



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**EFICACIA DEL PROPÓLEO IN VITRO
SOBRESTAPHYLOCOCCUS AUREUS, ESTUDIO
COMPARATIVO CON LA CLORHEXIDINA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA

IBARRA SANTOS BLANCA ALHELÍ

DIRECTOR: **MTRO. ALFREDO DE LEÓN VALDEZ**

ASESOR: **Q.F.B. MARÍA ELENA TEJEDA ROSALES**



MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2013



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 DIOS.

Por haberme concebido la vida, por permitirme esforzar cada día por mis sueños y poder lograr uno de los más grandes de ellos, por todo lo que he recibido y por todo lo que aún está por llegar.

GRACIAS

A MIS PADRES.

Estela Santos Ramírez

Javier Ibarra Rivera

Por el apoyo que me han brindado cada día, por estar aquí para mí y poder mostrarme el camino, por inculcarme principios y valores, por su amor incondicional y permitir que tomara mis propias decisiones, y por todo lo que soy, mi éxito se lo debo a ustedes, los amo.

GRACIAS

A MI HERMANA

Te agradezco por ser mi mejor amiga y confidente, gracias por tus consejos y por estar siempre cuando te necesitaba, de igual manera permaneceré a tu lado, te quiero.

GRACIAS

A MI FAMILIA

Difícilmente se puede expresar con palabras la alegría que siento al compartir con ustedes estos momentos tan especiales de mi vida, gracias por todo su apoyo y por formar parte de mi felicidad.

MUCHAS GRACIAS

A MI ANGEL

JULIO SANTOS RUIZ

A pesar de que no te encuentres conmigo físicamente, sé que permaneces a mi lado y siempre te encuentras en mi mente y en mi corazón, sé que donde te encuentres estás muy orgulloso de mí y ya viste lo logré, tú fuiste un gran ejemplo para mí. Te extraño y te amo papá.

GRACIAS

A MI PAREJA

Javier Emmanuel Palacios Resendiz

Amor hay momentos en la vida que son especiales por si solos, compartirlos contigo los convierte en inolvidables, gracias amor por compartir conmigo tu tiempo, tu espacio, tu mundo y tu vida y por creer en mí, te amo.

GRACIAS

A LA UNAM

Por brindarme la oportunidad de ser parte de tan honorable institución, donde me forme profesionalmente y haber logrado mi mayor meta en la vida.

GRACIAS

A MI DIRECTOR DE TESIS

MTRO. Alfredo de León Valdez

Por brindarme tu valioso tiempo, por darme parte de tu intelecto y confiar en mí para realizar la investigación, por mi aprendizaje y por tu amistad.

GRACIAS

A MI ASESORA DE TESIS Y SU ESPOSO

Q.F.B. María Elena Tejeda Rosales

Dr. Juan Francisco Sánchez Ruiz

Por su entrega en mi aprendizaje, por compartir su sabiduría y por impulsarme a ser cada día mejor, por sus consejos y por la realización de esta tesis.

GRACIAS

A MI HONORABLE JURADO

C.D. María Guadalupe Reyes Albarran

MTRO. Alfredo de León Valdez

Q.F.B. María Elena Tejeda rosales

C.D. Arturo Torres Sánchez

C.D. Iván Antonio Miranda Llanas

Y a todas las personas que de una u otra forma me ayudaron incondicionalmente para realizar esta meta tan importante en mi vida.

MUCHAS GRACIAS



*EFICACIA DEL PROPÓLEO IN VITRO SOBRE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ESTUDIO COMPARATIVO
CON LA CLORHEXIDINA*

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN | 9 |
| JUSTIFICACIÓN | 11 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 13 |
| MARCO TEÓRICO | 14 |
| <u>Propóleo</u> | |
| Generalidades..... | 16 |
| Historia de su uso en medicina..... | 18 |
| Apicultura en México..... | 20 |
| Origen botánico..... | 24 |
| Método de recolección..... | 26 |
| ➤ Normas de calidad nacional e internacional..... | 27 |
| Propiedades físicas..... | 29 |
| Composición química..... | 30 |
| Actividad biológica..... | 33 |
| Acción antimicrobiana..... | 35 |
| Aplicaciones terapéuticas..... | 40 |
| Uso terapéutico en cavidad oral..... | 40 |
| Productos derivados del propóleo..... | 41 |

| | |
|--|----|
| Mercado..... | 42 |
| Contraindicaciones y efectos adversos..... | 43 |
| <u>Staphylococcus aureus</u> | |
| Generalidades..... | 45 |
| Definición taxonómica..... | 48 |
| Medio de cultivo selectivo para <i>S. aureus</i> | 49 |
| Biofilm..... | 50 |
| Factores de riesgo..... | 51 |
| Virulencia..... | 52 |
| Factores de agresividad..... | 54 |
| Epidemiología..... | 56 |
| Resistencia antimicrobiana..... | 58 |
| Cuadro clínico..... | 59 |

| | |
|--------------------|----|
| ➤ Diagnóstico..... | 60 |
| ➤ Tratamiento..... | 61 |

| | |
|---|----|
| Staphylococcus aureus meticilino-resistente (SAMR)..... | 65 |
|---|----|

| | |
|----------------------|----|
| ➤ Epidemiología..... | 67 |
| ➤ Prevalencia..... | 69 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| <u>Clorhexidina</u> | |
| Antecedentes..... | 72 |
| Biguanidas..... | 75 |
| Características físico-químicas..... | 76 |
| Indicaciones terapéuticas..... | 77 |
| Mecanismos de acción..... | 77 |

| | |
|-------------------------------|-----------|
| Actividad antimicrobiana..... | 78 |
| Uso en odontología..... | 80 |
| Efectos adversos..... | 83 |
| HIPÓTESIS..... | 85 |
| OBJETIVOS | |

| | |
|--------------------|----|
| ➤ General..... | 85 |
| ➤ Específicos..... | 85 |

| |
|----------------------------|
| DISEÑO METODOLÓGICO |
|----------------------------|

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| A. Tipo de estudio..... | 86 |
| B. Población de estudio..... | 86 |
| ➤ Universo..... | 86 |
| ➤ Muestra..... | 86 |
| ➤ Criterios de inclusión..... | 86 |
| ➤ Criterios de exclusión..... | 86 |
| ➤ Criterios de eliminación..... | 86 |
| C. Variables | |
| ➤ Variable dependiente..... | 86 |
| ➤ Variables independientes..... | 87 |
| D. Técnicas..... | 87 |
| E. Diseño estadístico..... | 91 |

| |
|-----------------|
| RECURSOS |
|-----------------|

| | |
|-------------------|----|
| ➤ Humanos..... | 92 |
| ➤ Físicos..... | 92 |
| ➤ Materiales..... | 92 |

| | |
|------------------------|-----------|
| CRONOGRAMA..... | 93 |
|------------------------|-----------|

| | |
|--|-----------|
| PRESENTACIÓN DE RESULTADOS..... | 94 |
|--|-----------|

| | |
|-----------------------------|----|
| ➤ Análisis estadístico..... | 95 |
|-----------------------------|----|

| | |
|--|------------|
| CONCLUSIONES..... | 98 |
| RECOMENDACIONES..... | 100 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 101 |

INTRODUCCIÓN

Desde el nacimiento del individuo la cavidad bucal está expuesta a innumerables microorganismos presentes en el ambiente local y geográfico, estos se convierten en residentes de la cavidad bucal, y se ven favorecidos por las condiciones fisiológicas y nutricionales. La cavidad bucal puede actuar como reservorio de ciertos patógenos que pueden producir infecciones. Los enjuagues bucales tienen por finalidad eliminar los microorganismos de la cavidad oral como *Staphylococcus aureus* que frecuentemente se encuentra en la boca sin causar problemas, pero cuando hay inmunosupresión puede producir diferentes y graves trastornos orgánicos. Así, vemos la necesidad de desarrollar una sustancia con potente actividad antimicrobiana que pueden interferir con el desarrollo del Biofilm. La posibilidad que *Staphylococcus spp* puedan formar un Biofilm o biopelícula y vivir dentro de ciertos nichos les permite a estos microorganismos desarrollar ciertos mecanismos que aumentan su persistencia como ser la capacidad de eludir las defensas del huésped y la terapia antimicrobiana. Estos microorganismos pueden fácilmente convertirse en resistentes a los antibióticos y dar origen a una superinfección. El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo que se aísla con mayor frecuencia en las infecciones, presenta una patogenicidad que le permite causar desde infecciones banales hasta infecciones con compromiso vital (endocarditis, septicemias, meningitis, etc). Se describió por primera vez en 1961 en Inglaterra dos años después de la introducción de la metilina.

El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficacia la acción bactericida de algunos de estos agentes químicos. En este contexto, los agentes naturales, que son económicamente viables son alternativas eficaces para las enfermedades bucodentales.

El Propóleo es una muestra de ello y de gran eficacia en cuanto a principios activos transmitidos de las plantas al hombre, por lo que la acción y los campos de empleo terapéutico de esta sustancia resultan muy amplios por sus propiedades cicatrizantes, antimicrobianas y antiinflamatorias. Las abejas lo usan como material de construcción para proteger la colmena y como medio de conservación de carácter antimicrobiano, para proteger la colmena frente a bacterias y virus. Debido a sus propiedades terapéuticas, tienen un uso generalizado en medicina popular para tratar las enfermedades orales. Por lo tanto es necesario determinar su eficacia en el tratamiento de infecciones y analizar la actividad antimicrobiana

de los extractos de propóleo disponibles y corroborar su efectividad frente a cepas de *S. aureus*.

Los antibióticos han salvado al hombre de múltiples enfermedades, permitieron aumentar considerablemente el promedio de vida de la población y abrigar la esperanza del triunfo sobre ellas. Por todo ello es necesario actualizarse constantemente, investigar permanentemente y adecuar nuestro arsenal terapéutico revisando particularmente las indicaciones de los viejos e ir buscando nuevas alternativas antibióticas.

JUSTIFICACIÓN

La cavidad oral alberga innumerables microorganismos en un ecosistema de complejidad considerable. Estos microorganismos constituyen la flora oral del ser humano, la cual es altamente diversa. Estos microorganismos orales son parte importante en la salud y la enfermedad oral; por lo tanto es de vital importancia buscar nuevas sustancias para ayudar a controlar la proliferación de estos microorganismos⁵⁰.

Staphylococcus aureus es un patógeno responsable de una gran variedad de cuadros clínicos graves, como infecciones óseas, neumonía, septicemia y endocarditis. El manejo antimicrobiano es vital para los pacientes con infecciones estafilocócicas; aunque para el tratamiento puede usarse una amplia gama de agentes, la mayoría de los estafilococos son capaces de adquirir y usar uno o más de los mecanismos de resistencia ⁸⁵.

El Propóleo se conoce desde la más remota antigüedad y ha sido utilizado por diferentes culturas con diversas finalidades. Es por esa razón que en los últimos años se han realizado algunas investigaciones acerca de los productos provenientes de las abejas y sus potenciales beneficios para la salud oral ⁵⁰.

De ahí que existe una gama de estudios sobre Propóleo que comprueban su acción antibacteriana en el laboratorio contra bacterias Grampositivas: *S. aureus*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis* y *Candida albicans*. Por otro lado en estudios clínicos se ha comprobado su actividad antibacteriana semejante a la Clorhexidina. Actualmente la producción de Propóleo aún se realiza a pequeña escala, a través de su principal derivado: la tintura de Propóleo (solución alcohólica de concentración variada) ⁹⁵.

En general, las propiedades antimicrobianas del propóleo han sido investigadas en los últimos años, sin embargo, es difícil comparar los resultados de diferentes estudios, debido tanto a las diferentes composiciones del propolis como a los diferentes métodos utilizados para su estudio. En particular, la actividad biocida del propóleo estudiada frente a bacterias de interés en medicina, ha mostrado resultados alentadores in vitro e in vivo, ya que inhibió el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias, tanto Gram positivo como Gram negativo. Sin embargo, se ha señalado que el efecto del propolis en contra de bacterias Gram positivo y levaduras, es mayor que sobre bacterias Gram negativo³.

La actividad antibacteriana del Propóleo ha sido estudiada por ciertos autores, sin embargo, según Bankova y Elaine pocos estudios han investigado esta actividad contra patógenos orales. De lo antes mencionado, surgió el propósito del estudio, el cual fue demostrar la actividad antibacteriana *in vitro* del Extracto Etanólicos de Propóleo (EEP) en los cultivos de las cepas de S.aureus⁵⁰.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde el punto de vista microbiológico, la cavidad oral alberga organismos resistentes a los antimicrobianos, por lo tanto hemos llegado a la búsqueda de alternativas de origen natural para la terapéutica de ciertas patologías. Ha constituido el impulso de recurrir a los beneficios que nos aporta la naturaleza, por ello diversos autores se han enfocado en el uso del Propóleo debido a su composición y a sus principios activos. Se sugiere que el Propóleo tiene diversas propiedades terapéuticas antimicrobianas en el área odontológica. Por lo tanto trataremos de establecer ¿CUAL ES LA EFICACIA DEL PROPÓLEO IN VITRO SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, (ESTUDIO COMPARATIVO CON LA CLOREXIDINA)?

MARCO TEÓRICO

En el caso de la enorme importancia que adquiere la microbiología odontológica, hoy en día de todos es sabido que el sistema estomatológico representa el más relevante foco y cuna donde diferentes tipos de microorganismos se alojan, propagan y diseminan hacia diferentes órganos del sistema en general, teniendo predilección por órganos blanco. Pese a que la infección focal en boca causa severos trastornos en encías, dientes y sistemas adyacentes, es esencial señalar que la administración de diversas clases de fármacos que actúan en la muerte o detención de la reproducción de estas células patógenas está enfocada en primer lugar a:

- Eliminar el nicho de infección.
- Proteger la cavidad contra algún agente agresor.
- Salvaguardar la integridad de todo el sistema estomatognático.
- Prevenir la propagación de los microorganismos fuera del sistema oral hacia órganos y/o aparatos que puedan causar un mayor daño y, en consecuencia, poner incluso en peligro la vida del paciente¹.

Sin embargo, posterior y mayoritariamente mediante estudios analíticos y algunos de causa-efecto, merced a los avances en la identificación bacteriana y a su desarrollo tecnológico, ha reavivado constantemente el interés de la bacteremia de origen oral. Las bacterias crean sus propios nichos ecológicos usando la saliva y el fluido de la gingivitis crevicular como sus principales fuentes nutritivas en la superficie dental, surco gingival, dorso lingual y mucosa bucal y faríngea, desde donde eventualmente –vía bacteriemias– derivan en procesos sistémicos¹.

La principal razón para el uso de antisépticos sobre las heridas abiertas es la prevención y tratamiento de infecciones, y por consiguiente incrementar el proceso de curación de las heridas. Se ha establecido que las infecciones pueden retardar la curación, causar fallas o deterioro en la curación de heridas. Los microorganismos patógenos retardan la curación de las heridas, a través de diferentes mecanismos tales como persistencia de la producción de mediadores inflamatorios, desechos metabólicos y toxinas, y mantenimiento del estado de actividad de los neutrófilos, los cuales producen enzimas citolíticas y radicales libres de oxígeno. Esta respuesta inflamatoria prolongada contribuye a la injuria del huésped y retarda la curación. Por otra parte, la bacteria compite con las células del huésped por nutrientes y oxígeno necesarios para la curación de heridas. La infección de la herida también puede conducir a hipoxia del tejido,

hacer el tejido de granulación hemorrágico y frágil, reducir el número de fibroblastos y la producción de colágeno, con consiguiente daño a la reepitelización. Por lo tanto, el objetivo primario del cuidado de una herida es la creación de un medio ambiente óptimo, para el proceso de curación de una herida².

El hombre ha tratado de buscar alivio a sus padecimientos desde tiempos remotos, pero en aquel entonces lo hacía bajo unas bases totalmente empíricas. Cuando se conocieron los agentes infecciosos comenzó una lucha intensa para combatirlos tanto fuera como dentro del organismo. Desde siempre se ha librado una gran batalla por la supervivencia del hombre, pues a través de la historia miles de microorganismos de tamaño ni siquiera palpable con ayuda de diferentes lentes han atacado y matado al ser humano. Ante ello, han surgido los llamados antibióticos, primera línea de defensa farmacológica contra las diferentes infecciones orgánicas¹.

Los antibióticos son sustancias químicas producidas originalmente por microorganismos, que retardan o destruyen el crecimiento de los mismos. En la actualidad algunos son semisintéticos o sintéticos. Los antibióticos se pueden clasificar de acuerdo a:

- Su estructura química
- Su mecanismo de acción
- Su espectro
- Su actividad (bactericida o bacteriostática)¹

La terapéutica antimicrobiana moderna se inició cuando Paul Erlich trató a la sífilis con arsfenamina y sustancias químicas orgánicas. En 1936, se introdujeron las sulfonamidas para el tratamiento de infecciones. Hacia 1941, los antibióticos estuvieron disponibles clínicamente y en 1954 se introdujeron las tetraciclinas y con esto la pigmentación de los dientes por antibióticos resultó en un área nueva de interés dental¹.

En la actualidad se está investigando ampliamente el uso de nuevas alternativas a los antibióticos convencionales, las que incluyen sustancias químicas sintetizadas en laboratorios y productos que provienen de la naturaleza. Es así que etnofarmacólogos, botánicos, microbiólogos, y bioquímicos, están trabajando en la investigación de sustancias fitoquímicas para desarrollar tratamientos contra enfermedades infecciosas basados en productos naturales. El uso y búsqueda de suplementos dietarios derivados de sustancias naturales ha sido acelerado en los últimos años³.

PROPÓLEO



GENERALIDADES

Recientemente, se ha puesto especial atención a las indicaciones médicas de un producto natural, denominado Propólisis o propóleos, el que ha mostrado interesantes propiedades medicinales. Propólisis fue usado por la medicina antigua durante cientos de años³.

La apiterapia es un tratamiento terapéutico que utiliza productos derivados o extraídos de la colmena, entre los que se encuentran:

- Miel de abejas.
- Polen.
- Propóleos.
- Jalea real.
- Veneno de abejas (apitoxina).
- Cera.
- Combinación de los productos anteriores⁴.

El estudio del Propóleo se inició en la década del sesenta en Europa del este y hasta el momento se han detectado más de 250 elementos constitutivos y unos 50 principios biológicamente activos, que explican su gran cantidad de propiedades⁵.

El Propóleo es una sustancia resinosa que las abejas utilizan con varios fines dentro de la colmena. Parece ser que su procedencia es doble: una parte es recolectada en el exterior, en las plantas resinosas, y la otra es añadida por las propias abejas, que enriquecen el producto vegetal de partida con una cantidad notable de sustancias. Según algunos, los principios que enriquecen el Propóleo proceden de glándulas añejas al aparato digestivo, mientras que para otros serían subproductos de la digestión del polen. De modo que el propóleo tendría doble identidad vegetal y animal. El análisis químico de esta sustancia ha revelado la existencia, entre los numerosos componentes, de una porción elevada de flavonoides, a los que se debe su gran poder desinfectante. Entre los demás compuestos identificados hay algunos de naturaleza antibiótica, que confieren asombrosas propiedades al propóleo y apuntan hacia su aplicación en campos muy amplios, como la medicina ⁶.

Es interesante señalar que si bien la colmena es una caja de madera en cuyo interior habita una población de abejas a una temperatura de 34 a 35°C y con una humedad relativa del 65 al 70 %, o sea un medio ideal para el desarrollo de todo tipo de microorganismos, la colmena es una incubadora, no se ha observado prácticamente ningún desarrollo microbiano ni micótico. Se llega a una primera conclusión, que es la notable acción antibacteriana y antimicótica del propóleo. Muchos investigadores, sobre todo europeos, han hecho experimentos científicos de gran importancia que han demostrado el poder antibiótico y antimicótico. Tiene también una gran aplicación en odontología, por el notable efecto que ejerce en casos de inflamaciones de las encías y del paladar, especialmente si se aplica en solución alcohólica. Mejora rápidamente las gingivitis, tan comunes, y tiene además poder anestésico ⁷.

Los extractos de propóleos se han evaluado frente a bacterias Gram positivas y gramnegativas, teniendo sobre las bacterias grampositivas mayor efectividad ⁸.

Los disolventes y el método de extracción utilizado pueden modificar la actividad antimicrobiana del propólis. Los extractos Etanólicos al 60-80% inhiben el crecimiento microbiano, al 70-80% tienen una mayor actividad antioxidante y al 80% inactivan mayoritariamente a la hialuronidasa⁹.

La inclinación del hombre hacia el aprovechamiento de los productos naturales se ha convertido, en la actualidad, en una opción insuperable para satisfacer las carencias en nutrimentos, o para ser empleados en el tratamiento de diversas enfermedades¹⁰.

HISTORIA DE SU USO EN MEDICINA



La palabra propóleos se deriva de las raíces griegas Pro (en defensa de) y Polis (ciudad), denotando así el carácter defensivo que tiene esta sustancia. El Propóleo es una sustancia de origen natural elaborada por las abejas melíferas (*Apis Mellíferas*), que posee propiedades terapéuticas reconocidas, y que ha sido empleada extensamente desde tiempos antiguos¹¹.

La referencia más antigua data del antiguo Egipto, sus sacerdotes usaban el propóleo para embalsamar a los faraones, las célebres momias se conservan hasta nuestros días. En el primer libro médico, Libro de preparación de medicamentos para todas las partes del cuerpo humano, en el papiro de Ebers (escrito aproximadamente en el 1700 a.n.e.), se mencionan la cera y el Propóleo (cera negra) como medicamentos¹².

En Grecia y Roma se empleaba como antiséptico, cicatrizante, en el tratamiento de heridas y como desinfectante bucal. Las civilizaciones del Nuevo Mundo, también conocieron sus propiedades; se conoce que los Incas emplearon el propóleo como agente antipirético. Adicionalmente, la farmacopea Inglesa en el siglo XVII, incluyó el propóleos en el listado de medicamentos oficiales¹³.

No obstante, fue en la guerra de los Boers en Sudáfrica, a finales del siglo 19 cuando tuvo su mayor aplicación para el tratamiento de heridas y como cicatrizante¹⁴.

