (4): 243-250.
 41. Salas LMA, Rivas GJ. La odontología del pueblo maya. Rev ADM 2001; LVIII (3).
 42. Bellón LS, Aldama BY, Echarry CO. Actualización terapéutica en la aplicación de la Medicina Natural y Tradicional en Estomatología. Publicación del Sitio Web “Policlínico Universitario Vedado” Literatura para Estudiantes de Estomatología. Página Docencia. 2005. http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/pdvedado/actualiz_mnt_estomat.pdf
 43. Torrent-Farnell J. Plantas medicinales. AMF 2008; IV (10): 541.
 44. González MR. Determinación de los efectos terapéuticos (antisépticos, antiinflamatorios y analgésicos) del compuesto “Hierbas Suecas” para el tratamiento de algunas afecciones bucales (Tesis Doctoral). España: Universidad de Granada; 2010.
 45. Hamlyn E. Fundamentos de la homeopatía en el órgano de hahnemann. Buenos Aires: Albatrox 1989.
 46. Martínez T, Figueroa J, Martínez N. Evaluación de la capacidad antimicrobiana de muestras de propóleo colombiano. <http://www.apiarioloscitricos.com/pdf/FULTESIS%206.pdf>
 47. Mayta TFR, Sacsquispe CS. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa-Perú sobre cultivos de

- Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Rev Estomatol Herediana 2010; XX (1).
48. Premoli G, Laguado P, Díaz N, Romero C, Villarreal J, González A. Uso del propóleo en odontología. Acta odontológica venezolana 2010; XLVIII (2).
 49. Peña RC, Estandarización de propóleos: antecedentes químicos y biológicos (Revisión de literatura). Cien Inv Agr 2008; XXXV (1): 17-26.
 50. Pereira REM *et al.* Clinical Evidence of the Efficacy of a Mouthwash Containing Propolis for the Control of Plaque and Gingivitis: A Phase II Study. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Volume 2011 (2011), Article ID 750249.
 51. Ledón N, Casacó A, González R, Merino N, González A, Tolón Z. Efectos antipsoriásico, antiinflamatorio y analgésico del propóleo rojo colectado en Cuba. Rev Cubana Farm 1997; XXX (1).
 52. Gispert AE. Estudio comparativo del efecto del cepillado con una crema dental con propóleos rojos y de un gel con clorofila. Rev Cubana Estomatol 1998; XXXV (3).
 53. Gispert AE. Actividad anticaries de una crema dental con propóleos. Rev Cubana Estomatol 2000; XXXVII (3).
 54. Pinto MS *et al.* Efecto de extractos de propóleo verde sobre bacterias patogénicas aisladas de leche de vacas con mastitis. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 2001; XXXVIII (6): 278-283.
 55. Abdullah BA, Al-Talib RA, Al-Sultan FA. Comparative antiplaque activity of propolis extract and chlorhexidine *in vivo*. Al-Rafidain Dental Journal 2003; III (1): 7-12.
 56. Daza EG, Benavides OF. Goma de mascar con efecto anticaries. Revista Estomatología Marzo 2004; XII (1).
 57. Barreto VL, Costa Feitosa AMS, Araújo TJ, Chagas FK, Costa LK. Acción antimicrobiana *in vitro* de dentífricos conteniendo fitoterápicos. Av Odontoestomatol 2005; XXI (4): 195-201.
 58. Chailloul L, Herreral HA. Estudio del propóleos de Santiago del Estero, Argentina. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2004; XXIV (1).
 59. Memorias del instituto Oswaldo Cruz. Propóleos: anti -*Staphylococcus aureus* actividad y sinergias con los fármacos antimicrobianos. 2005.
 60. Neacato VS. Uso de extractos etanólicos de propóleo para el control de *Staphylococcus aureus in vitro* obtenidos de leche de vacas con mastitis. 2005. <http://www3.espe.edu.ec:8700/handle/21000/2488>
 61. Isla M, Vit P, Brito R, Mejía A, Molina E, Isla J. Caramelos a base de propóleos y su posible aceptación en la ciudad de Mérida. INHRR Caracas Junio 2005; XXXVI (1).

62. Manrique AJ. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. *Zootecnia Trop* 2006; XXIV (1).
63. Fernández GKI, Martín RO, Arias HS, Paz LE. Eficacia de la tintura de propóleo al 20 % en el tratamiento de la hiperestesia dentinaria. *Archivo Médico de Camagüey* 2007; XI (5).
64. Diestra GEA, Del Castillo-Algarate EF, Gerónimo-Gonzales M, Mercado-Martínez PE. Concentración mínima bactericida “*in vitro*” del extracto etanólico de propóleos de Chepén (Perú) sobre *Listeria monocytogenes* REBIOL Julio-Diciembre 2008; XXVIII (2).
65. Moromi H *et al.* Antibacterianos naturales orales: Estudios en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Odontol. Sanmarquina* 2009; XII (1): 25-28.
66. Jayaprakash R, Sharma A, Moses J. Comparative evaluation of the efficacy of different concentrations of chlorhexidine mouth rinses in reducing the mutants streptococci in saliva: An *in vivo* study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2010; 28: 162-6.
67. Dodwad V, Kukreja BJ. Propolis mouthwash: A new beginning. *J Indian Soc Periodontol* Apr 2011; XV (2): 121-5.
68. Sharma SM, Anderson M, Schoop SR, Hudson JB. Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized Echinacea (Echinaforce^R): Dual actions against respiratory bacteria. *Phytomedicine* July 2010; XVII (8-9): 563-568.
69. Zia RB. Oral recurrent aphthous ulcers/ stomatitis: prevalence in Malaysia and an epidemiological upda; 42: 15-9.
70. Rodríguez PO. Efectividad de la Equinácea angustifolia vs cloruro de cetilpiridino en el tratamiento de la gingivitis crónica en una población adolescente del Estado de México (Tesis). México: UNAM; 2010.
71. Coronado TD. Estado de salud periodontal de gestantes después del uso de una pasta dental con extractos vegetales (tesis). Peru: Universidad Nacional de San Marcos; 2009.
72. Espejel MM, Guzmán FC, Delgado RJ. Colutorios de Equinácea angustifolia 2D en el tratamiento de gingivitis simple en niños de 8 a 13 años. *Revista ADM* Noviembre-Diciembre 2006; LXIII (6): 205-9.
73. Linde K, Barrett B, Wölkart K, Bauer R, Melchart D. Equinácea para la prevención y el tratamiento del resfriado común (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd.
74. Prado AB, Le-Bert ZM, Carrión AF, Honeyman MJ. Estudio del efecto inmunomodulador de la Equinácea purpúrea en pacientes con Herpes Labial Recurrente. *Rev. Chilena Dermatol.* 2010; XXVI (4): 379-384

75. Covarrubias GA, Nuche CE, Téllez IM. ¿Qué se auto-administra su paciente?: Interacciones farmacológicas de la medicina herbal. Revista Mexicana de anestesiología Enero-Marzo 2005; XXVIII (1): 32-42.