En las regiones tropicales de Suramérica, se ha incrementado considerablemente la producción del propóleo y los extractos alcohólicos han ganado popularidad como remedio casero. La química y actividad biológica de estos materiales ha despertado

el interés de la comunidad científica internacional. A través de la historia de la humanidad, se han reconocido las propiedades terapéuticas del propóleo. Estas aplicaciones y otras, se conservan en la actualidad en un gran número de países alrededor del mundo. En Europa, Japón y Estados Unidos, se utiliza para el tratamiento de diversas enfermedades como otitis crónica media y externa, faringitis, rinitis crónica, amigdalitis y asma bronquial entre otras, y su eficacia ha sido reconocida por diversos estudios farmacológicos¹¹.

Los médicos árabes lo empleaban como antiséptico y cicatrizante de heridas y como un desinfectante para la boca. Estas aplicaciones se perpetuaron en la Edad Media como un remedio tradicional que se emplea frecuentemente en Europa Oriental¹¹.

La referencia más remota sobre las abejas se encuentra en las pinturas rupestres de las cuevas de la Araña, en Valencia, España, en las que puede apreciarse un ejemplo de la añeja relación entre hombres y abejas. El documento más antiguo relacionado con la apicultura maya es el Códice Troano, en el cual se mencionan las fiestas religiosas de los apicultores; Celebraciones similares fueron descritos por el obispo Diego de Landa, quien comenta que durante los meses de Tzec (noviembre) y Mol (diciembre), los apicultores ofrecían banquetes con miel al dios Ah-Mozen Kob para asegurar un buen flujo de néctar¹⁵.

En el Tanaj (Biblia) se habla del propóleo con otro nombre (tzorí). Primero, cuando José es vendido a los ismaelitas que iban a Galaad (Guilad) a Egipto, se dice que la caravana de camellos llevaba perfumes, bálsamo (propóleo) y mirra (Génesis 37:25). Luego, cuando Jacob pide a sus hijos que le lleven al primer ministro de Egipto (José, alias Tzafnat Panéaj) como regalo lo mejor que hubiera en el país de Canaán, menciona en este orden “un poco de bálsamo (tzorí) y un poco de miel, perfumes, mirra, pistachos, y almendras”(Génesis 43:11). Los profetas hebreos lo mencionan como bálsamo de Galaad o Judea, o simplemente le llaman resina (tzori), para uso médico (Jeremias 8:22; 46:11 y 51:8, Ezequiel 27:17) y se hace referencia a que era un importante producto en el comercio de los antiguos reinos de Judá e Israel, al igual que el trigo, la miel y el aceite. Su uso fue intensificado durante la Segunda Guerra Mundial por la ex-URSS para el tratamiento de heridas¹².

La medicina natural y tradicional es un sistema emanado de los pueblos, y por consiguiente, bien aceptado como parte de sus culturas, que ha tenido un marcado auge en el ámbito mundial a partir de que la Organización Mundial para la Salud (OMS) llamó a introducir recursos medicinales tradicionales en los sistemas de salud cuando la convención que se celebró en Ginebra en 1977. En los últimos

años la medicina natural se ha ganado un lugar relevante en la terapéutica de múltiples afecciones, siendo los apifármacos como el propóleo ejemplos fehacientes de estos logros. Durante muchos años una gran cantidad de investigadores en todo el mundo se han dado a la tarea de estudiar el origen, composición y formas de usar el propóleo, que es una sustancia elaborada por las abejas de amplias propiedades terapéuticas. Se tiene referencias de que en la antigüedad fue utilizado por Galeno, Varizo y Avicena para curar heridas y hacer investigaciones con esta sustancia¹⁶.

Es larga la historia de la domesticación de las abejas por parte del hombre, quien se ha esmerado en la explotación de los productos fabricados por el insecto. Sin embargo, es sólo en los últimos 50 años que se han realizado la gran mayoría de los estudios tendientes a determinar la composición química, propiedades farmacológicas y en general, el uso farmacológico comercial de los preparados a base de propóleos³.

APICULTURA EN MÉXICO

La enorme capacidad colonizadora de estos insectos constituye una de las invasiones biológicas más rápidas y espectaculares de las que se tenga conocimiento. Sin embargo, lo que más preocupa e interesa a los productores (apicultores) en Latinoamérica y en México en particular, no es saber si estas abejas son biológicamente exitosas, sino si son mejores o no que las abejas de razas europeas para practicar una apicultura lucrativa con ellas. En México, esta actividad ha sido afectada en su productividad por la presencia de las abejas africanizadas¹⁷.

Apis Mellíferas, es originaria del viejo mundo, pero fue traída al continente americano por colonizadores europeos en el siglo XVII. Desde entonces y hasta 1956 se consideraba que sólo había abejas melíferas de razas europeas en los países americanos. Sin embargo, en ese año, investigadores brasileños introdujeron al estado de Sao Paulo en Brasil, reinas de Apis Mellífera scutellata, una raza de abejas melíferas del sur del continente africano. Los científicos sudamericanos intentaron establecer un programa de mejoramiento genético encaminado a desarrollar abejas más productivas y mejor adaptadas a las condiciones tropicales de Brasil, ya que pensaban que se podría producir más miel con abejas tropicales que lo que se estaba produciendo con abejas de clima templado, como las abejas de razas europeas. El programa dio lugar a que colonias de abejas africanas se establecieran de manera silvestre y se aparearan con abejas

europas locales, lo que originó las llamadas abejas africanizadas o abejas “neotropicales”, que se caracterizan por su elevado comportamiento defensivo y migratorio. Por ello, se adaptaron y distribuyeron ampliamente en la mayoría de los países americanos, incluido México, lo que las constituye en el organismo invasor más exitoso del último siglo. Se cree que los primeros enjambres de abejas africanizadas entraron a México por Chiapas a finales de 1986, 29 años después de su origen y migración desde Brasil. Al principio y por varios años estuvieron dispersándose en el sureste del país. En 1987 ya habían sido localizadas en los tres estados de la península de Yucatán, además de Oaxaca, Tabasco y el sur de Veracruz. Para 1989, llegaron a Guerrero, Michoacán y Tamaulipas, y en el altiplano, los primeros enjambres de abejas africanizadas se encontraron en 1990. Para 1993, ya se habían detectado en todo el territorio nacional, excepto en Baja California Sur, donde el desierto sirvió de barrera natural para retrasar su llegada, la cual ocurrió hasta 2005¹⁷.

Se estima que el número de estas especies de abejas sea alrededor de 300 distribuidas desde México hasta el norte de Argentina, con mayor abundancia en la región amazónica¹⁸.

La abeja africana *Apis Mellífera* llegó a México en 1986 y se dispersó por todo el país. Desde su llegada al país la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) implementó un programa de control que logró amortiguar su impacto en la apicultura (SAGARPA, 2001)¹⁹.

Los historiadores describen la actividad apícola y el intenso cuidado de las abejas que tenían los mayas durante la colonia; asimismo resulta evidente que la meliponicultura en esa época estaba más extendida que la apicultura en cualquier país de Europa. Según Villanueva y Collí (1996) la explotación apícola en relación con la abeja del género *Apis* se empezó a desarrollar a principios del siglo XX desplazando paulatinamente a la meliponicultura. A partir de entonces la apicultura cobró gran relevancia económica. La explotación de las abejas cuenta con una amplia tradición en México, sobre todo en el sureste del país, donde se practica antes de la llegada de los españoles a América¹⁹.

La apicultura nacional es una actividad productiva que beneficia al sector rural, especialmente al de tipo social que se encuentra ubicado en las áreas marginadas, donde la agricultura no se desarrolla en forma extensiva, que permite aprovechar los recursos néctar-poliníferos de las principales zonas apícolas del país y ha sido tradicionalmente una actividad complementaria de las actividades agropecuarias del campesino, particularmente en la región sureste donde se da de manera más acentuada. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la

Alimentación (FAO) ubica a México entre los principales países con mayor número de existencias de colmenas, ocupando el 12° lugar para el año 2008, al tener en sus inventarios ganaderos 1 800 000 colmenas, que representan una aportación mundial del 2.8%. China ocupa el primer lugar y junto con Turquía, la Federación Rusa, Irán y Etiopía aportan 38.4% del total de existencias de colmenas en el mundo. La posición que ocupa México a nivel mundial se debe principalmente a que cuenta con una biodiversidad y variedad de climas, casi todos los que existen en el planeta¹⁹.

México cuenta con cinco regiones apícolas, siendo la más importante la región sureste o península de Yucatán, por su volumen de producción y por concentrar al mayor número de los apicultores del país; los cuales se encuentran organizados dentro de su región, observando la regulación acordada para productos alimenticios. En los últimos años la apicultura se está insertando en la apertura de nuevos mercados, se aprovechan también los derivados de la miel como son el polen, la jalea real, propóleos, veneno, miel orgánica y la polinización en diferentes cultivos²⁰.



Fuente: <http://www.aserca.gob.mx/sicsa/claridades/revistas/199/ca199-3.pdf>, pág. 22, (03 de febrero de 2011).

A) Región Norte: comprendida por las entidades de Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León y parte del norte de Tamaulipas y del altiplano de San Luis Potosí.

B) Región de la Costa del Pacífico: formada por los estados de Sinaloa, Nayarit, poniente de Jalisco y Michoacán, Colima, parte de Guerrero, Oaxaca y Chiapas.

C) Región del Golfo: que comprende a Veracruz, parte de los estados de Tabasco, Tamaulipas y la Región Huasteca de San Luis Potosí, Hidalgo y Querétaro.

D) Región del Altiplano: integrado por las entidades de Tlaxcala, Puebla, México, Morelos, Distrito Federal, Guanajuato, Aguascalientes, la parte oriente de los estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas y parte poniente de Hidalgo y Querétaro, así como la región media de San Luis Potosí.

E) Región Sureste o Península de Yucatán: formada por Campeche, Yucatán y Quintana Roo y parte de los estados de Chiapas (Noreste) y Tabasco (Oriente). La miel que se cosecha es reconocida a nivel internacional, siendo la más importante por su volumen de producción y donde se encuentra la mayor parte de los apicultores del país²⁰.

En la actualidad la apicultura en México es considerada como una actividad de gran importancia económica, social y ecológica. La apicultura es una de las tres primeras fuentes captadoras de divisas del subsector ganadero en México. También beneficia directamente a aproximadamente 40 000 apicultores y sus familias, e indirectamente a alrededor de 400 000 personas que realizan actividades que tienen relación con la cadena productiva de la apicultura, como son los fabricantes de equipo apícola, así como los que envasan y comercializan miel y otros productos de las abejas. Aunado a ello, las abejas ayudan a mantener el equilibrio de muchos ecosistemas, gracias a la polinización que éstas realizan de muchas especies de plantas silvestres de las que otros organismos dependen. Además, el efecto de este servicio en los cultivos agrícolas mexicanos tiene un valor estimado en más de dos mil millones de dólares cada año. A pesar de su importancia, la apicultura mexicana está hoy en día afectada por una variedad de problemas, siendo las abejas africanizadas uno de los factores que más daña a esta actividad. El tener que trabajar con abejas africanizadas ha forzado una serie de cambios en el manejo de las colonias¹⁷.

La crianza de las abejas representa un soporte económico importante para la agricultura. El país reúne las condiciones (vegetación, temperatura y precipitación pluvial, entre otras). Además de la producción de miel, las abejas generan jalea real, polen, propóleo y veneno, productos que permiten incrementar los recursos económicos de los apicultores¹⁵.

Sin embargo, y a pesar de que en México el propóleo es empleado desde hace muchos años como parte de la medicina tradicional y de que existe una gran

variedad de productos comerciales, son muy pocos los estudios que se han realizado respecto a su actividad biológica²¹.

ORIGEN BOTÁNICO

En el caso del Propóleo, ha sido siempre una interrogante para la ciencia por sus numerosas propiedades terapéuticas atribuidas. Se conoce que la composición química es responsable de sus acciones farmacológicas, varía de acuerdo con la región geográfica, climática y sobre todo, según la fuente vegetal de que provenga, con incidencias notables en el índice de oxidación directamente relacionado con el poder antioxidante, de gran importancia para las acciones terapéuticas asignadas²².

El Propóleo es un producto apícola de aspecto resinoso y sabor amargo, con una coloración que varía del amarillo-verdoso al pardo-rojizo. Consiste básicamente en una mezcla de cera y exudados resinosos de diferentes plantas que la abeja obtiene para utilizarlo como material auxiliar en la protección de la colmena. Los estudios de propóleos de diversas latitudes, han demostrado que tanto su composición como su actividad biológica, se encuentran directamente relacionadas con las especies vegetales, fuentes de resinas y bálsamos, que colectan las abejas propolizadoras²³.

Marcucci, señala que los compuestos en el propóleo sin procesamiento se originan de tres fuentes: exudado de plantas colectados por las abejas, productos metabólicos secretados por el insecto y materiales introducidos durante la elaboración del producto. El estándar de calidad vigente para propólis es la identificación botánica y las pruebas cromatográficas que corroboran la procedencia del propóleo. Una técnica muy útil e informativa para determinar el origen botánico del propóleo, consiste en el análisis microscópico de los granos de polen y de fragmentos de hojas u otros restos dejados por las abejas durante la recolección del exudado de planta, los cuales son frecuentes contaminantes³.

Así, algunos estudios han demostrado que los propóleos de regiones templadas (Europa, Norte América, Oeste de Asia) poseen como principales constituyentes compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos cinámicos, y derivados), los cuales son colectados a partir de los exudados de diferentes brotes de álamo (*Populus spp.*), abedul (*Betula alba*), castaño de Indias (*Aesculus hippocastanum*) y otros árboles. No obstante, en las regiones tropicales dónde está ausente esta vegetación, las abejas visitan otras plantas como fuente para la producción de propóleos²⁴.

Una teoría dice que el propóleo es recolectado por las abejas de más de 15 días que, con sus mandíbulas, toman las partículas resinosas que hay sobre las yemas de diferentes plantas (álamo, sauce, abedul, aliso, castaño silvestre, pino, enebro y algunas plantas herbáceas). Después de sujetar la partícula resinosa, la abeja mueve hacia atrás la cabeza hasta que logra desprenderla, almacenándola con sus patas en los cestitos del polen. Las enzimas de su boca participan también en la operación para evitar su adherencia. Cuando llega a la colmena con la carga, otras obreras le ayudan a descargar el propóleo, misión que llega a durar varias horas. Si el material no es bastante maleable, la abeja recolectora se instala en la piquera, donde espera a que el calor del sol ablande la carga y pueda desprenderse mejor de ella. Los vuelos que realiza la abeja desde la colmena a la planta portadora de resina duran de 15 a 20 minutos, y la época de máxima recolección tiene lugar a final del verano¹².

Cuando la abeja entra en la colmena con su carga de propóleo, se dirige al lugar donde éste es necesario y permanece quieta. Mientras, otra obrera se le acerca, toma algunas partículas de la sustancia y las coloca en el lugar deseado, las comprime y les agrega cera. Este proceso de descarga del propóleo puede durar entre una y varias horas, lo cual depende de las necesidades de propóleo en la colmena. Las abejas recolectoras del propóleo (llamadas propolizadoras) nunca depositan sus propias cargas. Cuando quedan libres de sus cargas regresan inmediatamente en busca de más propóleo. En el otoño intensifican la recogida de propóleo¹².

La cantidad de propóleo recogido y fabricado por las abejas varía según la raza y también según la flora. Así, las abejas caucásicas producen mucho más propóleo que las otras razas, y antes del invierno taponan con propóleo la entrada de la colmena, no dejando más que un agujerito para su paso. En una misma raza la cantidad recolectada varía con el tipo de flora. Las colmenas obtienen más propóleo en los bosques que en las regiones de cultivos en que la flora es en su mayoría anual. Varios autores han observado que en la colmena es un número muy pequeño de abejas el que se entrega a la recolección de resina y a la fabricación de propóleo. Muchos apicultores creen, que *Apis Mellífera* recoge solamente las resinas de los árboles que se encuentran en el entorno de la colmena, olvidando la amplitud de su capacidad de vuelo, que les permite efectuar la selección de aquellas resinas que necesite específicamente. Cada región presenta condiciones de flora diversa, dependiente de fenómenos locales, influenciados por la temperatura, las precipitaciones y la evapotranspiración¹².

MÉTODO DE RECOLECCIÓN

Además de ser el material de construcción de la colmena, el propóleo es empleado por las abejas como “arma química” contra los microorganismos patógenos; la presencia de esta sustancia al interior de la colmena proporciona un ambiente inadecuado para el crecimiento de bacterias y otros microorganismos. Con respecto a este último factor, aunque existen varios métodos de recolección de este material, se han utilizado principalmente el método tradicional de raspado y el empleo de mallas plásticas²⁵.

Generalmente, del primero se obtienen propóleos con gran cantidad de impurezas y contaminantes, como metales pesados (plomo, hierro y cobre) que pueden provenir de la atmósfera o ser incorporados en la cosecha y la extracción. Por su parte los propóleos en bruto obtenido de las mallas, normalmente presentan mejor calidad, con pocas impurezas y libres de contaminantes. Como resultado de la diversidad en la composición química de este producto apícola y el empleo generalizado en la industria, se ha hecho necesario el control de calidad y la normalización del propóleo crudo y sus productos. Con este fin, se han establecido metodologías de trabajo en diferentes normas internacionales²⁵.

Éste puede realizarse por:

- Raspado
- Utilización de trampas para la recolección de Propóleos

Raspado:

Consiste en raspar el propóleo que se encuentra en el interior de las colmenas. Ésta tarea está dentro de las labores normales de los apicultores en la revisión de las colmenas²⁶.

Utilización de Rejillas:

1. Tome una malla o rejilla plástica con agujeros de aproximadamente 1,5-3,0 mm.
2. Corte la rejilla del tamaño de la tapa de la colmena.
3. Levante la tapa de la colmena y coloque la rejilla sobre los cuadros de la última alza.
4. Colocar la tapa y esperar que las abejas propolicen.
5. Congelar la rejilla para desprender con facilidad el propóleo²⁶.

Durante la época en que la apicultura era practicada con abejas de razas europeas, los apicultores mexicanos solían manejar sus abejas ataviados con ropa ligera como pantalones y camisetas de algodón, e inclusive usando sandalias y un velo simple. Con abejas africanizadas usar esa vestimenta podría ser fatal. Por ello los apicultores han tenido que invertir en equipo de mayor protección, como overoles gruesos, botas, guantes y velos de armazón cuadrada (que no se pegan a la cara del apicultor). Además, los ahumadores se han hecho más grandes para proveer una mayor cantidad de humo durante más tiempo, con el fin de tranquilizar a las abejas¹⁷.

NORMAS DE CALIDAD NACIONAL E INTERNACIONAL

En lo referente a organización de productores apícolas, la Unión Nacional de Apicultores (UNAPI) en 2005, se modificó para constituir la Organización Nacional de Apicultores (ONA) como organismo cúpula de este sector productivo. Adicionalmente, otras figuras asociativas se han fortalecido en los últimos años entre ellas las Cooperativas y Sociedades de Solidaridad Social (SSS) y Sociedades de Producción Rural (SPR) sólo por citar algunas. Como apoyo a la organización de productores, la SAGARPA ha sido parte fundamental, coordinando con los integrantes de la cadena productiva apícola, la constitución del Comité Nacional Sistema Producto Apícola y sus Eslabones; así como los Comités Regionales y Estatales, los cuales, de acuerdo a la Ley de Desarrollo Rural Sustentable, son los órganos de consulta para la planeación de políticas y estrategias para el desarrollo de la apicultura. Con objeto de mantener vigentes los instrumentos normativos que regulan la sanidad, producción y comercialización de los productos de las abejas, o bien su complementación, en los últimos años se han elaborado y modificado normas oficiales, normas de calidad y documentos de referencia²⁷.

Los estándares oficiales de calidad, utilizados para su caracterización y evaluación de su calidad, existen para el propóleo en varios países del este europeo y en otros lugares del mundo, la mayoría de estándares se refieren al producto en bruto y a veces, a sus extractos. En algunos países existen normas que permiten caracterizar y evaluar la calidad del propóleos:

- ✓ Norma Rusa RST-RSFSR-317-77
- ✓ Norma Húngara MSZ 08/0184-79
- ✓ Norma Ramal Búlgara ON 2572483-84
- ✓ Norma Ramal Cubana NRAG 1135-94

- ✓ Reglamentación del Ministerio de Agricultura de Brasil : Reglamento técnico para fijar la identidad y calidad de Propóleos.1999
- ✓ Norma Argentina IRAM-INTA-15935-1:2008²⁸.

La amplia diversidad en la composición química de este producto apícola y su empleo generalizado en la industria, han traído como consecuencia la necesidad de control de su calidad y su normalización en general. En Colombia, a pesar de que la información referente a su composición química y su actividad biológica es escasa, este material es comercializado ampliamente en tiendas naturistas, como jarabe, tintura y ungüento. Un conocimiento más profundo de sus propiedades permitiría la elaboración de normas de calidad adecuadas, que sirvan como elementos útiles para su control y verificación por parte de las entidades farmacológicas y bromatológicas correspondientes. En este sentido, la concepción más actualizada de su control de calidad consiste en la determinación de sus propiedades físico-químicas y la estimación de su actividad biológica²⁹.

En estas normas se ha dado un énfasis particular a los compuestos fenólicos y los flavonoides, a los cuales se les atribuye principalmente la actividad biológica del propóleo. Así, por ejemplo, el Código Alimentario Argentino artículo 1308 bis, establece los parámetros de calidad para el propóleo en bruto, y fija el contenido mínimo de resinas solubles en etanol (30%), fenoles (5%) y flavonoides totales (0.5%) y el contenido máximo de ceras (40%) e impurezas mecánicas (25%), que debe contener¹³.

La producción de propóleos en México es muy limitada y de no muy buena calidad, debido a que la mayor parte de su producción está basada en el raspado interno que realiza el productor durante la revisión de sus colmenas, sin embargo, por ser un producto que da alternativas económicas al productor, mediante la capacitación y asistencia técnica se puede fomentar la producción utilizando la tecnología, a través de trampas que permitan coleccionar un propóleo de mejor calidad en el mediano plazo para cubrir la demanda nacional, e incursionar en el largo plazo en mercados internacionales como lo es Japón, que adquiere alrededor del 85 por ciento de la producción mundial de propóleos²⁷.

En lo que corresponde a sanidad apícola, se han hecho muestreos para detectar enfermedades de las abejas en algunos estados de la República Mexicana. Asimismo, ante la reciente identificación en México (Coahuila) del Pequeño Escarabajo de la colmena *Aethina tumida* M., diseminado prácticamente en toda la Unión Americana, sitio en el cual se originan los casos detectados en México, se mantiene una constante vigilancia para detectar oportunamente su presencia, así como la de otras enfermedades tanto enzoóticas como exóticas, con objeto de

aplicar oportunamente medidas de control para evitar la diseminación, así como las pérdidas económicas por causa de las enfermedades que afectan a las abejas. A este respecto, se cuenta con la Campaña Nacional contra la Varroasis (El ácaro de las abejas, varroa destructor, se detectó por primera vez en México en el año de 1992 en el puerto de Veracruz desde entonces se ha extendido en el país y ha impactado a la apicultura de manera importante, por lo que se creó la Campaña Nacional Contra la Varroasis de las Abejas (SAGARPA, 2005) que tiene como finalidad establecer medidas de control de este ácaro, de acuerdo con las características de la apicultura de cada estado de la República Mexicana, INEGI) de las Abejas y año con año se realizan muestreos en todos los estados del país a fin de monitorear los porcentajes de infestación presentes en las colmenas, lo cual ha permitido tomar las medidas sanitarias necesarias para mantener la producción y productividad de las colmenas de nuestro país²⁷.

PROPIEDADES FÍSICAS

El Propóleo es un producto con una variable apariencia física, el cual es recogido y transformado por las abejas mellíferas, desde la vegetación que visitan. Puede ser ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos³⁰.

En general, el propóleo presenta una consistencia variable, dependiendo de su origen y condiciones térmicas; se presenta como un material duro a los 15°C y se torna más maleable a medida que aumenta la temperatura. Su punto de fusión varía entre 60 a 70°C, llegando en algunos casos hasta 100°C³¹.

El propóleo no es una sustancia definida, razón por la cual no tiene fórmula química, es una resina constituida por varios elementos de distinta índole. Es insoluble en agua, es soluble en éter, en alcohol, en caliente, en amoníaco, en esencia de trementina y en potasa³².

El extracto de propóleo es un agente natural con múltiples propiedades. Es muy bien tolerado y su uso continuado no produce ningún efecto secundario relevante. En cuanto a su perfil toxicológico, se ha demostrado que el propolis administrado a animales de experimentación en altas dosis durante varios meses, no produce ningún efecto tóxico ni desorden patológico de importancia. Además se ha demostrado que no desarrolla acción oncogénica sobre éstos. El Propólis se representa como una sustancia de consistencia variable en función de la temperatura. No contiene ni lípidos, ni prótidos, ni sustancias hormonales, solo se ha encontrado de la vitamina B3 o el ácido pantoténico. No obstante, es muy rico

en minerales y oligoelementos, entre las cuales destacan: el aluminio, el calcio, el hierro, el cromo, el cobalto o el cobre. Se conserva muy fácilmente en buenas condiciones, sin sufrir ninguna modificación en su composición química ni en su actividad biológica. Es preferible su conservación en recipientes opacos, bien cerrados y lejos de fuentes de calor³³.

Las diferencias en la composición 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 obtención; sin embargo, presenta cualitativamente numerosas sustancias que se encuentran en el propóleo de modo constante y relativamente estable³⁴.

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Un 100% presentó estructura homogénea, el 45% presentó un aspecto de trozos irregulares con brillo, el 30 % con poco brillo, y el resto trozos irregulares opacos. Los ensayos de consistencia mostraron que el 45% de las muestras eran poco blandas, el 40% duras y solamente un 15% blandas. Con respecto al color, el 65% de las muestras presentaron color marrón oscuro, un 20% marrón claro con tintes amarillos, un 10% con tintes castaños. El olor del 75% de las mismas fue resinoso, y el sabor de la totalidad de los propóleos fue picante³.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química del propóleo es sumamente compleja, se han identificado en él más de 160 compuestos, 50% de ellos fenólicos a los que se les atribuye acción farmacológica³⁴.

Las investigaciones realizadas en las últimas décadas, orientadas a determinar la composición química del propóleo a nivel mundial, han permitido establecer que los flavonoides no son los marcadores químicos principales, pues existen otros componentes novedosos como los triterpenos²³.

Por lo cual definir la composición química de éstos materiales es un trabajo arduo, especialmente en muestras de origen tropical. Los análisis de composición química de este producto apícola han permitido la identificación de por lo menos 300 compuestos, entre los que se incluyen flavonoides, ácidos aromáticos y sus ésteres, aldehídos y cetonas, ácidos grasos y sus ésteres, terpenos, esteroides, aminoácidos, polisacáridos, hidrocarburos, alcoholes, y otros compuestos

presentes en trazas. La diversidad en la composición química de este producto apícola y su empleo en la industria médico-farmacéutica, alimenticia, cosmética, entre otras, ha traído como consecuencia la necesidad de su control de calidad y normalización. Para la determinación de flavonoides y fenoles totales, son ampliamente usados los métodos espectrofotométricos, por ser rápidos y de bajo costo. Popova et al., validaron algunos de estos procedimientos con el fin de cuantificar los tres principales grupos bioactivos que han sido reportados en propóleos (flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles, y fenoles totales). Los autores afirman que la cuantificación de grupos de compuestos activos con estructuras químicas semejantes se correlaciona mejor con su actividad biológica y proporciona mejor información que la cuantificación de los componentes individuales¹³.

➤ FENOLES

El grupo más importante de compuestos encontrado en propóleos son los denominados fenoles, los cuales, constituyen más del 50% del peso total. Las propiedades médicas del propolis son atribuidas principalmente a la presencia de estas sustancias. Más aún, la literatura apunta que algunas de las actividades pueden ser fuertemente relacionadas a los flavonoides, el principal compuesto fenólico del propolis³.

Los compuestos fenólicos o polifenoles han sido reconocidos por su amplio espectro de actividades biológicas, tales como anticancerígenos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, analgésicos y antioxidantes. Se ha establecido que la mayoría de los compuestos bioactivos encontrados en propóleos son compuestos fenólicos, sin embargo, la concentración de éstos puede variar sustancialmente de acuerdo al origen de las muestras y así mismo pueden variar las propiedades biológicas que se les atribuyen. Por esta razón, es de gran importancia realizar ensayos que permitan su detección y cuantificación, con el objeto de definir parámetros de calidad para este producto apícola. En Argentina, el Código Alimentario de éste país establece que la cantidad de compuestos fenólicos que debe tener una muestra de propóleo bruto para su consumo y distribución no debe ser menor al 5%, y en un extracto blando no debe ser inferior al 0.25%. Diversos estudios han demostrado una correlación directa entre el contenido de fenoles totales y actividades biológicas presentes en los propóleos, como actividades antioxidante y antimicrobial¹³.

Los flavonoides son sustancias fenólicas de interés científico y terapéutico. Se les han atribuido diversas propiedades farmacéuticas desde tiempos antiguos y se ha establecido que son el principal componente funcional de formulaciones de plantas

e insectos de uso médico. Algunas de las actividades biológicas que se le atribuyen al propóleo se deben al alto contenido de flavonoides que generalmente se presenta en las muestras. Los principales compuestos activos de los flavonoides son: flavonas, flavonoles, flavononas y flavonoles. Además, contienen pequeñas cantidades de terpenos, taninos, restos de la secreción de las glándulas salivares de las abejas y algunos contaminantes³⁵.

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en las plantas superiores y especialmente en aquellas con sistema vascular; se encuentra en las partes aéreas de las plantas, en los capullos y hojas jóvenes, además que son los compuestos responsables de la coloración de numerosas flores y de ciertas frutas ³⁶.

Son pigmentos y se encuentran en las partes verdes y coloreadas, pero también en la savia y resinas, lo cual “constituye un mecanismo de defensa vegetal contra parásitos, bacterias, virus y hongos” .La coloración del propóleo depende en gran parte de la cantidad de flavonoides del mismo, aunque la cera influye y disminuye la calidad de este producto ³⁷.

El uso de los flavonoides contra infecciones bacterianas o fúngicas tiene como objetivos matar las células de los microorganismos o dificultar los efectos de difusión de las toxinas bacterianas. Chaillou et al. estudiaron propóleos argentinos y encontraron que el 50% de las muestras inhibieron en más de 12 mm cepas de *S. aureus*, concluyendo que el diámetro del halo de inhibición depende del contenido de flavonoides de los Extractos Etanólicos de Propóleo (EEP) utilizados¹⁸.

El método para evaluar el contenido de flavonoides totales se basa en el uso de reactivos de desplazamiento en el ultravioleta visible. Algunos ejemplos en los cuales se sustenta la importancia de la realización de este tipo de determinaciones se detalla a continuación:

- Banskota et al., (2002) estableció que la actividad antiproliferativa de células cancerosas que presentó el propóleo analizado, se debió a la presencia de derivados del ácido cinámico y flavonoides¹³.
- Isla et al., (2005) determinaron la composición química y la actividad contra *Staphylococcus aureus* de diferentes muestras de propóleos, estableciendo que los extractos con mayor contenido de flavonoides, especialmente pinocembrina muestran una alta actividad contra la bacteria estudiada¹³.

- Kumazawa et al., (2004), evaluaron la actividad antioxidante in vitro de propóleos provenientes de varias regiones del mundo, utilizando técnicas como la oxidación del ácido linoléico y la capacidad de atrapamiento del radical DPPH. Los autores encontraron que los propóleos de Argentina, Australia, China, Hungría y Nueva Zelanda, presentaron actividad antioxidante fuerte como consecuencia del contenido total de polifenoles y flavonoides presentes en las muestras¹³.

Los flavonoides (quercetina, apigenina, galangina, etc.) y los ácidos fenólicos (cafeico, isoferúlico, cinámico y benzoico), además de ser tóxicos para las levaduras, inhiben la actividad enzimática de la hialuronidasa y el ácido cafeico y la actividad de la dihidrofolato reductasa, podrían explicar la similitud entre algunos de sus efectos y los de algunos antiinflamatorios no esteroideos³⁹. Los componentes cinámicos y flavónicos del própolis, que alteran las membranas e inhiben la motilidad bacteriana, probablemente contribuyan a esta acción y al sinergismo observado con algunos antibióticos. Ensayos in vitro han demostrado que los extractos de própolis son más eficaces frente a los cocos gram (+) (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -haemolyticus)⁹.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Su estudio científico se inició en la década de los 40 y se ha ido intensificando en la medida en que ha podido descifrarse su compleja composición y se han descubierto nuevos aspectos de su actividad biológica, que permiten su uso en diversas áreas como la Medicina, la Biología y la industria. Múltiples reportes indican que el propóleo es relativamente no tóxico y tiene diversos efectos sobre bacterias, hongos, parásitos y virus¹⁰.

Las investigaciones recientes en el campo de la química y la farmacología del propóleo han permitido su empleo más amplio y eficaz en el mejoramiento de la salud humana, debido a su actividad biológica y su capacidad de ser un “producto natural capaz de comportarse como un producto vivo” con posibilidades de establecer múltiples combinaciones sinérgicas, condicionado por su excepcional riqueza en principios activos naturales, que superan los 150 constituyentes³⁰.

Las propiedades antimicrobianas del propóleo pueden ser atribuidas, principalmente, a los flavonoides, como la pinocembrina, galangina, pinobanskina y al éter bencil del éster fenetil de ácido caféico (CAPE), el cual es un componente activo del propóleo que ejerce gran variedad de cambios biológicos en diversos sistemas, como las respuestas inmunomoduladoras, antiinflamatorias y

antimitogénicas. El uso de los flavonoides contra infecciones bacterianas o fúngicas tiene como objetivos matar las células de los microorganismos o dificultar los efectos de difusión de las toxinas bacterianas¹⁸.

La flavona pinocembrina es activa contra gran variedad de bacterias y hongos. La asociación con la galangina y los ácidos cafeico y ferúlico es probablemente responsable de la mayoría de sus propiedades biológicas. El quercitín es una flavona con actividad antiviral que fortalece los capilares. Otros flavones y flavonones del propóleo tienen actividad antiinflamatoria, espasmolítica, efecto como anestésico tópico, cicatrizante de úlceras gástricas, y como es esencial para activar la vitamina C, se le relaciona con la prevención del escorbuto. Asimismo, el propóleo potencializa los antibióticos, inhibe la aglutinación eritrocítica, es útil en quemaduras, heridas, afecciones de las encías, gripe y hemorroides¹⁵.

Por sus propiedades benéficas para la salud humana, el propóleo ha sido utilizado por la medicina tradicional desde hace siglos, sin embargo, estas características han sido explicadas científicamente sólo en los últimos años. Esta sustancia resinosa, ha demostrado diversas propiedades, tales como: antiinflamatorio, antitumoral, antioxidante y antimicrobiano; no obstante, es muy importante tener presente que la composición de los propóleos y su actividad biológica, muestran una importante variabilidad cualitativa y cuantitativa y que sus características dependen del origen botánico y geográfico³⁸.

Los bioflavonoides son moléculas, más conocidas como vitamina P, muy presente en las frutas y verduras, que refuerzan los capilares sanguíneos y antituberculoso, antiviral, citostático, desodorante, epitelizante, estimulante de la inmunogénesis, fitoinhibidor, hemostático, hipotensor y termoestabilizador. En resumen, el propóleo es un excelente biorregulador. El propóleo en estado bruto contiene 500 veces más bioflavonoides que las frutas, de aquí su acción antibiótica que rechaza cualquier intento de ataque de virus y bacterias⁵.

Se ha propuesto que su actividad biológica depende de muchos factores y, por lo tanto, ha sido asociada a la región geográfica, la temporada de recolección, el tipo de vegetación, la especie de abeja y el solvente usado para su extracción. Hasta ahora no se ha demostrado que exista una sustancia individual o una clase particular de sustancias responsables de la actividad biológica y se considera que tiene una actividad sinérgica entre diferentes compuestos²¹.

La bibliografía reporta un gran número de trabajos relacionados con la actividad biológica y farmacológica del propóleo; sin embargo, la cantidad de estudios que reportan compuestos puros con actividad específica obtenidos de este material es

muy reducida, y las aplicaciones son muy diversas y heterogéneas. Su modo de empleo o uso depende del tipo de disolvente empleado para su extracción, por esta razón los más recomendados son el etanol y propilenglicol¹¹.

ACCIÓN ANTIMICROBIANA

Se demostró que el mecanismo de acción del propóleo como agente antibacteriano es realizado por los flavonoides y los compuestos cinámicos que son evidentes en esta sustancia, los cuales actúan como alteradores del potencial de membrana de las bacterias, haciendo que este se disipe y que la bacteria pierda la capacidad de sintetizar ATP, inhibiendo su motilidad e impidiendo el desarrollo de la infección y la patogénesis del microorganismo. Según, los flavonoides del propóleo hacen interferencia en el metabolismo bacteriano ligando metaloenzimas, como las fosfatasas e inhibiendo algunas de las enzimas que pueden hidrolizar la red de proteoglicanos³⁹.

Todos los agentes infecciosos incluyendo los virus, pueden ser eliminados a través del efecto inmunoestimulante de los flavonoides. Además de destruir los agentes infecciosos, los flavonoides, también fortalecen el tejido conectivo endeble, para impedir estéricamente la difusión de los agentes infecciosos, como ocurre cuando se inhibe la hialuronidasa bacteriana. Esta condición, favorece la inmovilización y encapsulación de los agentes infecciosos, los cuales serán descompuestos gradualmente por los procesos de restauración y limpieza de los tejidos³⁹.

El propóleo, a través de los flavonoides, tiene actividad contra: *Bacillus subtilis*, *Bacillus de Koch*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosos*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso, contra *Streptococcus pyogenes*, que es resistente a los antibióticos. Los flavonoides del propóleo, además de destruir las células bacterianas y micóticas, contrarrestan el efecto de la propagación de las toxinas bacterianas³⁹.

De acuerdo a Amoros et al y Bonhevi et al, la actividad en contra de los microorganismos está más relacionada al efecto sinérgico de los flavonoides (y otros fenoles), que a la acción de cada uno de ellos por separado. Estos descubrimientos están de acuerdo con lo que estudió Takaisikikuni y Schilcher, quienes observaron que la acción antibacteriana utilizaba varios mecanismos, tales como la formación de complejos estreptocócicos pseudomulticelulares, desorganización del citoplasma, de la membrana plasmática, y de la pared celular, bacteriólisis parcial, e inhibición de la síntesis de proteínas. Además se observó una

inhibición de la división celular en presencia de propólis, y este hecho sugirió que el propóleo podría actuar inhibiendo la replicación del DNA a través de la RNA polimerasa e, indirectamente, afectando la división celular³.

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 ³⁴.

Como puede observarse el propóleo dada su acción antimicrobiana es una sustancia de grandes potencialidades para el tratamiento de afecciones provocadas por diferentes microorganismos y para otras aplicaciones ⁴⁰.

Además, en la actualidad se reconoce la importancia de los compuestos de origen natural porque poseen innumerables características, son de bajo costo y sus principios activos están biológicamente equilibrados evitando que se acumulen en el organismo, no presentando efectos secundarios o colaterales ⁴¹.

La situación se torna más crítica en el caso de Staphylococcus aureus, que en recientes investigaciones demostró resistencia a más de 200 antibióticos. Staphylococcus aureus produce una enzima que hace inactivos a la mayoría de los tratamientos basados en penicilina, dando como resultado la ineficacia de estos antibióticos. Este trabajo pretende elaborar extractos etanólicos de propóleo para determinar su acción antimicrobiana en el control de Staphylococcus aureus in vitro ¹².

Según la Secretaria de Salud, Tinturas o Extractos Etanólicos, se elaboran a partir de una gran variedad de materias primas que son total o parcialmente solubles en alcohol. Dichas materias incluyen a todas las plantas o partes de las plantas, animales o secreciones de organismos animales, comprendiendo también sustancias minerales que se disuelven más fácilmente en alcohol que en agua. Para su obtención se requiere la extracción de los principios solubles de las materias primas, para lo cual se tratan con un menstruo o vehículo que tiene la propiedad de disolverlos. Esta extracción se lleva a cabo por maceración o lixiviación de la materia prima fresca o seca, triturada y tratada con alcohol de la graduación adecuada o con algunas mezclas de vehículos debidamente escogidos y en las proporciones señaladas en la monografía correspondiente⁴².

La preparación de la tintura madre extracto etanólico, es una de las técnicas básicas de la homeopatía. Normalmente se prepara la tintura madre en una solución de alcohol a entre 45° y 60° grados. El alcohol debe ser puro –no sirve desnaturalizado; en caso de emergencia se puede utilizar mezcal o tequila. En el

alcohol se colocan las llamadas cepas, sustancias de origen vegetal, animal o mineral que dan origen a los medicamentos homeopáticos. Las cepas de origen vegetal pueden utilizar la planta entera, parte de la planta o producto obtenido de la planta. Pueden prepararse por trituración, maceración, percolación o extracción en alcohol. Las cepas de origen animal pueden utilizar el animal entero, parte del animal muerto fresco o descompuesto, secreción de algunas glándulas, excreción de algún exudado o bioterápico e isoterápico. En caso de ser solubles en agua se preparan directamente en solución de agua y alcohol 1/100. Los insolubles se trituran hasta la potencia tercera centesimal y después se potencializa por medio de la solución hidroalcohólica. Para la adecuada preparación de los medicamentos se requiere farmacopea homeopática (documento instituido por la Ley General de Salud y expedido por la SSA, que comprende los nombres, procedimientos, métodos y especificaciones para la identificación, preparación o análisis de sustancias y productos homeopáticos) donde se describe cómo se prepara cada uno de los medicamentos en forma específica. En caso de preparar nosotros mismos la tintura madre es importante anotar detalladamente la manera de preparación para poder repetirla en el futuro y etiquetar de inmediato los frascos, ya que es fácil confundirse. Una vez colocada la planta en la solución hidroalcohólica se guarda en frasco de vidrio ámbar en las siguientes condiciones:

- a) Fuera del sol.
- b) En un lugar fresco.
- c) Fuera del alcance de olores fuertes (porejemplo naftalina o solventes).
- d)Fuera del alcance de fuentes de energía electromagnética u otra (transformadores, microondas, televisores, radios, etcétera.)⁴³.

La utilización de productos naturales con fines curativos es importante, se ha transmitido de generación en generación, y frecuentemente se usan extractos de plantas o de árboles. Algunos autores indican una actividad antibacterial del propóleo contra *Enterococcus* sp, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*. Los propóleos de las abejas africanizadas presentan mayores halos de inhibición contra el *S. aureus* que los de abejas europeas; en propóleos argentinos, 50 % de las muestras inhibieron en más de 12 mm cepas de *S. aureus* y el diámetro del halo de inhibición dependió del contenido de flavonoides en los Extractos Etanólicos del Propóleo (EEP). No obstante, Manrique y Santana (2004) reportan halos de inhibición de 11 a 25 mm contra las bacterias *S. aureus* y *Micrococcus luteus*, aunque los EEP mostraron 0.19 % a 0.32 % de flavonoides y elevada actividad antioxidante. Vargas et al. (2004) reportan que los Extractos Etanólicos del

Propóleo (EEP) mostraron actividad antimicrobiana contra una serie de bacterias e inhibieron 45 aislados de *Staphylococcus* sp. Según Orsi et al. (2005), los Extractos Etanólicos del propóleo (EEP) tienen efecto bactericida contra *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium*, y el poder bactericida del propóleo contra bacterias Gram negativas varía según la región geográfica de producción, ya que el ambiente ejerce influencia en el contenido de compuestos fenólicos, a los cuales se le atribuyen las propiedades antimicrobianas del propóleo. En la Huasteca Potosina se consumen extractos de propóleo cuya actividad antimicrobiana no ha sido científicamente evaluada, lo cual es necesario para usar los compuestos naturales con mayor confianza por parte de la población, ya que tales productos se ofrecen a un costo menor que los productos farmacéuticos que se encuentran en el mercado⁴⁴.

La actividad antibacteriana se reporta con mucha frecuencia y es quizás la actividad más estudiada. Kalogeropoulos y col. estudiaron el efecto de varios extractos etanólicos de propóleos frente a varias bacterias tales como: *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, y *Listeria monocytogenes*. Koo, Liberio y sus col., lograron identificar varios compuestos que poseen actividad bactericida contra las cepas del microorganismo *Streptococcus mutans*. Los componentes identificados corresponden a flavononas, dihidroflavononas, y el sesquiterpeno farnesol, el cual presentó la mayor actividad antibacteriana. En los estudios realizados con propóleos turcos por Basic se encontró actividad contra las bacterias fitopatógenas, *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola* y *Pseudomonas savastanoi*. En los propóleos brasileiros de la región de Minas Gerais, Santos y colaboradores encontraron actividad del extracto etanólico sobre las bacterias causantes de periodontitis: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*¹¹.

Lu y col. reportaron la actividad de los extractos etanólicos del propóleo colectado en diferentes épocas del año en Taipéi, Mingchien y Fanglia (Taiwán), contra el patógeno oral *Staphylococcus aureus*. El autor planteó que el mecanismo de actividad antimicrobiana es complicado y puede atribuirse a un sinergismo entre los ácidos de sesquiterpenos y flavonoides hidroxidados. Kujumgiev y col. estudiaron los extractos de los propóleos provenientes de Bulgaria, Albania, Mongolia, Egipto, Brasil, y España, y evaluaron la actividad antibacteriana, contra las cepas de *S. aureus* y *E. coli*, la antifúngica contra *C. albicans*, y la actividad antiviral usando como modelo el virus de la influenza aviar. Los resultados revelaron la actividad de la mayoría de los extractos contra las bacterias Gram positivas y el virus estudiado¹¹.

En los estudios realizados por Silici y col., se evaluaron muestras de propóleos provenientes de tres razas de *Apis mellífera*, mediante ensayos de actividad antimicrobiana, contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Todos los extractos etanólicos mostraron una actividad antibacteriana alta contra cocos grampositivos, principalmente las cepas de *Staphylococcus aureus*, y actividad baja contra bacterias gramnegativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*¹¹.

Stepanović y col. estudiaron la actividad de 13 extractos etanólicos de propóleos contra 39 microorganismos resistentes a antibióticos correspondientes a cepas de *Staphylococcus aureus*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. xylosum*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii*, *P. rettgeri*, *Morganella morganii* y *Salmonella enteritidis*. También evaluaron la actividad sinergista entre propóleos y antibióticos contra *S. aureus* resistente a oxacilina, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*. Los resultados mostraron actividad considerable de los extractos contra las bacterias grampositivas y levaduras, y actividad reducida contra bacterias gramnegativas. Se observó actividad sinergista del propóleo con antibióticos comerciales y con compuestos antifúngicos¹¹.

Scazzocchio y col., reportaron la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de propóleo a concentraciones subinhibitorias. Evaluaron 140 cepas de *Staphylococcus* spp. y 123 cepas de *Streptococcus* spp. y confirmaron empleando el método de captura de yoduro de propilo que los extractos causaban daño estructural a las células bacterianas; los autores observaron que los extractos etanólicos mezclados con ampicilina y estreptomina incrementaban el efecto drásticamente. Mientras que con el cloranfenicol, el ceftriaxon, eritromicina y la vancomicina no se observó ningún efecto. Imhof y Kainberger estudiaron la actividad de la solución acuosa comercial Melprotect (propóleos al 5%) utilizada para tratar los casos de vaginitis recurrente, con base en los resultados obtenidos se propone que el propóleo es una alternativa para el tratamiento con un 76% de mejoría en los casos estudiados¹¹.

Se ha observado que el extracto etanólico de própolis brasileño, rico en pinocembrina y galangina, inhibe la actividad glucosiltransferasa y el crecimiento del *Streptococcus mutans*. La histología dental demuestra que tanto la pasta dental a base de própolis como la de hidróxido cálcico inhiben el crecimiento bacteriano y estimulan la reparación de la dentina, en cambio, los colutorios a base de própolis no impiden la formación de placa dental⁹.

APLICACIONES TERAPÉUTICAS

- Afecciones de la piel: inflamaciones, endurecimientos, úlceras, infecciones, etc.
- Infecciones respiratorias altas, aftas, accesos de tos.
- Trastornos intestinales, desnutrición, raquitismo, anemias.
- Antibiótico natural y refuerza el sistema inmunitario.
- Citostático ligero.
- Regula la T A.
- Regenerador capilar.
- Tonificante.
- Inmunomodulador²⁶.

USO TERAPÉUTICO EN CAVIDAD ORAL

Desde 1978 la OMS ha estado promoviendo y desarrollando las medicinas alternativas y terapias naturales con eficiencia científicamente demostrada en los servicios nacionales de salud en cada país. (OMS, OPS. Estrategia de la Organización Mundial de la Salud sobre Medicina Natural y Tradicional, 2002-2005). La mucosa bucal representa un lugar de fácil acceso para agentes infecciosos, de ahí que en la mayor parte de las enfermedades de ésta exista una sobreinfección por microorganismos. En la medida en que aumentó el interés de decenas de investigadores por conocer mejor la utilidad del resinoso púrpuroparduzco, el margen fue ampliándose de forma increíble, y en distintas partes del mundo se han realizado estudios que demuestran su aplicabilidad en la medicina, por lo que se han abierto nuevos horizontes y conocimientos sobre este producto⁴.

Tagakashi et al. (2002) ensayaron la fase flavonoide y no flavonoide del propóleo, considerando que contenidos superiores a 2 mg de propóleos son tóxicos para la dentina. Estos autores encontraron que la fase flavonoide es antiinflamatoria, confirmando los estudios previos. El efecto de propóleo Apiherbal® en periodontitis crónica y agresiva fue estudiado por Del Río (2006). La periodontitis es una patología infecciosa provocada por *Porphyromonas gingivalis*, bacteria Gram negativa, la que tradicionalmente se trata con antibióticos penicilámicos y

quinólicos. Por su acción contra *Streptococcus mutans* está siendo investigada para el tratamiento de las caries (Koo et al., 2002). Las sustancias del propóleo inhiben la glucosiltransferasa, enzima relacionada con la fijación de microbios al tejido dentario. La apigenina y tt-farnesol serían en parte responsables de tal inhibición. Obviamente la acción sinergista de varios compuestos flavonoides y terpenos presentes en el propóleo mejora la acción de este producto natural (Kosalec et al., 2005)⁴⁵.

El propóleo resultó ser el medicamento idóneo con relación a los intereses que perseguíamos en nuestra praxis médica por sus propiedades. Estudios profundos avalan el uso del propóleo en la curación de heridas, dermatitis de diversos orígenes, afecciones bucales, estomatitis, gingivitis, esofagitis, úlceras gástricas y duodenales, entre otras enfermedades, sin efectos adversos al ser usado en el sistema digestivo, incluyendo edades pediátricas. Además, el propóleo ha sido considerado como un modificador natural de la respuesta inmune y se ha demostrado que induce una respuesta linfocitaria acorde con la homeostasis biológica. Matsuno demostró que un incremento de los linfocitos positivos CD4 es controlado por el propóleo y es normalizada la inmunología local de la boca en una a dos semanas de tratamiento. La capacidad de acelerar ostensiblemente la epitelización y la división celular (mitosis) en la curación de las heridas, pérdida de epitelios y en la prevención y detención de procesos inflamatorios, son propiedades de las más características de los preparados a base de propóleos⁴⁶.

El metabolismo de los compuestos polifenólicos del propóleo es elevado siendo excretado una parte importante por la orina. La transformación de los compuestos hidroxicinámicos y polifenólicos se efectúa principalmente en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase 1 en los que se introducen o exponen grupos polares: en segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase 2, en las que los microorganismos degradan los polifenoles y flavonoides no absorbidos. La conjugación con el ácido glucurónico, sulfatos o glicina, parecen tener lugar tanto para los flavonoides como para los metabolitos de los polifenoles procedentes del colon. Los conjugados, solubles en agua, pueden excretarse por la orina⁴⁷.

PRODUCTOS DERIVADOS DEL PROPÓLEO

Extracto hidroalcohólico de propóleos al 5 % de residuos sólidos solubles: Uso tópico y oral, como preservante o ingrediente en la elaboración de mezclas de productos naturales.

Extracto blando de propóleos 85 %: Materia prima para uso en la elaboración de cosméticos, productos terapéuticos y otros.

Propomiel: Vía oral, tópica, embrocaciones, como Inmunoestimulante, cicatrizante para quemaduras, expectorante bacteriostático, etc.

Otros derivados del propóleo:

- Tabletas vaginales.
- Supositorios.
- Caramelos.
- Spray.
- Cremas²⁶.

Todo lo que produce la abeja es bueno, la miel, el polen, propóleos, jalea real, cera, el veneno de sus cuerpos, los panales; por ello nos referimos a esta ayuda inestimable como “la farmacia que viene del cielo”⁴⁸.

Las propiedades con las que cuenta el propóleo son numerosas. Su principal uso se da en la rama medicinal (se estiman a escala mundial 19 propiedades terapéuticas) pero se usa también en cosméticos y en la industria alimentaria. El propóleo se presenta en una variedad de formas, dependiendo el uso que se le va a dar. Para aplicar sobre heridas, hay cremas y tinturas alcohólicas. Para ingerir, hay jarabes, tinturas, extractos y caramelos. También puede presentarse natural, en forma de pasta. La tintura de propóleo se usa como: cicatrizante antiparasitaria, regeneradora de tejidos, antiinflamatoria, anestésico, antipsoriásico y analgésico. La demanda del propóleo se incrementa cada día, debido a sus múltiples usos, por lo que se hace necesaria la obtención de grandes cantidades del mismo, para satisfacer la carencia actual de medicamentos. El propóleo puede sustituir a varios de los medicamentos que no se encuentran en la red de farmacias del país⁴⁹.

MERCADO

El propóleo ha sido utilizado en diversos campos de la Medicina debido a las diferentes propiedades y acciones que posee, entre las que se encuentran: acción antibacteriana y bacteriostática, anestésica, cicatrizante, antiinflamatoria y citostática, acción positiva sobre los mecanismos inmunológicos y acción antifúngica⁴⁸.

Internacionalmente, la primera patente se inscribió en Rumania (1965), totalizando 239 en el mundo para el período analizado. En los años 80 predominaron en la ex URSS y los países satélites. En la actualidad, el 43% de las patentes son de origen japonés. El 6,2% de las patentes corresponden a productos para tratamientos odontológicos. Japón tuvo un crecimiento de 660% en la década de los años 80 a 90 en la productividad científica. De igual modo, el precio ascendió de 5 a 200 dólares por kilogramo, para productos de Brasil, los que además de una mejor calidad tendrían menor contenido de metales pesados que el propóleo de otros proveedores. En Chile, el mercado del propóleo es cautivo y su manejo es artesanal. Por tanto, requiere de una amplia difusión de las diferentes propiedades de este producto, para interesar a los productores y empresarios a incursionar en un rubro no tradicional dentro de la actividad apícola. Se considera necesario poner especial énfasis en el manejo y explotación de la colmena, optimizando la producción, para lograr insertar el propóleo chileno en el mercado nacional e internacional (Hernández et al., 2005). Una posibilidad es dar énfasis en trazabilidad como se ha hecho con otros productos de la colmena, particularmente con la miel. Lo que se busca son productos con denominación de origen especialmente como el propuesto por el Sistema de Inspección y Certificación para la exportación del Servicio Agrícola y Ganadero (SAG)⁴⁵.

En la actualidad la medicina natural es una de las alternativas más utilizadas por la población rural, sobre todo en países en vías de desarrollo, aunque países industrializados también experimentan el renacimiento del interés por la investigación de esta alternativa médica. Al igual que la miel, el propóleo 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 existe un resurgimiento en su uso. Es por esa razón que en los últimos años se han realizado algunas investigaciones acerca de los productos provenientes de las abejas y sus potenciales beneficios para la salud oral⁵⁰.

CONTRAINDICACIONES Y EFECTOS ADVERSOS

En general, el propóleo es un producto bien tolerado. Faltan estudios sobre los efectos alérgicos debidos a las ceras presentes en estos productos. No obstante, se han reportado casos de dermatitis asociados a ciertos propóleos. Los antecedentes de productos cosméticos permiten afirmar que la cera alba (cera de abeja), un producto extraído de propóleos, produce dermatitis de contacto. Esto fue comprobado por pruebas cruzadas contra propóleos. Además, la cera alba se emplea como aditivo alimentario por lo que se debe tener especial cuidado con los

individuos sensibles. Por otra parte, se debe considerar que algunos tipos de propóleos muy oscuros contienen flavonoides altamente tóxicos ⁴⁵.

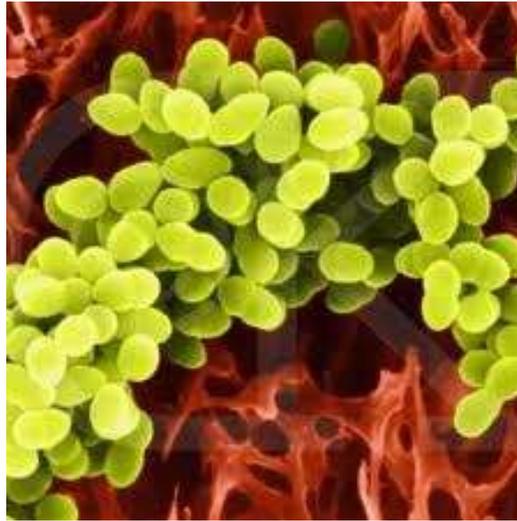
Según estudios médicos, el propóleo no tiene ninguna contraindicación siempre que no se tenga enfermedad bronquial. No se han detectado reacciones alérgicas, ni toxicidad por sobredosis. Es un remedio natural que no nos generará ningún malestar ⁵.

Es importante mencionar que a pesar de las múltiples aplicaciones favorables del propóleo en el campo de la salud, un pequeño porcentaje de la población es alérgica a este compuesto y a los demás productos apícolas (polen, jalea real, miel, veneno). Debido a esta situación es necesario suministrarles a los pacientes pruebas de alergia provocada antes de comenzar cualquier tratamiento con propóleo. Las reacciones alérgicas a este compuesto surgen, por lo general, en personas que son alérgicas a las abejas, o a sus picaduras, así como en personas que padecen de algún tipo de problema alérgico sobre todo en la terapia de afecciones del aparato respiratorio y de cavidad oral ³⁴.

Antes de iniciar un tratamiento con propolis conviene realizar una prueba de alergia, bien por aplicación tópica del producto en el antebrazo o por vía oral adoptando las debidas precauciones⁹.

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 antecedentes desde el punto de vista médico y se sugiere que tiene diversas propiedades terapéuticas en el área de odontología³⁴.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS



Las bacterias son esenciales pero insuficientes para causar enfermedad. Factores del huésped como herencia, y factores ambientales como tabaquismo, higiene oral, atención dental profesional son determinantes importantes de la ocurrencia de la enfermedad y de la severidad de la misma⁵¹.

La resistencia a múltiples sustancias hoy día es un problema de salud pública que se viene observando a nivel mundial después de la aparición de los antibióticos, Un ejemplo que ofrece muestras evolutivas de resistencia, es la bacteria *Staphylococcus aureus*. El uso indiscriminado de los antibióticos y la presión selectiva ambiental realizada por antisépticos y desinfectantes ha generado una respuesta de supervivencia en los microorganismos, que los capacita para evadir con eficacia la acción bactericida de algunos de estos agentes químicos . Durante los últimos 20 años el uso indiscriminado de estos productos ha hecho que las bacterias dotadas de múltiples mecanismos (bioquímicos, genéticos-moleculares y celulares) desarrollen estrategias inherentes y adquiridas, que les permiten evadir con efectividad la acción de éstos compuestos químicos . Pero el personal médico no siempre ha tenido una clara comprensión de éste fenómeno ni del papel modulador que sobre él tiene la aplicación de una correcta política de uso de estas sustancias⁵².

GENERALIDADES

La cavidad bucal puede actuar como reservorio de ciertos patógenos que pueden producir infecciones sistémicas. La posibilidad que *Staphylococcus spp* puedan formar un biofilm o biopelícula y vivir dentro de ciertos nichos les permite a estos microorganismos desarrollar ciertos mecanismos que aumentan su persistencia

como ser la capacidad de eludir las defensas del huésped y la terapia antimicrobiana. Estos microorganismos pueden ser o fácilmente convertirse en resistentes a los antibióticos y dar origen a una superinfección ⁵³.

Las bacterias existen en la naturaleza bajo dos formas o estados: a) bacterias planctónicas, de libre flotación, y b) bacterias biofilm, en colonias de microorganismos sésiles. Desde los tiempos de Koch, bacteriólogos y clínicos se han abocado al estudio de los gérmenes planctónicos, libremente suspendidos, y descritos en base a sus características de desarrollo en medios de cultivos adecuados. La capacidad de formar biofilm no parece restringirse a ningún grupo específico de microorganismos y, en la actualidad, se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas la inmensa mayoría de las bacterias, independientemente de la especie, puede existir dentro de biofilms adheridos a superficies en una interfase sólido/líquida, incluyendo organismos importantes en enfermedades, tales como *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella* y *S. aureus*. Van Leeuwenhoek, utilizando sus simples microscopios de luz, fue el primero en describir, en el siglo XVII, la presencia de microorganismos adheridos a superficies dentales, a raíz de lo cual se le reconoce como el descubridor de los biofilms bacterianos. Sin embargo, la motilidad no pareciera ser un requisito esencial, puesto que bacterias Gram positivas inmóviles, como estafilococos, estreptococos y micobacterias, también poseen la capacidad de formar Biofilm ⁵⁴.

La formación de la placa dental se produce a partir de procesos complejos que ofrecen la instalación de una comunidad microbiana diversa, cooperativa, dinámica, potencial patógeno de alto, y con frecuencia resistentes a los agentes antimicrobianos. Estos procesos implican mecanismos de adhesión de microorganismos a la película adquirida microbiana y co-adhesión entre especies similares (homotípica) o diferentes (heterotípica), con la mediación por las glicoproteínas salivales y los receptores de la superficie celular. Estos procesos son los responsables de la sucesión bacteriana y crean ambientes favorables para la colonización por bacterias ⁵⁵.

La mayoría de las biopelículas bacterianas están producidas por *S. aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Las biopelículas están organizadas en comunidades microbianas estructuradas dentro de una matriz de material extracelular. Estos microorganismos son diferentes en fenotipo de las células libres en suspensión (planctónicas) ⁵⁶.

Staphylococcus aureus es un patógeno primario reconocido para el hombre y es uno de los patógenos bacterianos que con mayor frecuencia causa infecciones. Es parte de la flora normal del hombre, siendo el sitio de portación principal las fosas

nasales, por lo que debe ser considerado como un patógeno oportunista. La portación es un factor de riesgo importante para la infección por esta bacteria. Puede causar una amplia variedad de infecciones: lesiones superficiales, infecciones sistémicas con riesgo de vida (endocarditis, osteomielitis, neumonía, abscesos cerebrales, meningitis y bacteriemia), y enfermedades producidas por toxinas (intoxicación alimentaria, síndrome de la piel escaldada o síndrome de shock tóxico)⁵⁷.

Se destaca como una bacteria extracelular invasiva cuyas alteraciones en los tejidos se caracterizan por la localización, supuración y cicatrización, las manifestaciones más importantes de ciertas enfermedades se asocian a una o varias exotoxinas. Este microorganismo ha sufrido varios cambios genéticos y epidemiológicos, que han logrado convertirlo en un patógeno que puede ser encontrado en pacientes hospitalizados o en personas con algún tipo de contacto con los servicios de salud, así como también, en individuos sanos y sin factores de riesgo para infecciones⁵⁸.

El estafilococo patógeno produce numerosas exotoxinas, y entre ellas algunas variedades de hemolisinas, una dermatonecrosina, una leucocidina, y una enterotoxina. La enterotoxina previamente señalada es causa común de intoxicación alimenticia. A diferencia de otras exotoxinas, la enterotoxina del estafilococo resiste al calor y probablemente no se llega a destruir con el cocimiento¹².

En los últimos años, se ha observado un incremento en la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los diferentes antibióticos usualmente empleados para el tratamiento de las infecciones sistémicas y en piel, y de particular importancia, el surgimiento de *S. aureus* resistente a la meticilina (SAMR). La resistencia antibiótica se le ha atribuido al uso inadecuado y excesivo de los antimicrobianos⁵⁹.

Staphylococcus aureus se considera el principal patógeno responsable habitualmente de infecciones; es una bacteria muy virulenta y con una creciente resistencia a los antimicrobianos. Aunque es comúnmente hallada en las manos del personal de salud, distintos materiales y artículos del ambiente inanimado también podrían transportar esta bacteria, convirtiéndose en potenciales reservorios y vehículos de transmisión de infecciones entre los pacientes. Los mecanismos implicados en la resistencia a beta-lactámicos en cocos Gram positivos generalmente son dos: la modificación de las dianas del antibiótico, lo cual implica una pérdida de afinidad de los beta-lactámicos por ellas, y la producción de beta-lactamasas que, actualmente, constituye el principal

mecanismo de resistencia a estos antibióticos. La importancia de detectar estos mecanismos de resistencia es evitar los fracasos terapéuticos y evitar la aparición de nuevas resistencias, toda vez que éstas han ido apareciendo paralelamente al uso clínico de estos agentes⁶⁰.

El manejo antimicrobiano es vital para los pacientes con infecciones estafilocócicas; aunque para el tratamiento puede usarse una amplia gama de agentes, la mayoría de los estafilococos son capaces de adquirir y usar uno o más de los mecanismos de resistencia. Últimamente se sabe que las penicilinas resistentes a la penicililasa, como la meticilina, la nafcilina, o la oxacilina, son la base del tratamiento antiestafilocócico, pero la resistencia es frecuente⁶¹.

DEFINICIÓN TAXONÓMICA

El nombre de estafilococos fue designado por Sir Alexander Ogston después de utilizar la expresión griega staphyle (racimo de uvas) para describir las características de crecimiento en grupos semejantes a uvas. Los estafilococos son cocos Gram positivos no móviles, aerobios facultativos y fermentadores de glucosa⁶².

S. aureus forma parte de la familia Micrococaceae, género *Staphylococcus*. Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. El microorganismo produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en agar sangre. Sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas⁶³.

CLASIFICACIÓN DE LOS ESTAFILOCOCOS

De acuerdo con la producción de pigmentos:

- *Staphylococcus aureus* (dorado)
- *Staphylococcus citreus* (amarillo limón)
- *Staphylococcus albus* (blanco)

De acuerdo con la prueba de la coagulasa:

- *Staphylococcus aureus*, que es coagulasa positiva y patógena
- *Staphylococcus epidermidis*, que es coagulasa negativa y no patógena⁶²

El género *Staphylococcus* contiene más de 30 especies diferentes, y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas; no tienen otros hábitats importantes, excepto cuando están involucradas en infecciones⁶².

Los estafilococos pueden producir muchas infecciones cutáneas (diversos, flemones y forúnculos) y también pueden infectar las heridas. No son raras osteomielitis y los abscesos del seno por estafilococos¹².

La producción de coagulasa y la fermentación de manitol son las características mínimas para diferenciar *S. aureus* de otros *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* expresa varios factores de virulencia, incluyendo la catalasa, que es considerada una característica de género en su identificación⁶⁴.

MEDIO DE CULTIVO SELECTIVO PARA S. AUREUS

Los medios de cultivo desempeñan un papel primordial en el diagnóstico clínico de enfermedades y en la higiene alimentaria. Los nuevos microorganismos reconocidos como agentes patógenos exigen mayores requisitos respecto a la especificidad y sensibilidad de diagnóstico, por lo que se hace difícil lograr un producto para la caracterización rápida e identificación de estos. Es esencial, por ello, el uso de medios de cultivo primarios adecuados y de respuesta rápida, para lograr así el aislamiento óptimo de los microorganismos⁶⁵.

Los estafilococos crecen en medios químicamente definidos, los cuales contienen glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico. En medios suplementados, los estafilococos crecen bien en rangos de pH de 4.8 a 9.4 y a temperaturas de 25 a 43 °C. El color amarillo clásico de las colonias de *S. aureus* se debe a la producción de carotenoides; sin embargo, se presentan frecuentemente variantes no pigmentadas en muchas cepas⁶².

Las muestras se inoculan directamente en medios selectivos para la detección de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), entre los que pueden usarse medios de cultivo comerciales que contienen sustratos enzimáticos cromogénicos y cefoxitina, que ofrecen un alto grado de sensibilidad y especificidad. La sensibilidad mejora si en un paso previo se utilizan caldos de enriquecimiento (brain-heart-infusion [BHI], caldo de soja/triptona [TSB], etc.) con cloruro sódico (NaCl), aunque se incrementa el tiempo de detección⁶⁶.

El agar manitol salado es un medio selectivo usado para el aislamiento de estafilococos patógenos, especialmente *Staphylococcus aureus*, considerado un patógeno bacteriano serio desde que desarrolló resistencia a la penicilina en 1950.

Ha sido empleado también en estudios de resistencia a antibióticos, en los cuales ha demostrado una especificidad de 98.1 % y una sensibilidad de 95.1 % con cepas de *Staphylococcus oxacillina* resistentes. Incluye en su composición el indicador de pH: rojo fenol. Este indicador es de color rojo a pH 8.2 y cambia a amarillo a pH por debajo de 6.8. Cuando se desarrollan las colonias de *Staphylococcus aureus* fermentadoras de manitol, se produce ácido en el medio, el cual reacciona con el indicador y forma las áreas de color amarillo alrededor de las colonias, reacción característica de los estafilococos patógenos⁶⁵.

Sin embargo, la alta concentración del indicador puede afectar la calidad del medio de cultivo porque la mayoría de estos indicadores son tóxicos para los microorganismos. Además, la cantidad excesiva de indicador sulfoftaleínico (como el rojo fenol) proporciona al medio de cultivo una capacidad de buffer adicional y disminuye la difusión de los ácidos metabólicos. Por otra parte es necesario que el medio de cultivo posea una adecuada composición de bases nutritivas para contrarrestar el efecto inhibitorio de la alta concentración de cloruro de sodio y lograr una rápida y eficiente recuperación de estafilococos⁶⁵.

BIOFILM

La etapa inicial del proceso de formación del biofilm es la adherencia sobre la superficie. En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie (AtlE, Bap, Esp) en esta primera etapa de adherencia primaria. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar⁶⁷.

Finalmente, algunas bacterias de la matriz del biofilm se liberan del mismo para poder colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo de formación del biofilm. La liberación de las bacterias desde el biofilm es el proceso que menos se conoce. En el caso de *Staphylococcus aureus* se ha descrito un proceso de variación de fase producido por la inserción reversible de un elemento de inserción (IS256) en el interior del operón (*icaADBC*) responsable de la síntesis del exopolisacárido del biofilm. El proceso de inserción del elemento parece ocurrir aleatoriamente en la población con una frecuencia de 10^{-6} y produce bacterias deficientes en la síntesis del exopolisacárido y por tanto deficientes en la formación del biofilm. Esto permite a la bacteria mantener un pequeño porcentaje de la población incapaz de sintetizar el exopolisacárido y poder escapar del

biofilm. Como la inserción es un proceso reversible, el salto del IS desde el operón ica provocará una nueva variación de fase. Otra alternativa descrita en *S. aureus* consiste en la obtención de variantes deficientes en la formación del biofilm debido a la eliminación de una isla de patogenicidad que contiene elementos esenciales para el proceso de formación del biofilm. Finalmente, parece lógico que la formación de biofilm se produzca en respuesta a las condiciones ambientales y por tanto que existan sistemas de fosfotransferencia de dos-componentes (two-component systems) que transmitan la señal ambiental al interior de la bacteria para adecuar la expresión de genes a la nueva situación ambiental⁶⁷.

La característica que mejor distingue las infecciones crónicas relacionadas con biofilms de las infecciones agudas es su respuesta a tratamientos antibióticos. Mientras que las infecciones agudas pueden ser eliminadas tras un breve tratamiento antibiótico, las infecciones por biofilms normalmente no consiguen ser completamente eliminadas, producen episodios recurrentes y la mayoría de las veces deben resolverse sustituyendo el implante. Esto se debe a que las bacterias del biofilm pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que esas mismas bacterias crecidas en medio líquido⁶⁷.

FACTORES DE RIESGO

En este sentido también se han encontrado elementos de la anamnesis o del examen físico, como la presencia de cuerpos extraños o prótesis, la incapacidad de identificar el foco de la bacteremia, la morbilidad asociada grave y previa, la presencia de lesiones vasculares cutáneas, las metástasis infecciosas y la presencia de choque séptico al ingreso. Entre los factores relacionados con el tratamiento, se han identificado la resistencia a la metilina , el retraso en el diagnóstico , la persistencia de cuerpos extraños o focos no removibles , la persistencia de la fiebre después de 72 horas y el retraso en la administración del antibiótico apropiado por más de 44 horas , como factores que predicen una mayor probabilidad de fracaso terapéutico, siembras metastásicas y recurrencia. De acuerdo con los análisis multivariados, una tasa de complicaciones cercana al 35% se asocia con alguna de las siguientes características: 1) adquirida en la comunidad, 2) hallazgos en piel sugestivos de infección sistémica aguda, 3) hemocultivo de control positivo, usualmente a las 72 horas y 4) persistencia de la fiebre a las 72 horas de iniciado el tratamiento⁶⁸.

La bacteremia por *S. aureus* puede clasificarse como primaria o secundaria, según se identifique o no el órgano o sistema infectado .El órgano o sistema origen de la

bacteremia está muy relacionado con el lugar en el que se adquiere la infección. En el caso de la bacteriemia adquirida en la comunidad los focos de origen fueron principalmente las lesiones en piel (40%), seguidas por el aparato respiratorio (18%)⁶⁸.

La frecuencia de las complicaciones varía entre 11% y 53%, las cuales se dividen en recurrencia (6% a 12%), enfermedad metastásica (hasta 31%) y mortalidad. La tasa de mortalidad atribuible a bacteremias por *S. aureus* no ha cambiado en las últimas décadas, persiste entre 11% y 43%. Las principales metástasis infecciosas son: endocarditis 73%, artritis séptica 26% y osteomielitis 26%, pero también, se ha descrito compromiso del sistema nervioso central (meningitis, abscesos intracerebrales o epidural), neumonías, abscesos de tejidos blandos e infección de vías urinarias⁶⁸.

VIRULENCIA

Antes del uso de los antibióticos una bacteremia causada por *S. aureus* producía una mortalidad aproximada del 82%. Aún ahora este porcentaje permanece elevado, entre el 25 y 63%. En años recientes han reemergido las infecciones por *S. aureus*. Esto se debe en parte a que la bacteria se ha vuelto resistente a los antibióticos con los que normalmente se le combate, aunado a su diseminación en la población sana⁶³.

Es un microorganismo que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos, el mismo que en los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas, las cuales se asocian con elevada morbimortalidad. Produce lesiones superficiales de la piel, infecciones de heridas y abscesos localizados, causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis; ocasiona también infecciones protésicas y articulares (artritis séptica). Es causante de infecciones respiratorias como neumonía e infecciones del tracto urinario. Además, intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del choque tóxico, al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo. También causa septicemia, impétigo y fiebres⁶⁹.

Desde el punto de vista genómico, es elemental resaltar la importancia de los elementos genéticos móviles (EGM) que el *S. aureus* utiliza para transferir información genética que le permite determinar su resistencia a antimicrobianos, así como adquirir diversos factores de virulencia. Los elementos genéticos móviles (EGM9) no son más que segmentos de DNA que se transmiten en forma horizontal, ya sean como secuencias de inserción, transposones, fagos,

plásmidos, islas de patogenicidad y cassettes cromosómicos. Hay que resaltar que estos segmentos de DNA no sólo se transmiten en forma horizontal, sino también están ampliamente propagados en la transmisión vertical a través de la progenie bacteriana⁷⁰.

S. aureus produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano. Casi todas las cepas producen un grupo de enzimas y citotoxinas. Dentro de estas hay cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasa y colagenasa. La función principal de estas proteínas puede ser la de ayudar a degradar los tejidos locales del huésped para convertirlos en nutrientes para las bacterias⁶³.

Posee varios factores de virulencia asociados con la pared celular y extracelulares, los cuales contribuyen a favorecer la patogenicidad de cada cepa de esta especie. Los factores de virulencia asociados con la pared celular incluyen los receptores de superficie con propiedades enlazantes para inmunoglobulinas, fibrinógeno, fibronectina, colágeno y varias otras proteínas externas. Las proteínas extracelulares secretadas por el *S. aureus* comprenden enterotoxinas estafilocócicas (SE) de la A a la Q, las toxinas exfoliativas A (ETA) y B (ETB), la toxina del síndrome de choque tóxico (TSST-1)⁷¹.

Los factores de virulencia de S. aureus participan en la adhesión y adquisición de nutrientes para el microorganismo y sirven también para evadir la respuesta inmune del huésped. En base a esto los factores se han clasificado en tres categorías: 1) los involucrados en la adherencia a la célula huésped o matriz extracelular, como las proteínas de unión a fibrinógeno, fibronectina, colágeno y coagulasa; 2) aquellos que están involucrados en la evasión de las defensas del huésped, como las enterotoxinas estafilocócicas; la TSST-1, la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL), proteína A, lipasas, y polisacáridos capsulares; 3) los involucrados en la invasión de la célula huésped y penetración de los tejidos, como la toxina α , hemolisinas β , γ y δ ⁶³.

El efecto de la LPV es formar poros heptaméricos en las membranas de los leucocitos, causando destrucción de los mismos. Desde el punto de vista clínico, estas cepas LPV(+), tienden a causar infecciones de piel y tejidos blandos como furunculosis (93%), abscesos cutáneos (50%) e incluso neumonías rápidamente progresivas con un alto grado de fatalidad. Sin embargo, en otro tipo de infecciones como endocarditis, síndrome de shock tóxico y mediastinitis entre otras, se han asociado a cepas SAMR-LPV(-). Es por esto que el rol determinante de la LPV como factor de virulencia, aún sigue siendo motivo de controversia, por

lo que se estudia la posible combinación de factores de virulencia, principalmente la co-participación de otros factores, principalmente la proteína A y las hemolisinas alfa y gamma⁷⁰.

La coagulasa producida por *S. aureus* existe en dos formas, una forma unida (llamada también factor de aglomeración) y una forma libre. La coagulasa unida a la pared celular del estafilococo se une a la protrombina, este complejo trasforma el fibrinógeno en fibrina insoluble y esto provoca la aglomeración de los estafilococos. La coagulasa libre reacciona con el factor reactivo de la coagulasa (CRF), presente en el plasma, dando lugar a un complejo análogo a la trombina que reacciona con el fibrinógeno formando el coagulo de fibrina. La coagulasa se utiliza como marcador de la virulencia y permite diferenciar a *S. aureus* (coagulasa positivo) de otras especies estafilocócicas (coagulasa negativas). La importancia de la coagulasa en la patogenia de la enfermedad radica en que esta enzima causa la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, localizando la infección y protegiendo a la bacteria de la fagocitosis⁶³.

Existe un rápido aumento a nivel mundial en el número de bacterias resistentes a antibióticos. La mayor parte de esta resistencia surge debido al uso excesivo o mal uso de antibióticos para: propósitos médicos, propósitos agrícolas y propósitos de desinfección, y seleccionan así organismos resistentes. Cada día se vuelve más difícil encontrar antibióticos que traten de manera efectiva infecciones comunes pero serias. La mayoría de la información acerca de la resistencia a los antibióticos en la literatura científica tiene que ver con aislamientos bacteriales de infecciones que no respondieron a tratamientos con antibióticos⁷².

FACTORES DE AGRESIVIDAD

Staphylococcus aureus es un componente normal de la microflora humana autóctona y es transportado en forma asintomática en varias partes del cuerpo. Su transmisión desde estos sitios provoca enfermedad endémica y epidémica. Koneman et al. (1999) señalan que los determinantes de la patogenicidad están relacionados con la producción de enzimas extracelulares, toxinas citolíticas y enterotoxinas. La ubicuidad de los estafilococos en los humanos, ambiente y animales hace necesario que se tomen medidas sanitarias, así como un estricto control de las medidas de prevención para evitar el crecimiento bacteriano y la consiguiente producción de toxinas⁷³.

Este riesgo de infección aumenta considerablemente en presencia de un cuerpo extraño. Dispositivos como los catéteres vasculares son recubiertos rápidamente

por componentes séricos como la fibronectina o el fibrinógeno que facilitan la adherencia de *Staphylococcus aureus* a través de los mecanismos conocidos como MSCRAMM (del inglés microbial-surface components recognizing adhesive matrix molecules) que facilitan la producción de glicocálices. Este mecanismo facilita la colonización posterior. La célula endotelial juega un papel clave en la infección sistémica ya que *Staphylococcus aureus* tiene marcada afección por la célula endotelial, uniéndose firmemente a través de interacciones entre la adhesina y los receptores; permitiendo la fagocitosis posterior de *S. aureus* por parte de la célula endotelial. Dentro de la célula endotelial *S. aureus* forma variantes de pequeña colonia que permitiría la supervivencia bacteriana facilitando la infección persistente o recurrente. Las cepas de *Staphylococcus aureus* capaces de producir endocarditis son resistentes a las proteínas microbicidas plaquetarias y producen enzimas proteolíticas que facilitan la adhesión al tejido subyacente; MSCRAMM facilita la unión de *Staphylococcus aureus* al trombo adherido a la válvula dañada. Además, la invasión de la célula endotelial promueve la expresión de factor tisular que puede facilitar la formación de verrugas, lo que explicaría por qué *Staphylococcus aureus* es capaz de producir endocarditis aún en ausencia de daño valvular previo ⁷⁴.

Tras la fagocitosis, las células endoteliales expresan en su superficie receptores Fc y moléculas de adhesión como ICAM (intercellular adhesion molecules) y VCAM (vascular-cell adhesion molecules) y libera interleukinas como la IL1, IL6 y la IL8, facilitando la llegada de leucocitos al lugar de la infección. Tanto los macrófagos tisulares como los monocitos plasmáticos liberan IL1, IL6, IL8 y Factor de necrosis tumoral α . La activación de los macrófagos se produce por la liberación de γ -Interferón por los linfocitos T. Estas citoquinas contribuyen a las manifestaciones del síndrome séptico que acompañan a la bacteremia por *Staphylococcus aureus* ⁷⁴.

El mecanismo de defensa fundamental del huésped es el leucocito. La expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales facilita la llegada de leucocitos al lugar de la infección, con liberación de diferentes citoquinas en el torrente sanguíneo que posteriormente migran a los tejidos inflamados. Las células endoteliales infectadas producen, además, moléculas de adhesión tipo 1 (CD54), moléculas de adhesión vascular tipo 1 (CD106) y moléculas de clase I del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Aunque in vitro los anticuerpos han demostrado facilitar la fagocitosis, su papel in vivo es más dudoso. De hecho, los títulos de anticuerpos frente a *Staphylococcus aureus* no se correlacionan con protección frente a la infección excepto en el caso del síndrome del shock tóxico estafilocócico. *S. aureus* produce además una serie de exoenzimas, proteínas de

membrana (hemolisinas y leucocidinas) y toxinas. Entre las enzimas destaca la catalasa que se encarga de desdoblar el peróxido de hidrógeno, tóxico para el microorganismo, en agua y oxígeno. La coagulasa convierte el fibrinógeno en fibrina, lo que produciría una capa de fibrina en el absceso estafilocócico protegiendo de la fagocitosis. La hialuronidasa hidroliza el ácido hialurónico de la matriz del tejido conectivo y la penicilinas hidroliza el anillo β -lactámico, inactivando la penicilina⁷⁴.

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* son capaces de producir proteínas extracelulares como las hemolisinas, nominadas como α , β , γ y δ . Son capaces de lisar los eritrocitos y otras células eucariotas del hospedador. La α -hemolisina es la mejor estudiada de este grupo, interviniendo en el desarrollo de edema como consecuencia de los cambios de permeabilidad celular. Se ha visto que tiene un papel muy importante en la producción de endocarditis experimental. Un 5-10% de las cepas son productoras de toxinas exfoliativas, que producen el síndrome de la piel escaldada mediante la destrucción de los desmosomas del estrato granuloso de la epidermis, sin citolisis ni inflamación. Entre el 30 y el 50% de las cepas producen enterotoxinas. La toxina del síndrome del shock tóxico (TSST-1) actúa como un superantígeno induciendo la liberación de citocinas de macrófagos y linfocitos T. La toxina mejor caracterizada es la leucocidina de Panton-Valentine. Descrita en 1932 por Panton y Valentine se englobaría dentro de los homólogos de las γ -hemolisinas. Sintetizada por un 2-3% de las cepas, induce la degranulación de los leucocitos polimorfonucleares y la liberación de mediadores de la inflamación⁷⁴.

EPIDEMIOLOGÍA

S. aureus es la especie más virulenta del género *Staphylococcus* y la que mejor número de padecimientos infecciosos ocasiona al humano. Se destaca como una bacteria extracelular invasiva cuyas alteraciones en los tejidos se caracterizan por localización, supuración y cicatrización, las manifestaciones más importantes de ciertas enfermedades se asocian a una o varias exotoxinas. Este microorganismo ha sufrido varios cambios genéticos y epidemiológicos, que han logrado convertirlo en un patógeno que puede ser encontrado en pacientes hospitalizados o en personas con algún tipo de contacto con los servicios de salud, así como también, en individuos sanos y sin factores de riesgo para infecciones. *S. aureus*, es una bacteria ubicua, comensal, que se encuentra en aproximadamente el 20-50% de la población general⁵⁸.

Cerca de un cuarto de la población porta alguna de sus cepas en cierta etapa de su vida o todo el tiempo. Si en las personas se desarrolla una infección por esta

bacteria es muy probable que la responsable sea una de las propias cepas de *S. aureus* que colonizan el organismo. En años recientes las infecciones por *S. aureus* han reemergido debido a que la bacteria se ha vuelto resistente a los antibióticos con los que normalmente se le combate. Desde hace muchos años se han reportado brotes epidémicos de *S. aureus* por todo el mundo⁶³.

La mayoría de las biopelículas bacterianas están producidas por *S. aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. La presencia de *S. aureus* en la mucosa oral y las prótesis dentales en la mitad de los pacientes estudiados debe considerarse como representativo de una alta prevalencia de portadores de este microorganismo en personas con prótesis. Esta elevada colonización corrobora con lo observado por otros autores que sugieren que *S. aureus* es un colonizador habitual de la cavidad oral y que esta colonización puede ser un reservorio potencialmente peligroso para el paciente como foco de diseminación u otras localizaciones corporales y como fuente de transmisión a otras personas, alimentos y objetos⁵⁶.

Naturalmente, un entendimiento de la dinámica de la diseminación y una identificación de transmisiones o brotes son de interés no solo para los epidemiólogos de la salud pública sino también para microbiólogos clínicos involucrados en manejo de pacientes en una labor diaria⁷⁵.

Se encuentra involucrado en una diversidad de infecciones e intoxicaciones, pudiendo comprometer cualquier órgano del sistema. El tratamiento de estas infecciones se ve dificultado por su elevada capacidad de generar resistencia a los antimicrobianos. En 1946, se reportó un 60% de resistencia a penicilinas naturales, en 1960 ésta se incrementó a 80%, obligando a su abandono. Hacia 1961 se reportó en Europa la aparición de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA), extendiéndose posteriormente a diversas partes del mundo, constituyendo en la actualidad un serio problema de salud pública⁷⁶.

A nivel mundial la resistencia bacteriana es considerada un fenómeno creciente y de gran complejidad. La Organización Mundial de la Salud en el año 1999 lo declaró un problema de salud pública y viene trabajando en la creación de una estrategia global que pretende reducir la diseminación de microorganismos resistentes y estimular la prevención y control de infecciones. Se han descrito múltiples mecanismos para introducir, seleccionar, mantener y diseminar la resistencia antibiótica. El más importante es consecuencia directa del uso indiscriminado e inapropiado de agentes antimicrobianos, que incluyen una elección errónea, dosis o duración de tratamiento inadecuados, bajo nivel de adherencia y empleo de medicamentos de baja calidad, entre otros. El impacto de la resistencia puede traducirse en tiempos de enfermedad prolongados, aumento

en el riesgo de morir, disminución en la eficacia de los tratamientos, presencia de brotes o epidemias de difícil manejo. Se ha reportado que el *Staphylococcus aureus* es responsable del 32 al 47% de las infecciones de piel y tejido celular subcutáneo, su importancia radica en la extraordinaria capacidad para desarrollar resistencia a los antimicrobianos y el potencial de causar infecciones que pueden llegar a ser letales. Muchos pacientes con infecciones cutáneas son atendidos en consulta externa y manejados según el criterio individual del clínico, que realiza una prescripción inicial basado en los perfiles generales de sensibilidad y resistencia descritos en los textos, produciendo en ocasiones tratamientos fallidos, incremento en los costos, tiempos de recuperación prolongados y deterioro en la calidad de vida⁷⁷.

El *Staphylococcus aureus* es un patógeno humano versátil que se adapta a los antimicrobianos, siendo capaz de generar mecanismos de resistencia eficientes. En este microorganismo se han descrito múltiples mecanismos de resistencia. Entre estos, existen 3 mecanismos de resistencia para los macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLS): Modificación del sitio de acción (codificado por el gen *erm*), Bomba de eflujo (codificado por el gen *msr A*) e Inactivación (codificado por el gen *mph*)⁷⁸.

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

Además de ser capaz de sobrevivir por 12 días en superficies inanimadas. De aquí su gran importancia como patógeno nosocomial. Puede ser resistente a los antibióticos betalactámicos no solamente por la producción de betalactamasas, sino también debido a cambios estructurales en el sitio de unión del fármaco, evitando de esta manera la acción antibiótica, como es el caso de la resistencia a la oxacilina, denominándose en la actualidad como *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (SAMR) . Posteriormente surgieron nuevas drogas antimicrobianas como la vancomicina y la teicoplanina, describiéndose ya para el año 1997 resistencia intermedia a vancomicina y para el 2000, alto nivel de resistencia a éste antibiótico. La situación hoy en día representa un problema de salud pública, tanto por el aumento de los costos del tratamiento como por el grado de las complicaciones infecciosas⁷⁹.

El elemento central de esta resistencia es la adquisición del gen *mecA*, el cual codifica para una proteína de unión a penicilina (PBP2a), que presenta actividad transpeptidasa y baja afinidad por los antibióticos betalactámicos. Los estafilococos portadores de este gen y de su proteína deben considerarse

resistentes a todos los antibióticos betalactámicos sin excepción incluyendo carbapenemes y cefepime. Los aislamientos nosocomiales de SARM son usualmente resistentes a múltiples clases de antimicrobianos *in vitro*. Es preocupante su emergencia y rápida extensión; esto ha originado nuevos retos para su prevención y control en instituciones de salud. La aparición de fenotipos de resistencia bacteriana se liga con el uso clínico de agentes antimicrobianos a los cuales la bacteria expresa resistencia⁸⁰.

En la actualidad las cepas de *S. aureus* tienen un amplio rango de resistencia a los antibióticos y se pueden encontrar cepas resistentes y multirresistentes. La introducción de la penicilina a principios de los años 40 como tratamiento en las infecciones causadas por *S. aureus* abatió de manera importante las enfermedades ocasionadas por este microorganismo. Sin embargo, un año después de su utilización ya se tenían cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina. Para 1946, en Inglaterra se observó que aproximadamente un 60% de los aislamientos de estafilococos fueron resistentes a la penicilina y para mediados de 1950, los aislamientos de *S. aureus* mostraron niveles más elevados de resistencia. Los primeros aislamientos de *S. aureus* multirresistentes fueron recobrados en 1957. A principios de los 60's los estafilococos habían adquirido resistencia a la gran mayoría de antibióticos disponibles. Debido a la resistencia a la penicilina de las cepas de *S. aureus*, a finales de los años 50 se introdujeron cefalosporinas estables a penicilinasas y penicilinas semisintéticas. Entre éstas estuvo la metilina, como antibiótico de elección en el tratamiento de *S. aureus*. Esta droga fue introducida en Europa en 1959 y un año después se detectó la primera cepa *S. aureus* metilina resistente ("methicillin resistant *S. aureus*", MRSA). Más tarde, en 1963, se reportó el primer brote nosocomial causado por cepas MRSA. Desde entonces se han notificado cepas de *S. aureus* multiresistentes en todo el mundo⁶³.

El *Staphylococcus aureus* se caracteriza por la capacidad de incorporar material genético de otras cepas, de especies estafilocócicas diferentes e incluso de bacterias de otros géneros. Esta excepcional plasticidad lo dota de nuevas características infectivas en relación con su virulencia y su resistencia a los antibióticos. Las nuevas características adaptativas de este antiguo patógeno han determinado en los últimos años cambios epidemiológicos importantes en las infecciones estafilocócicas⁸¹.

CUADRO CLÍNICO

Posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades. Produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en

otros sitios. Causa infecciones del sistema nervioso central e infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis. Es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Provoca intoxicación alimentaria al liberar sus enterotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del shock tóxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo. Además, causa septicemia, impétigo y fiebres. *S. aureus* puede transmitirse a otras regiones del cuerpo o membranas mucosas. Si la piel o mucosas se rompen por trauma o cirugía, *S. aureus* que es un patógeno oportunista, puede acceder al tejido cercano a la herida provocando daño local o enfermedades de amplio espectro⁶³.

Staphylococcus aureus es uno de los patógenos más frecuentemente aislados en infecciones sanguíneas, en infecciones de piel y partes blandas. Desafortunadamente, este patógeno ha ido desarrollando resistencia a los antimicrobianos de un modo muy eficiente. Estas infecciones, considerada un peligro potencial, han sido descritas posteriormente en muchos países del mundo, con cifras en incremento en estos últimos años⁸².

Las infecciones de piel y partes blandas causadas por suelen manifestarse como celulitis, forúnculos y abscesos; es frecuente que comprometan cabeza y cuello ya sea como linfadenitis cervical, otitis externa, o mastoiditis aguda así como también infecciones orbitarias y periorbitarias. Aun cuando la mayoría de infecciones causadas son superficiales y leves, algunos casos pueden ser severos y estar asociados a neumonía necrotizante, empiema, sepsis, bacteremia, piomiositis, osteomielitis, fascitis necrotizante, púrpura fulminans y émbolos sépticos; en cuyo caso se asocian a altas tasas de morbimortalidad⁸³.

➤ **DIAGNÓSTICO**

El tratamiento de la bacteremia por *S. aureus* tiene como objetivo erradicar la bacteremia y prevenir la recaída o las metástasis infecciosas. Es importante en el momento del diagnóstico, identificar si la bacteremia es primaria o secundaria, el lugar de adquisición de la bacteremia, evaluar la presencia de cuerpos extraños, de colecciones (abscesos) o de tejido desvitalizado, y descartar la presencia de metástasis infecciosas. La evaluación y el seguimiento clínico continúan siendo de vital importancia, por lo cual se debe realizar un examen físico acucioso, ya que es la guía para la solicitud de otros métodos diagnósticos. Por ejemplo, en el caso de endocarditis, es importante buscar activamente los criterios clínicos (tanto vasculares como inmunológicos o la aparición de un nuevo soplo de insuficiencia)

que permitan establecer un diagnóstico posible o definitivo de endocarditis infecciosa aplicando los criterios de Duke. De igual forma, se recomienda la realización de un hemocultivo de control a las 72 horas y, si es positivo, que se busquen los posibles focos infecciosos metastáticos⁶⁸.

Según diferentes reportes, entre el 20% y 30% de los sujetos sanos pueden estar colonizados de manera persistente o transitoria, convirtiéndose en el principal reservorio y fuente de infección para el ser humano⁸⁴.

➤ TRATAMIENTO

Si bien los antimicrobianos son indispensables para la medicina, humana y veterinaria, se considera también que son responsables del surgimiento de la resistencia en todo tipo de microorganismos. Hace apenas cuatro a cinco décadas se iniciaron las campañas para mejorar el uso de los antimicrobianos; actualmente, esta mejora se considera como una prioridad para la salud pública. La aparición de la resistencia es inevitable; después del uso de un antimicrobiano por tiempo prolongado los microorganismos más aptos sobreviven gracias a la adquisición de los mecanismos de resistencia (ya sea por alguna mutación o por aceptar material genético de otros microorganismos similares) que les permiten evadir la acción del medicamento. Este tiempo es diferente para cada bacteria; sin embargo, a lo largo de varios años de exposición se espera que surja un microorganismo resistente a múltiples fármacos y se convierta en una amenaza para los hospitales que atienden a pacientes de alto riesgo. Aún no se definen las mejores estrategias para la prevención de la diseminación y el tratamiento de las infecciones por bacterias resistentes, por lo que queda un mayor número de preguntas que deben resolverse⁸⁵.

En México la información sobre las prácticas de prescripción de antimicrobianos, tanto en la medicina humana como en la veterinaria y en la agricultura, es insuficiente para establecer estrategias puntuales y disminuir el problema de resistencia. Se mencionan varios factores como la calidad de los antimicrobianos, la venta libre de los mismos (hasta agosto de 2010) o la disponibilidad de medicamentos “similares”, entre otros, que propician que México sea un lugar ideal para la selección de microorganismos cada vez más resistentes. Antes de utilizar un nuevo antibiótico se ha olvidado un recurso que consiste en el tratamiento combinado con diversos antimicrobianos para obtener el efecto sinérgico⁸⁵.

Las modificaciones en los esquemas empíricos son necesarias cuando se detectan microorganismos resistentes a múltiples fármacos, requieren de una vigilancia estrecha y un plan anticipado de opciones, alternativas y criterios de prescripción ante la posible selección de clones resistentes⁸⁵.

La posibilidad de que un síndrome séptico sea de etiología estafilocócica debe plantearse en presencia de cualquiera de las siguientes circunstancias:

a) Existencia de determinadas comorbilidades (diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica en programa de diálisis, dermatopatía crónica y/o extensa, adicción a drogas por vía parenteral); b) Origen de la infección en un catéter venoso, piel y partes blandas, material protésico, osteomielitis, artritis, endocarditis aguda o neumonía nosocomial tardía asociada a ventilación mecánica; c) Evolución del foco primario o metastásico hacia la necrosis o supuración con formación de abscesos o aparición de metástasis sépticas, y d) Presencia de cocos grampositivos en la coloración de Gram de muestras del foco séptico. En cada uno de estos casos, hay que considerar la conveniencia de iniciar tratamiento antimicrobiano empírico activo frente a *S. aureus*. Otra circunstancia en la que ha de plantearse la indicación de tratamiento empírico antiestafilocócico es la sepsis grave o el shock séptico en ausencia de datos que permitan orientar su etiología o descartar razonablemente la participación de *S. aureus*. En infecciones leves, como un absceso cutáneo o celulitis de extensión reducida y sin repercusión sistémica, como alternativa a los betalactámicos cabe considerar el empleo por vía oral de clindamicina, cotrimoxazol, doxiciclina o linezolid. La elección depende de las tasas locales de resistencia a estos antimicrobianos⁸⁶.

En el tratamiento antibiótico de la infección estafilocócica cuya valoración es primordial para decidir la pauta de tratamiento más apropiada. Se trata, por un lado, del análisis de los principios de farmacodinamia aplicados a los antibióticos activos frente a *S. aureus* resistente a la metilicina (SARM) y, por otro, de la consideración de una serie de peculiaridades de la infección estafilocócica que influyen notablemente en las decisiones terapéuticas, en el sentido de determinar el antibiótico de elección⁸⁶.

En los últimos años, se ha observado un incremento en la resistencia de *Staphylococcus aureus* a los diferentes antibióticos usualmente empleados para el tratamiento de las infecciones sistémicas y en piel, y de particular importancia. La resistencia antibiótica se le ha atribuido al uso inadecuado y excesivo de los antimicrobianos⁵⁹.

Para el tratamiento antimicrobiano se recomienda en los siguientes casos:

- Enfermedad grave o diseminada (por ejemplo, con múltiples sitios de infección) o progresión rápida de la infección y celulitis asociada.
- Comorbilidad asociada o inmunosupresión (diabetes mellitus, infección por VIH/SIDA, neoplasias).
- Signos y síntomas de infección sistémica.
- Extremos de la vida.
- Abscesos en lugares de difícil acceso para drenaje.
- Flebitis séptica asociada.
- Falta de respuesta al drenaje inicial ⁸⁵

El tiempo de tratamiento varía de acuerdo con la respuesta del paciente, pero en general es de 7 a 14 días. En los casos de endocarditis o bacteremia complicada el tiempo de tratamiento se prolonga de 4 hasta 6 semanas. En pacientes que cursan con bacteremia, es recomendable tomar hemocultivos de control a los 2-4 días del inicio del tratamiento para verificar la curación microbiológica⁸⁵.

Sin embargo, es aconsejable prescribir tratamiento antibiótico si el paciente lleva una prótesis valvular cardíaca o tiene otra condición que predisponga a endocarditis, si existe celulitis alrededor de la lesión, datos clínicos de afección sistémica, dificultad para realizar un drenaje completo, edad avanzada o comorbilidad (diabetes, cirrosis hepática, insuficiencia renal crónica). Puede utilizarse clindamicina 300 mg/8 h, cotrimoxazol 800/160 mg/12 h o doxiciclina 100 mg/12 h, por vía oral. No se han publicado estudios comparativos que demuestren la superioridad de cualquiera de estos antibióticos sobre los demás⁸⁶.

Brevemente, en el caso de abscesos cutáneos, la incisión y drenaje debe ser el tratamiento primario. En caso de abscesos más extensos o asociados a cuadros de celulitis, sepsis, presencia de diabetes u otras comorbilidades, edades extremas de la vida, entre otros, se recomienda utilizar terapia antimicrobiana. Para pacientes que serán manejados de manera ambulatoria con celulitis purulenta, los antimicrobianos que se pueden utilizar como terapia empírica por vía oral son: clindamicina, cotrimoxazol, tetraciclina (doxiciclina o minociclina) y linezolid. En caso de celulitis no purulenta, en la que se sospeche de una infección por streptococo β -hemolítico y se intente cubrir ambas opciones, clindamicina sola o cotrimoxazol/ tetraciclina asociada a un β -lactámico sería lo indicado. En caso

de que el paciente presente una infección de piel y partes blandas severa que requiera ser hospitalizado, los antimicrobianos que pueden usarse por vía endovenosa son vancomicina, linezolid, clindamicina, daptomicina o telavancina⁸³.

El manejo antimicrobiano es vital para los pacientes con infecciones estafilocócicas; aunque para el tratamiento puede usarse una amplia gama de agentes, la mayoría de los estafilococos son capaces de adquirir y usar uno o más de los mecanismos de resistencia. Últimamente se sabe que las penicilinas resistentes a la penicilinas, como la meticilina, la nafcilina, o la oxacilina, son la base del tratamiento antiestafilocócico, pero la resistencia es frecuente⁶¹.

Con objeto de consensuar las pautas de tratamiento de una infección cada vez más frecuente y a menudo grave que, en el curso de los últimos 5 años, ha experimentado cambios importantes, en aspectos que determinan la elección del antibiótico. Los cambios aludidos abarcan:

- ✓ La aparición de cepas de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) adquiridas en la comunidad, sin ninguna relación con las cepas de origen nosocomial y con un comportamiento clínico en cierto modo peculiar;
- ✓ La evolución del patrón de resistencia de SARM nosocomial hacia la recuperación de la sensibilidad a varios antibióticos no betalactámicos (aminoglucósidos, rifampicina y, clindamicina, entre otros);
- ✓ El progreso en la comprensión de los parámetros de farmacocinética/farmacodinamia (FC/FD) que rigen la eficacia de los antimicrobianos;
- ✓ La implementación en los laboratorios de microbiología de técnicas para la identificación rápida de SARM en muestras clínicas; La introducción en terapéutica de nuevos antibióticos activos frente a SARM y
- ✓ La experiencia clínica con el empleo de vancomicina en infecciones por SARM adquirida en los estudios de fase III realizados con los nuevos antibióticos⁸⁶.

La potencial gravedad de la infección por *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) tratada de forma incorrecta o tardía y el riesgo de incrementar las resistencias cuando se emplean pautas de tratamiento subóptimas. En su elaboración no se ha contemplado el papel de antibióticos de próxima aparición, porque los conocimientos sobre farmacocinética/farmacodinamia (FC/FD) y toxicidad y la experiencia clínica, son todavía escasos y muy preliminares. Tampoco se analizan las posibles pautas de descolonización ni de profilaxis quirúrgica⁸⁶.

Tan importante como la elección del antibiótico apropiado para el éxito del tratamiento de la bacteremia, son la remoción del foco de origen de la bacteremia, el retiro de los cuerpos extraños y el drenaje de todas las colecciones supurativas o de tejidos desvitalizados. Varios estudios han demostrado que los casos en que se presenta bacteriemia asociada a un foco no erradicado, no identificable o con demora en retirarlo, se presenta mayor morbimortalidad ⁶⁸.

El uso inadecuado de los antibióticos se ha señalado como uno de los factores principales en la aparición de cepas resistentes, por lo que una de las estrategias para prevenir su aparición es el uso prudente de los mismos. La aparición y diseminación de la resistencia antibiótica es en gran parte responsabilidad de los trabajadores de la salud; por este motivo, es importante que todos ellos conozcan el problema y tomen conciencia para contener este grave problema. La solución para el control de la resistencia de *S. aureus* es multifactorial. Es importante hacer énfasis en la aplicación de estrategias de prevención de la diseminación de las cepas resistentes, entre las cuales se mencionan: 1) Las medidas de aislamiento, que han demostrado ser efectivas en las diferentes instituciones, y 2) El lavado de manos, que ha demostrado ser eficaz en prevenir la transmisión de microorganismos de persona a persona ⁶⁸.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO-RESISTENTE (SAMR)

Una de las bacterias patógenas que actualmente constituye el principal motivo de preocupación es el *Staphylococcus aureus*, un microorganismo aislado comúnmente en infecciones intrahospitalarias. Por su magnitud y extensión, la emergencia de cepas intrahospitalarias con elevada resistencia debe ser combatida. Uno de los elementos más importantes de lucha lo constituye la vigilancia microbiológica de la resistencia a los antibióticos, información que se obtiene de los datos que aporta el laboratorio de microbiología ⁸⁷.

En 1968 fue reportado el primer brote producido por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (SARM o mRSA por siglas en inglés) en la ciudad de Boston. Dicho microorganismo continuó aumentando lentamente con el tiempo, hasta que los médicos se percataron de su significativa virulencia y resistencia a los antibióticos durante las décadas de los 80 y 90, lo que obligó al uso de otros fármacos más potentes como la vancomicina, frente a la cual comenzó a aparecer resistencia incipiente ⁸⁸.

La resistencia a metilina quedó como un referente nominal tanto a nivel clínico como de laboratorio, a pesar de que la metilina no se usa ni a nivel clínico ni a

nivel de laboratorio para documentar la resistencia a la misma. Lo que es importante enfatizar para el clínico, es que el *S. aureus* meticilino-resistente (SAMR) indica que ningún beta-lactámico con actividad antiestafilocócica (dicloxacilina, cefalosporinas de 1a-2a generación, carbapenémicos, etc.), tienen acción contra dicho agente. Ahí radica la importancia de conocer si la cepa de SAMR es de adquisición comunitaria u hospitalaria, ya que tiene implicaciones clínicas, de resistencia y de elección antimicrobiana⁷⁰.

El número de infecciones estafilocócicas, tanto a nivel comunitario como nosocomial, ha aumentado en los últimos 20 años, así como también, han aumentado en forma significativa a nivel mundial las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR)⁷⁸.

Actualmente, las cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (MRSA) son un problema de salud pública a nivel mundial, siendo MRSA hospitalario (MRSA-HA) la causa más común de infección nosocomial reportada, transformándose en endemia en la mayoría de los hospitales de EE.UU. y del mundo entero. Recientemente ha emergido en la comunidad MRSA de origen comunitario en personas sin factores de riesgo conocidos; se denomina MRSAcom para diferenciarlo del hospitalario, y difiere molecularmente dado que posee:

1. Gen de Panton-Valentine-Leucidina (PVL), que produce una toxina extracelular que destruye leucocitos y causa necrosis tisular, lo que le confiere mayor virulencia,
2. Resistencia heterogénea a meticilina, que determina alguna dificultad en el diagnóstico in vitro.
3. Susceptibilidad a múltiples antibióticos no betalactámicos.
4. Gran diversidad clonal, dada por el gen *mecA* de resistencia, en elemento genético móvil denominado Cassette cromosómico estafilocócico *mec* tipo IV, diferente al que poseen las cepas de MRSA-HA (CCS I-II-III)⁸⁴.

La gravedad de la infección por MRSA-com radica en que de no mediar una antibioticoterapia adecuada y rápidamente instituida puede evolucionar a formas graves, sistémicas y en ocasiones mortales en personas inmunocompetentes sin factores de riesgo conocidos. Es por esto, que creemos importante evaluar la presencia de MRSA-com en la comunidad, a modo de vigilancia epidemiológica⁸⁴.

Las infecciones por SAMR adquiridas en la comunidad (SAMR-c) han sido informadas desde comienzos de la década de 1980 en EE.UU., Europa y Australia, y se asocian con la existencia de factores de riesgo similares a los

señalados. Sin embargo, diversos informes han advertido recientemente acerca de que la frecuencia de infecciones por SAMR-c está en aumento, y esto ocurre, de manera preferencial, en personas que no presentan los factores de riesgo clásicos, especialmente en niños. Este hecho ha llevado a la creciente especulación de que la epidemiología de las infecciones por SAMR en la comunidad está cambiando en los últimos años ⁸⁹.

Recientemente se ha informado un nuevo factor de virulencia los péptidos modulina soluble en fenol (PSM), con capacidad para aglutinar, activar y lisar neutrófilos humanos, bloqueando de esta manera la primera línea de respuesta inmune celular contra estas infecciones. La identificación de las cepas MRSAcom es de suma importancia para el abordaje terapéutico adecuado de las infecciones y disminuir la elevada mortalidad, así mismo para la implementación de medidas de control que impidan su propagación⁷⁶.

Desde finales del pasado siglo XX, el SARM se ha convertido en un reto para los médicos, pero en este siglo constituye una inminente amenaza para la población general y su peligro va en aumento. De hecho, se considera a este germen como un problema de salud mundial. Por lo tanto, el diagnóstico e identificación de este microorganismo reviste gran importancia para orientar una adecuada antibioticoterapia, dado lo complejo que resulta su manejo⁸⁸.

➤ **EPIDEMIOLOGÍA**

A partir de la década de los 80 se ha incrementado el número de bacteremias producida por *S. aureus*, tanto adquiridas en la comunidad como hospitalarias, fenómeno explicado por el aumento de la supervivencia de la población general, el aumento de enfermedades subyacentes, la aparición de ciertos hábitos sociales (uso de drogas endovenosas) e, incluso, la aplicación de los avances tecnológicos y terapéuticos en la medicina, especialmente el uso de dispositivos intravasculares. Según el lugar de adquisición de la bacteremia por *S. aureus* se encuentra que 17% a 49% se originan en la comunidad, 51% a 83% son hospitalarias y 30% a 38% están asociadas con trabajadores de la salud. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) es más frecuente en la bacteriemia hospitalaria, con tasas que varían de acuerdo con la localización geográfica⁶⁸.

Existen múltiples opciones terapéuticas por considerar en el tratamiento de la bacteremia por *S. aureus*. Sin embargo, con el problema creciente de la resistencia a los antibióticos es fundamental recordar los principales mecanismos

reconocidos en *S. aureus*, con el fin de seleccionar más racionalmente el uso de antibióticos en esta entidad clínica⁶⁸.

Staphylococcus aureus es un patógeno complejo causante de infecciones en diversos órganos y con un alto impacto epidemiológico, principalmente a nivel hospitalario, lo cual se refleja en elevadas tasas de morbilidad, la importancia de la infección nosocomial por *S. aureus* meticilino resistente (SAMR) está ampliamente reconocida, tanto por la dificultad que plantea el tratamiento de estas infecciones, como por los problemas de control epidémico⁵⁸.

SAMR fue aislado por primera vez en un cultivo en 1961, 2 años después de la introducción de la meticilina como tratamiento en la práctica clínica. Esto inicialmente ocurría en hospitales del nivel terciario, pero el SAMR se encuentra cada vez con más frecuencia en la comunidad. La primera infección de la comunidad por SAMR, fue reportada en 1980 en Estados Unidos, existiendo ciudades de ese país en que más del 50% de las infecciones estafilocócicas de la comunidad son producidas por SAMR⁷⁸.

Las infecciones nosocomiales son una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Constituyen un serio problema en las unidades hospitalarias, donde este fenómeno se ha acelerado en gran medida debido a las malas prácticas de prevención y por la utilización intensiva de antimicrobianos como consecuencia de la falta de políticas de racionalización de su uso o, cuando existen, de la ineficacia de dichas políticas. Esto se evidencia por el aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* procedentes de infecciones intrahospitalarias con un incremento considerable del porcentaje de resistencia antimicrobiana, no sólo a los antibióticos de primera línea, sino también al resto. De ahí la importancia de contribuir al conocimiento de tal fenómeno en esta área a través de la detección temprana y oportuna de estas infecciones y la generación de información confiable para el uso racional de los antimicrobianos, lo cual formaría parte de la posible solución, ya que el desconocimiento de la prevalencia de la resistencia favorece la acentuación del problema⁸⁷.

Los factores de riesgo para la colonización o infección intranosocomial por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SAMR) han sido ampliamente descritos, e incluyen, entre otros, la exposición previa a antibióticos, la admisión a una unidad de cuidados intensivos, la cirugía, el uso de catéteres venosos centrales y la exposición a un paciente colonizado por SAMR. B Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SAMR) adquiridas en la comunidad (SAMR-c) han sido informadas desde comienzos de la década de 1980 en EE.UU., Europa y Australia, y se asocian con la existencia de factores de

riesgo similares a los señalados. Sin embargo, diversos informes han advertido recientemente acerca de que la frecuencia de infecciones por SAMR-c está en aumento, y esto ocurre, de manera preferencial, en personas que no presentan los factores de riesgo clásicos, especialmente en niños. Este hecho ha llevado a la creciente especulación de que la epidemiología de las infecciones por SAMR en la comunidad está cambiando en los últimos años⁸⁹.

Debido al comportamiento descrito en los hospitales (incremento de la resistencia de 2 a 64% en 30 años) se teme que la diseminación se lleve a cabo eficientemente y se convierta en un problema grave de salud pública en este siglo. La alarma se suscitó al encontrar un mayor número de infecciones graves de la piel y de los tejidos blandos entre niños y adultos jóvenes sin factores de riesgo⁸⁵.

De acuerdo con los registros, durante 2005 fallecieron en Estados Unidos 18 650 personas en hospitales debido a infecciones graves por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM); se consideró que en 14% de los casos no hubo un antecedente de atención hospitalaria o algún factor de riesgo en el hospedero que explicara la presencia de la infección⁸⁵.

➤ PREVALENCIA

La prevalencia actual de cepas MRSA está sujeta a variaciones geográficas. Por ejemplo, en Europa se tienen porcentajes elevados, como un 58% en Italia y 54% en Portugal, mientras que en Japón se tiene un 70%. Por otro lado, los países escandinavos tienen un porcentaje muy bajo de cepas MRSA, alrededor del 1%⁶³.

El uso inadecuado de los antibióticos ha aumentado dramáticamente la resistencia a los mismos en la mayor parte del mundo, originando la aparición de microorganismos con mecanismos de resistencia más complejos, lo cual constituye un problema de salud pública de creciente importancia. En la actualidad es de gran interés el aumento de la resistencia a la meticilina en esta especie bacteriana, conociéndose a estas cepas como *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM); esta bacteria ha llegado a convertirse en un gran problema epidemiológico comunitario y nosocomial. Más aun cuando se tiene evidencia de que algunos aislamientos SARM pueden ser resistentes a otros antibióticos como son las tetraciclinas, cloranfenicol, lincosamidas, macrólidos, aminoglucósidos e incluso las quinolonas. Por otro lado, la importancia del *Staphylococcus aureus*, en especial de las cepas SARM, radica en la capacidad de producir colonizaciones intermitentes (niños, 10-40 % y adultos, 30 %); siendo el sitio más común, la

cavidad nasal, las cuales pueden progresar a infecciones con distintos grados de severidad⁹⁰.

Anteriormente, las infecciones por SARM eran adquiridas principalmente en hospitales (SARM-AH), por pacientes que presentaban algunos de los factores de riesgo descritos en la literatura. Pero se ha demostrado que en lugares extrahospitalarios existe la posibilidad de encontrar individuos que actúan como reservorios de la cepa con patrón comunitario o asociado a la comunidad (SARM-AC)⁹⁰.

En México existe un número limitado de estudios sobre la prevalencia de cepas MRSA. De acuerdo a algunos estudios realizados, se ha visto que la prevalencia de cepas MRSA se ha incrementado rápidamente en los hospitales durante los últimos años. Se estima que ha cambiado del 7% al 30%. En 1993, en el Hospital General de León, Guanajuato, se identificó una resistencia a la meticilina del 24%. Así mismo, en el Hospital Civil de Guadalajara, se obtuvieron resultados que indicaron un incremento en las cepas MRSA del 7% en 1989 al 20% en 1998. Sin embargo, en un estudio realizado en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional, Siglo XXI-IMSS, se encontró que la frecuencia de cepas MRSA varió del 17% al 23% de 1997 a 2001. En 2002 bajó al 4% y en 2003 se tenía un 0%. Esta disminución se debió probablemente a la implementación de un comité de control de infecciones en el hospital⁶³.

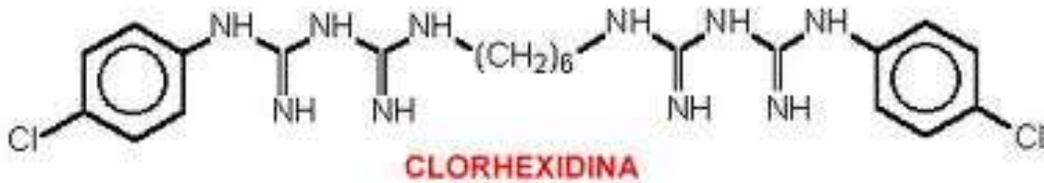
Ha emergido en la comunidad con características clínicas, bacteriológicas y epidemiológicas distintas de las que presenta a nivel nosocomial. Los aislamientos nosocomiales de SARM son usualmente resistentes a múltiples clases de antimicrobianos *in vitro*. Es preocupante su emergencia y rápida extensión; esto ha originado nuevos retos para su prevención y control en instituciones de salud⁸⁰.

Existe una relación directa entre el uso de antimicrobianos y la diseminación de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) en los hospitales. La aparición de fenotipos de resistencia bacteriana se liga con el uso clínico de agentes antimicrobianos a los cuales la bacteria expresa resistencia. La prevalencia de SARM ha estado incrementándose en los hospitales mexicanos durante los últimos años. De acuerdo con diferentes estudios realizados en 1980, 1990 y 2000, se estimó que la prevalencia de SARM en hospitales mexicanos varía de 7 a 30%⁸⁰.

En la década del 90, se comenzó a observar un aumento internacional en la frecuencia de aislados de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (SAMR) no multi-resistente en niños y adultos con infecciones adquiridas en la comunidad. Su

aparición se ha asociado, no sólo con infecciones de piel y tejidos blandos, sino con infecciones invasoras, con elevada morbi-mortalidad. Estas nuevas cepas de *S. aureus* contienen información genética diferente y su importancia clínica radica en su capacidad invasora y la ausencia de respuesta a los antibacterianos β -lactámicos. En forma característica, las infecciones por este agente pueden ocurrir en pacientes previamente sanos, sin los clásicos factores de riesgo descritos en las infecciones hospitalarias por SAMR. Pueden producir lesiones piógenas necrosantes en piel, tejido subcutáneo, huesos y pulmones, y se asocian con riesgo elevado de secuelas y muerte. A diferencia de las cepas hospitalarias, SAMR adquirido en la comunidad generalmente es susceptible a diferentes antibacterianos no β -lactámicos. Estas nuevas cepas están particularmente adaptadas para sobrevivir en el ambiente comunitario⁹¹.

CLORHEXIDINA



ANTECEDENTES

Un factor importante a tener en cuenta para establecer una política de uso de desinfectantes y antisépticos, es la estandarización de métodos de control de calidad de estos productos de acuerdo con la naturaleza, el estado físico de las sustancias y el uso al que están destinadas. La capacidad bactericida es un parámetro importante para definir una política adecuada con el objetivo de disminuir el consumo y los gastos para lograr una mayor eficiencia. La determinación de la capacidad bactericida de una sustancia es un tema complejo y sujeto a polémicas; así, a pesar del gran número de pruebas utilizadas, algunos métodos adolecen de muchos defectos y los procedimientos de ensayo están apenas normalizados⁹².

En la actualidad se ha obtenido un avance considerable en la comprensión de la respuesta de las bacterias a los bactericidas. La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo (intrínseca) o conseguida por mutación o adquisición de plásmidos (autorreplicación, ADN extracromosómico) o transposones (cromosomal o integrado en plásmidos, cassettes de ADN transmisibles). Los genes de resistencia naturales en plásmidos, se originan como mutaciones puntuales en los genes blanco (sitios de inserción de los genes de resistencia) de bacterias susceptibles y también de genes que les proveen protección contra otras bacterias. La resistencia intrínseca se ha demostrado para bacterias gramnegativas, esporas bacterianas, micobacterias y bajo ciertas condiciones en especies del género *Staphylococcus*⁹³.

La piel representa una barrera notablemente eficaz contra las infecciones microbianas, es colonizada normalmente por un gran número de organismos que viven inofensivamente como comensales sobre la superficie cutánea. Cuando se produce una disrupción de la superficie de la piel, sea accidental o intencionalmente, el lecho de la herida o lesión puede verse invadida por bacterias autóctonas de la piel o no habituales en ella, comenzando así un

proceso que puede derivar en una infección clínicamente establecida. Las observaciones han demostrado que muchas heridas epidermales superficiales usualmente curan sin mayores complicaciones, lo que sugiere la existencia de un mecanismo antimicrobiano funcional durante la curación de heridas que es la presencia en la piel humana normal o lesionada de péptidos antimicrobianos que tienen actividad microbicida. Estas defensinas inducen regeneración epidermal de la herida, sugiriendo que la actividad de los queratinocitos en respuesta a la pérdida de la función barrera epidermal involucra la inducción de un mecanismo antibiótico intrínseco; sin embargo, este factor por sí solo no es suficiente para cumplir la función protectora antimicrobiana, lo que conlleva al uso de agentes microbicidas de aplicación tópica para la prevención de las infecciones de las heridas².

Desde mediados del siglo pasado, se han utilizado sustancias químicas aplicadas en la piel, con la finalidad de evitar las infecciones. El cloruro de mercurio fue usado por los médicos árabes, en la edad media, para prevenir la sepsis en heridas abiertas. En 1777 comenzó a utilizarse el sulfato de cobre como conservador y en 1815, el cloruro de zinc. Sin embargo, no fue hasta la centuria decimonovena, que los antisépticos empiezan a usarse en medicina. La soda calcinada, esencialmente el hipoclorito, fue introducida en 1825 para el tratamiento de las heridas infectadas. La tintura de Yodo fue introducida en 1839. Desde 1850, el permanganato de potasio se comenzó a usar como antiséptico².

A mediados del siglo XIX, la sepsis postoperatoria era responsable de la muerte de la mitad de los pacientes sometidos a una cirugía menor. El reporte más común de los cirujanos era que “la operación había sido exitosa, pero que el paciente había muerto”. En 1839, Justin von Liebig (químico) sostuvo que la sepsis era una especie de combustión causada por la exposición de los tejidos húmedos al oxígeno, y por esta razón se consideraba que la mejor forma de prevenirla era evitando que el aire entrara a la herida. Joseph Lister había observado esas heridas infectadas y consideraba que la sepsis de las heridas era más bien una especie de descomposición².

En 1865, Louis Pasteur sugirió que la descomposición era causada por microorganismos en el aire que al ponerse en contacto con la materia la fermentaban. Lister acogió esa teoría y reconoció que sus ideas acerca de la sepsis eran totalmente compatibles con estos microorganismos. Por esta razón los microorganismos debían ser destruidos antes de que entraran a la herida. Los agentes pioneros de los antisépticos generalmente no fueron aceptados en las publicaciones de Pasteur, sino hasta 1863, cuando se reconoció el origen microbial de la putrefacción².

Sommelweis, en 1847, introdujo la práctica del lavado de las manos con compuestos clorinados. Joseph Lister (1827- 1912), años después, amplió el uso a soluciones fenólicas, tanto para el lavado de las manos como para el lavado de la piel de los pacientes, de la ropa y del instrumental usado. Una solución al 2.5 % fue usada para vendaje de heridas y a doble concentración para esterilizar instrumentos. Estos conceptos basados inicialmente en la observación y posteriormente en los conceptos microbiológicos, lograron un impacto importante en la prevención de las infecciones intrahospitalarias, y abrió el camino para el gran avance en la cirugía. A pesar del amplio uso en la actualidad de los antimicrobianos, no se ha eliminado el uso de los antisépticos y desinfectantes, al contrario se ha perfeccionado las fórmulas de aquellas sustancias químicas como el yodo y otros más recientes como la Clorhexidina. En general, el mecanismo de acción de los antisépticos y desinfectantes depende de tres mecanismos básicos: (1) Capacidad de coagular y precipitar proteínas, (2) Alterar las características de permeabilidad celular y (3) toxicidad o envenenamiento de los sistemas enzimáticos de las bacterias, que a su vez dependen del grupo químico. Éstos pueden producir la muerte o inhibición celular de las bacterias por oxidación, hidrólisis o inactivación de enzimas, con pérdida de los constituyentes celulares².

Entre los antimicrobianos locales utilizados para realizar el control de placa se encuentran los enjuagues bucales, los cuales son soluciones hechas a base de antisépticos, que se usan después del cepillado dental para disminuir el número de bacterias. El Council on scientific affairs de la American Dental Association (ADA) implementó un programa de aceptación de sustancias de control de placa. 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 controles⁹⁴.

En la actualidad existen los agentes antimicrobianos, llamados colutorios, que inhiben químicamente la formación o proliferación de la placa. Entre estos está la clorhexidina al 0.12 %, como el agente más utilizado en el medio dada su eficacia en la eliminación de microorganismos; desafortunadamente presenta efectos secundarios adversos, como disgeusia y tinción dental, razones que limitan su utilización⁹⁵.

Los productos cuyo compuesto base es el Gluconato de Clorhexidina (GC) están muy difundidos para la prevención de las infecciones asociadas al cuidado de la salud (IACS). En la reducción de la contaminación del sitio quirúrgico y de bacteremias, se ha intentado principalmente, demostrar que el GC es de gran utilidad. Por otro lado, el control del *Staphylococcus aureus* resistente a la

Meticilina (SAMR) es otra de las grandes preocupaciones dentro del cuidado de la salud ⁹⁶.

BIGUANIDAS

Las biguanidas son principios activos que poseen un amplio espectro de actividad antibacteriana, pero su acción como fungicida y virucida es bastante limitada. Se incluyen en este grupo la clorhexidina, alexidina y las biguanidas poliméricas. Estos compuestos funcionan a un pH determinado, entre 5 y 7 para la clorhexidina y alexidina y entre 5 y 10 en el caso de las biguanidas poliméricas. Todos son incompatibles con los detergentes aniónicos y los compuestos inorgánicos. Clorhexidina es el representante más característico de las biguanidas. Constituye uno de los tres antisépticos quirúrgicos más importantes y es el antiséptico bucal que más se usa actualmente. Esto es debido en particular a su eficacia y amplio espectro de actividad, su sustentabilidad para la piel y baja irritación².

La clorhexidina es un antiséptico y desinfectante biguanídico con acción frente a una amplia gama de bacterias grampositivas y gramnegativas, anaerobios facultativos, aerobios y levaduras ⁹⁷.

La resistencia bacteriana a los biocidas fue descrita en las décadas de 1950 y 1960 y ha ido en aumento. Ciertos biocidas como alcoholes, formaldehídos, biguanidas, yodoforos, aldehídos y agentes catiónicos como los compuestos de amonio cuaternario (CUAs), la clorhexidina y el triclosán se han comprometido como posibles causantes de la selección y persistencia de cepas bacterianas con bajo nivel de resistencia a los antibióticos ⁹³.

La clorhexidina fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos que realizaban un estudio sobre la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel. En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia fue el realizado por Løe y Schiott en 1970, donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0.2% en ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis ⁹⁸.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

El gluconato de clorhexidina es una sal de clorhexidina y ácido glucónico. Es una bisguanida de naturaleza catiónica, por lo que tiene afinidad por la pared celular de los microorganismos, que está cargada negativamente, alterándola. Tiene actividad antibacteriana de amplio espectro siendo activa frente a microorganismos Grampositivos y Gramnegativos, hongos, dermatofitos y algunos virus. Es bactericida a concentraciones altas y bacteriostática a bajas concentraciones. No produce cambios en las resistencias bacterianas ni sobrecrecimiento de microorganismos oportunistas. Previene la formación de placa, rompiendo la placa existente e inhibiendo la gingivitis. Debido a su estructura catiónica, su actividad se ve reducida en presencia de agentes aniónicos como son los detergentes de los dentífricos, debiendo esperar 30 minutos para realizar el enjuague tras el cepillado dental, lo cual dificulta su correcto uso. El 30% de la clorhexidina se retiene en la boca, unida a proteínas salivares y es liberada lentamente durante 8-12 horas en forma activa⁹⁹.

Es muy soluble en agua y alcohol, por lo que es en la práctica el producto más utilizado. Su estabilidad es buena a temperatura ambiente y a un pH comprendido entre 5 y 8, pero muy inestable en solución. Necesita ser protegido de la luz. Con el calor se descompone en cloroanilina, en presencia de materia orgánica se inactiva fácilmente. El sitio de acción primario de la clorhexidina es la membrana citoplasmática, dando como resultado la modificación en la permeabilidad, debido a la interacción electrostática con los fosfolípidos ácidos. Se ha demostrado que la absorción por difusión pasiva a través de las membranas es extraordinariamente rápida tanto en las bacterias como en las levaduras, consiguiéndose un efecto máximo en 20 segundos. A bajas concentraciones produce una alteración de la permeabilidad osmótica de la membrana y una inhibición de las enzimas del espacio periplasmático. A concentraciones altas origina la precipitación de las proteínas y ácidos nucleicos. Su combinación con el alcohol incrementa la eficacia de esta sustancia. Las ventajas que justifican el empleo de la clorhexidina son la acción germicida rápida y su duración prolongada, gracias a que ésta sustancia tiene gran adhesividad a la piel y buen índice terapéutico. Su uso es seguro incluso en la piel de los recién nacidos y la absorción a través de la piel es mínima².

INDICACIONES TERAPÉUTICAS

La Clorhexidina tiene los siguientes beneficios:

- ✓ Acción bactericida rápida.
- ✓ Actividad residual duradera, entre 6 y 8 horas.
- ✓ Reducción rápida del número de bacterias de la piel.
- ✓ Efecto antiséptico prolongado.
- ✓ Amplio espectro de actividad.
- ✓ Activa en presencia de materia orgánica.
- ✓ Ayuda a prevenir la contaminación cruzada.

La clorhexidina provee un efecto residual con el cual se previene el crecimiento microbiano por 29 horas. No debe mezclarse con otros antisépticos, ya que puede precipitarse. La clorhexidina se usa a diferentes concentraciones. En antisepsia de la piel se emplea en solución acuosa al 4% con base detergente para el lavado corporal prequirúrgico del paciente y lavado de las manos prequirúrgico, en solución acuosa al 5% para antisepsia del campo quirúrgico, sobre heridas a la concentración de 0.1% o 0.5% en solución acuosa. Además se puede emplear en ginecología y quemaduras².

La clorhexidina se define como un agente antimicrobiano utilizado como antiséptico. Suele presentarse como digluconato de clorhexidina, ya sea en colutorio, gel, spray o barniz. Ha demostrado ser eficaz en la prevención de la caries, la gingivitis y el control de placa, así como en pacientes periodontales después de realizar raspado y alisado radicular, en el tratamiento de estomatitis protésica y candidiasis y en cirugía periodontal¹⁰⁰.

MECANISMOS DE ACCIÓN

La Clorhexidina es ampliamente activa contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, anaerobias facultativas y aerobias, y, en menor medida, contra hongos y levaduras. Tiene escasa actividad contra Mycobacterium tuberculosis y no es esporicida. Una de sus características más sobresalientes es su actividad in vitro contra virus encapsulados, tales como el herpes simple, el VIH, el citomegalovirus, el de la influenza y el virus sincitial respiratorio, aunque presenta menor actividad contra virus no encapsulados. Otra aplicación efectiva de la clorhexidina para prevenir infecciones del sitio operatorio, especialmente por Staphylococcus aureus, es la descolonización de portadores asintomáticos, los cuales presentan mayor riesgo de infecciones por este patógeno. Por el contrario, otros autores han

encontrado que los enjuagues bucales con clorhexidina al 0.2 % en pacientes con trauma hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos, si bien disminuían el número total de *S. aureus* en la placa dental. Aproximadamente, 20 a 30 % de las infecciones del sitio operatorio son causadas por *S. aureus* y más de la mitad se origina en la flora endógena. Los portadores nasales de altos números de *S. aureus* tienen un riesgo de infección asociada a la atención en salud con este microorganismo, de 3 a 6 veces mayor que el de individuos con bajos números o no portadores. Puesto que *S. aureus* es un patógeno de gran virulencia, el lavado corporal total y la eliminación de la colonización nasal se están estudiando para reducir el número de infecciones por este microorganismo ¹⁰¹.

En el 2010, Batra et al. introdujeron un protocolo antiséptico en un hospital de Londres, en el que a los pacientes con infección por *S. aureus* resistente a la meticilina se les aplicaba gluconato de clorhexidina al 1 % en las fosas nasales, alrededor de la boca y en los sitios de traqueostomía cuatro veces por día; además, se les aplicaba acetato de clorhexidina en polvo al 1 % en las axilas, las ingles y los pliegues cutáneos cada día y eran lavados una vez al día con clorhexidina al 4 % aplicada con una compresa húmeda. El resultado fue una reducción inmediata de 70% en la adquisición de cepas de *S. aureus* resistente a la meticilina. En otros ensayos clínicos de asignación aleatoria, también se ha demostrado que el lavado corporal total con clorhexidina reduce la colonización en la piel por *S. aureus* resistente a la meticilina, aunque en algunas ocasiones parece que es necesario combinar con otras medidas ¹⁰¹.

Durante la Práctica Odontológica tanto en las clínicas Universitarias de Odontología como del sector salud y en consulta privada, se están utilizando diversos antisépticos, sin embargo a pesar de que existe información sobre estos, ésta no ha sido clara ni explícita sobre la concentración a la cual surten el mejor efecto antibacteriano. Por lo que la efectividad de éstos debe ser más estudiada y de manera periódica ya que hoy por hoy las bacterias se están volviendo tolerantes y/o resistentes a diversas sustancias químicas a las que antes eran susceptibles⁵².

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

El gluconato de clorhexidina es una solución relativamente no tóxica, posee amplio espectro antibacteriano y efecto antibacteriano residual, no afecta el comportamiento de los cementos selladores a corto ni a largo plazo; sin embargo, a diferencia del hipoclorito de sodio, no tiene la capacidad de disolver tejidos. La actividad antibacteriana de esta solución comprende un amplio espectro de microorganismos incluyendo *E. Faecalis* y el *C. Albicans* sin embargo, para lograr

el efecto letal contra estos microorganismos la concentración debe ser cuando menos al 1% preferentemente al 2%¹⁰².

Actúa a nivel de las membranas citoplásmicas generando la liberación de los componentes y la inmediata muerte celular. Presenta buena actividad in vitro frente a virus con envuelta (VIH, Herpesvirus, Influenza, VRS); la actividad es mucho más pobre frente a virus sin envoltura (Rotavirus, Enterovirus, Adenovirus) y no tiene actividad esporicida. La presencia de materia orgánica, incluida la sangre, no altera sus propiedades microbicidas. Se ha incorporado a multitud de jabones estableciéndose que la concentración de clorhexidina debe estar en torno al 2-4% para que sea útil. Se evitará que las soluciones de clorhexidina entren en contacto con los ojos, y no se utilizarán para cirugía sobre el oído medio o interno ya que son ototóxicas. Así mismo se evitará el contacto con tejido cerebral y meninges. La clorhexidina irrita la piel en función de su concentración: los productos al 4% causan dermatitis si se usan con frecuencia. Son raras las alergias a la clorhexidina¹⁰².

Entre las principales propiedades para su aplicación se destacan:

- ✓ Efecto bactericida, en altas concentraciones la clorhexidina induce la precipitación o coagulación del citoplasma celular. La actividad antimicrobiana de la clorhexidina se debe a que es absorbida por la pared celular causando rotura y pérdida de los componentes celulares.
- ✓ Efecto bacteriostático: en bajas concentraciones, sustancias de bajo peso molecular, como el potasio y el fósforo pueden disgregarse ejerciendo un efecto bacteriostático. Este efecto ocurre debido a la lenta liberación de la clorhexidina. Se ha dicho que el efecto bacteriostático de la clorhexidina es de mayor importancia que el efecto bactericida.
- ✓ Actividad antimicrobiana de amplio espectro. Es activa contra un amplio rango de organismos gram +, gram -, levaduras, hongos, anaerobios facultativos, y aerobios. Fardal y Turnbull (1986) afirman que los estafilococos, Estreptococos mutans, salivaris y la Escherichia coli son altamente susceptibles a la clorhexidina; el Estreptococo sanguis posee susceptibilidad intermedia y la klebsiella baja susceptibilidad. También afirman que la clorhexidina tiene la capacidad de desnaturalizar los Proteus y las Pseudomonas.
- ✓ Sustantividad (capacidad antimicrobiana a largo plazo). El gluconato de clorhexidina es adsorbido por la hidroxiapatita de la superficie dental y las proteínas salivales y es subsecuentemente liberado cuando disminuye la cantidad del mismo en el medio bucal¹⁰³.

USO EN ODONTOLOGÍA

Muchos agentes químicos todavía están siendo estudiados, desde antisépticos hasta antibióticos, en formas de aplicación local o sistémica; pudiendo alcanzar mejores resultados clínicos con estas medidas de tratamiento. Dentro del grupo de agentes químicos estudiados, la clorhexidina parece ser uno de los más probados. Es un antiséptico catiónico, con interesantes propiedades de sustantividad, seguridad y eficacia. La forma de aplicación de estos agentes puede variar, a pesar de que la irrigación parece ser una forma simple de aplicación en la Odontología clínica ¹⁰⁴.

El uso de la clorhexidina fue aprobado en septiembre de 1986 en la Food and Drug Administration (FDA) y el Council on Dental Terapéutica of American Dental Association. Su acción es el resultado de la absorción de clorhexidina dentro de la pared celular de los microorganismos produciendo filtración de los componentes intracelulares; también daña las barreras de permeabilidad en la pared celular, originando trastornos metabólicos de las bacterias. La cantidad de absorción de la clorhexidina depende de la concentración utilizada; otra de sus acciones consiste en la precipitación protéica en el citoplasma bacteriano, inactivando sus procesos reproductivos y vitales. Debido a las propiedades catiónicas de la clorhexidina, esta se une a la hidroxiapatita del esmalte dental, a la película de la superficie de diente, a proteínas salivares, a bacterias y a polisacáridos extracelulares de origen bacteriano. La clorhexidina absorbida gradualmente es liberada durante más de 24 horas, por eso se cree que reduce la colonización bacteriana en la superficie de los dientes ¹⁰³.

Weber y cols. encontraron en un estudio in vitro, que la clorhexidina posee un amplio espectro antibacteriano residual hasta por 168 horas posteriores a su aplicación. La clorhexidina se ha propuesto por varios autores como irrigante de conductos radiculares por su acción bactericida, compatibilidad y por su liberación gradual prolongada; así como medicamento intracanal. Es ampliamente utilizada en la prevención y el tratamiento de las enfermedades periodontales y de la caries dental, y se ha sugerido como una solución de irrigación intracanal en la terapia endodóntica. Como irrigante endodóntico es utilizado al 0.12% o 2%, demostrando propiedades antibacterianas como el hipoclorito de sodio, pero a diferencia de este, continua su liberación por un periodo de 48 a 72 horas posterior a la instrumentación, tanto así que puede servir como medicación intraconducto ¹⁰³.

Leonardo y col. (1999) irrigaron con clorhexidina al 2% durante la instrumentación de conductos radiculares de incisivos y molares, confirmando la actividad antimicrobiana de esta solución y sus efectos residuales 48 horas después de la

instrumentación. Morgana y col. realizaron un estudio in vitro, evaluaron la actividad antimicrobiana del gluconato de clorhexidina de 0.2%, del 1%, y del 2% en formulaciones de gel y líquido contra varios patógenos y compararon los resultados obtenidos con hipoclorito de sodio al 0.5%, 1%, 2.5%, 4%, 5.25%¹⁰³.

En 1994, Jeansonne comparó la eficacia antibacteriana del NaOCl al 5.25% y el gluconato de clorhexidina al 2.0%; realizando un estudio in vitro en dientes humanos extraídos con patologías pulpares. Se demostró que la clorhexidina al 2.0% tuvo más efectividad que el NaOCl al 5.25%, ya que hubo una reducción de los cultivos positivos aunque la diferencia estadística no fue significativa. Ringel y col. en 1982 concluyen en su estudio que la solución de hipoclorito de sodio al 2.5 % fue más eficaz que la CHX al 0.2 % cuando se utiliza en piezas con necrosis pulpar. Aunque el hipoclorito de sodio, es un efectivo agente antimicrobiano y un excelente solvente de tejido, se sabe que es tóxico para el tejido periapical. Mientras que el gluconato de clorhexidina es reconocido como un efectivo agente antimicrobiano, éste posee una acción antimicrobiana de amplio espectro, y relativamente ausencia de toxicidad, propiedades del irrigante ideal. Se ha postulado que el uso de hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina, combinados dentro del conducto, puede contribuir a una acción antimicrobiana adicional, y una propiedad de disolución de tejido mejor que con la obtenida con el gluconato de clorhexidina sola¹⁰³.

Las fibras colágenas no protegidas de las regiones adhesivas pueden ser degradadas por enzimas proteolíticas endógenas que se encuentran en la dentina llamadas metaloproteinasas de la matriz (MMPs). Han sido identificadas 4 tipos de MMPs en la dentina: MMP-2 y MMP-9 (gelatinasas), MMP-8 (colagenasa), y MMP-20 (enamelisina). Estas enzimas son responsables de la degradación de la matriz extracelular en diferentes procesos fisiológicos (morfogénesis de los dientes) y patológicos (caries dental). La clorhexidina es un compuesto de propiedades antibacterianas y a su vez es un inhibidor de la actividad proteolítica de las MMPs. En 1999, una nueva propiedad de la clorhexidina fue descubierta por Gendron y col., quienes demostraron que soluciones de clorhexidina pueden inhibir la actividad proteolítica de las MMPs -2, -8 y -9. Estas MMPs juegan un importante papel en las enfermedades inflamatorias destructoras de tejidos como la periodontitis, y con este trabajo fue mejor comprendido el efecto benéfico de la clorhexidina en el tratamiento de esta enfermedad. Paralelamente, Tjäderhane y col. descubrieron que las MMPs de la dentina son activadas por los ácidos producidos por las bacterias cariogénicas, y son estas enzimas proteolíticas las que participan de la destrucción de la matriz colágena en los procesos cariosos. Con estos antecedentes y con la evidencia morfológica de que las uniones resina-

dentina presentaban degradación de las fibras colágenas con el tiempo, Pashley y col. realizaron un estudio en el que, usando matrices de dentina desmineralizada y almacenándolas en saliva artificial durante 250 días, concluyeron que la dentina sana tiene la capacidad de degradar las fibras colágenas desprotegidas (libres de hidroxiapatita debido al grabado ácido) en ausencia de colonización bacteriana a través de la acción de las MMPs que son liberadas lentamente a lo largo del tiempo, y la clorhexidina puede actuar como inhibidor de las MMPs en la dentina evitando o retardando este proceso de degradación¹⁰⁵.

Las restauraciones provisionales son una alternativa de uso continuo en el desarrollo de procedimientos protésicos que requieren sustituir órganos dentales ausentes y en aquellos tratamientos en que no es posible realizar la restauración en una sola sesión. Sin embargo, el uso de restauraciones provisionales trae consigo un riesgo potencial de desarrollar gingivitis marginal, en especial durante la colocación de provisionales fabricadas en polimetil-metacrilato autopolimerizable (PMMA), en las cuales se origina mayor acumulación de placa bacteriana adherida a la superficie con una alta concentración de microorganismos entre los que se destaca el *Streptococcus mutans*. Durante décadas, el PMMA, ha sido la resina de primera elección en la fabricación de provisionales en prótesis, sustentada gracias a sus propiedades físicas, entre las que vale la pena citar la alta resistencia a la abrasión, biocompatibilidad y esterilidad, cabe mencionar que al comparar el PMMA frente a otras resinas, se pone en evidencia sus limitaciones, en especial relacionadas con los diferentes grados de porosidad inherentes a este material que favorecen la adherencia de los microorganismos, ocasionando cambios en la consistencia de los tejidos y en la textura de la superficie. Bajo este escenario, la clorhexidina, se convierte en una alternativa a considerar como profiláctico en el tratamiento con restauraciones provisionales, ya que tiene un efecto supresor sobre el *Streptococcus mutans*, como lo demuestran diversas investigaciones en las que se ha comprobado que una mayor utilización de este antimicrobiano promueve la salud periodontal, además sus bondades se han evidenciado en pacientes tratados ortodóncicamente, para prevenir la acumulación de placa y aparición de gingivitis, en terapéutica posquirúrgica y en pacientes que usan prótesis luego de una terapia periodontal no quirúrgica¹⁰⁶.

Aunque se han realizado diversos estudios sobre las bondades y efectos de la CHX en las estructuras bucales, no se ha abordado suficientemente la relación de su acción como inhibidor de bacterias en el uso de restauraciones provisionales ante diferentes periodos de exposición, que permitan controlar los efectos adversos de la CHX, por lo cual se realza la necesidad de evaluar la efectividad de

agentes antimicrobianos que disminuyan los riesgos adversos para la salud dental de los pacientes y mejoren los resultados de la práctica protésica¹⁰⁶.

EFFECTOS ADVERSOS

Se han descrito escasos efectos adversos de la clorhexidina, tales como dermatitis de contacto o de irritación de la piel y mucosas, sensibilidad, urticaria, reacciones anafilácticas, desórdenes del gusto, coloración de la lengua y los dientes, ototoxicidad, conjuntivitis y daño de la córnea. No se han descrito evidencias de carcinogénesis. Se absorbe poco por la piel, incluso en quemados y neonatos, y no hay evidencia de que esta mínima absorción, si se produce pueda ser tóxica. La toxicidad reducida se debe a que se absorbe con mucha dificultad a través de la piel. La clorhexidina no debe aplicarse sobre el SNC, meninges o en el oído medio por su neurotoxicidad y ototoxicidad que puede llegar a producir sordera. En el ojo puede provocar daños serios y permanentes si se permite que entre y permanezca en el ojo durante el procedimiento quirúrgico. No se debe usar en vendajes oclusivos. En pacientes con exposición de meninges, tanto a nivel central como en la columna vertebral, debe valorarse las ventajas del empleo en la preparación preoperatorio².

A pesar de sus buenas propiedades, hay que tener en cuenta los efectos adversos y hacer un uso correcto de este antiséptico. Entre estos efectos podemos encontrar:

- ✓ Alteración del gusto debido al sabor amargo de la clorhexidina, por ello se recomienda utilizarla después de las comidas para minimizar este efecto.
- ✓ Tinciones extrínsecas de color marrón amarillento: tras un uso prolongado de la clorhexidina pueden aparecer coloraciones tanto en dientes como en restauraciones, prótesis e incluso en la lengua . Ernst y cols. demostraron en un estudio clínico en 1999 que la ubicación habitual de esta coloración son los surcos y las fisuras, así como en márgenes gingivales, con una coloración que va del amarillo al marrón, existiendo un aumento en dicha coloración estadísticamente significativo tras un período de empleo de 4 semanas, independientemente de la concentración del 0.1% o el 0.2%. Del mismo modo, Sheen y cols. en 2001 determinan que este tipo de pigmentaciones extrínsecas aumentan exponencialmente con el número de ciclos al que el paciente es sometido, además de depender directamente de la composición concreta de la saliva de cada individuo".

- ✓ Nathco clasifica las manchas producidas por la clorhexidina como coloraciones indirectas, ya que no es el producto en sí el que provoca la coloración, sino una reacción química de la molécula de clorhexidina al contacto con productos ricos en taninos (café, té o vino tinto) o la reacción entre las proteínas desnaturalizadas de la placa y la clorhexidina formándose compuestos pigmentados. Al ser una coloración extrínseca, la eliminación de estas manchas es sencilla y para conseguirla sería suficiente con una pasta de pulir y un cono de goma.
- ✓ Aunque con menos frecuencia, también se han descrito casos de descamación de la mucosa oral y aumento de cálculo supragingival¹⁰⁰.

La efectividad de la clorhexidina ha sido demostrada ampliamente, al igual que los efectos adversos relacionados con su concentración como manchas en las superficies de los dientes y en la lengua; para reducir estas complicaciones se usan agentes antioxidantes y se disminuye la dosis diaria, pero ninguno de estos métodos ha logrado su objetivo, sólo han obtenido un éxito parcial. Otros efectos de igual importancia son: adormecimiento del sentido del gusto, lesiones descamativas gingivales, posible esfacelación de la mucosa e incremento en la formación de cálculo supragingival. Uno de los métodos para reducir estos efectos colaterales, es la combinación de la clorhexidina con otro agente antimicrobiano de tal manera que la formulación sea equivalente y con mayor actividad antibacteriana. Por otra parte la implicación clínica demuestra que los efectos asociados a la clorhexidina se disminuyen ante la reducción de su concentración y tiempo de exposición¹⁰⁶.

El uso indiscriminado de antibióticos, ha generado resistencia bacteriana, por lo cual es preciso tener alternativas preventivas y terapéuticas, como en el caso del Propóleo a los cuales no se les ha descrito resistencia alguna¹⁰⁷.

De esa búsqueda, desde hace años viene creciendo la corriente que propone la utilización de productos naturales como solución a los problemas médicos y odontológicos. La medicina alternativa presenta a la Odontología, entre otros, al Propóleo como solución a diversos problemas de salud oral⁹⁵.

HIPÓTESIS

- Los extractos Etanólicos de Propóleo tienen *in vitro* la misma actividad antibacteriana que Clorhexidina contra *Staphylococcus aureus*.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Propóleo *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*, estudio comparativo con la clorhexidina.

ESPECIFICOS

- Analizar la actividad antimicrobiana de la tintura de Propóleo y sus diluciones acuosas en cepas de *S. aureus*.
- Determinar la sensibilidad de cepas de *S. aureus* expuesta a la tintura de Propóleo.
- Determinar las diferencias de actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Propóleo y la Clorhexidina.
- Comparar y determinar el grado de inhibición del *S. aureus*, después de haber estado expuesta al Propóleo y Clorhexidina.

DISEÑO METODOLÓGICO

A. TIPO DE ESTUDIO: Estudio Experimental con carácter: Longitudinal, Comparativo y Prolectivo

B. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Universo: Medios de cultivo de Agar Mueller-Hinton selectivo para *S. aureus*

Muestra: Cepa ATCC (American Type Culture Collection) de *S. aureus*

Criterios de inclusión: Cepas de *S. aureus*, Propóleo puro y diluciones, Clorhexidina

Criterios de exclusión: Cepas de otros microorganismos, medios de cultivo no selectivo para *S. aureus*

Criterios de eliminación: Elementos que estén incluidos desde el principio y que por alguna razón sus características ya no formen parte del universo de estudio.

C. VARIABLES

| VARIABLE DEPENDIENTE | | | |
|-----------------------------|--|--------------------------|--|
| VARIABLE | DEFINICIÓN | CLASIFICACIÓN | NIVEL DE MEDICIÓN |
| STAPHYLOCOCCUS AUREUS | ES UNO DE LOS PATÓGENOS MÁS VERSÁTILES EN HUMANOS ASOCIADO FRECUENTEMENTE CON INFECCIONES DE TEJIDOS BLANDOS | CUANTITATIVA DISCONTINUA | HALOS DE INHIBICIÓN ¹ (mm) <ul style="list-style-type: none"> • Resistente • Intermedio • Susceptible |

| VARIABLES INDEPENDIENTES | | | |
|--------------------------------|---|--------------------------------------|---|
| VARIABLE | DEFINICIÓN | CLASIFICACIÓN | NIVEL DE MEDICIÓN |
| EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO | SUSTANCIA ELABORADA A BASE DE ALCOHOL Y PROPÓLEO, PARA AFECCIONES EN CAVIDAD ORAL | CUALITATIVA NOMINAL DICOTÓMICA | ACCIÓN ANTIBACTERIANA SÍ No |
| CLORHEXIDINA | UN ANTISÉPTICO BIGUANÍDICO CON ACCIÓN FRENTE A UNA AMPLIA GAMA DE BACTERIAS GRAMPOSITIVAS TIENE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE AMPLIO ESPECTRO | CUANTITATIVA DISCONTINUA | HALOS DE INHIBICIÓN ¹ (mm) <ul style="list-style-type: none"> • Resistente • Intermedio • Susceptible |

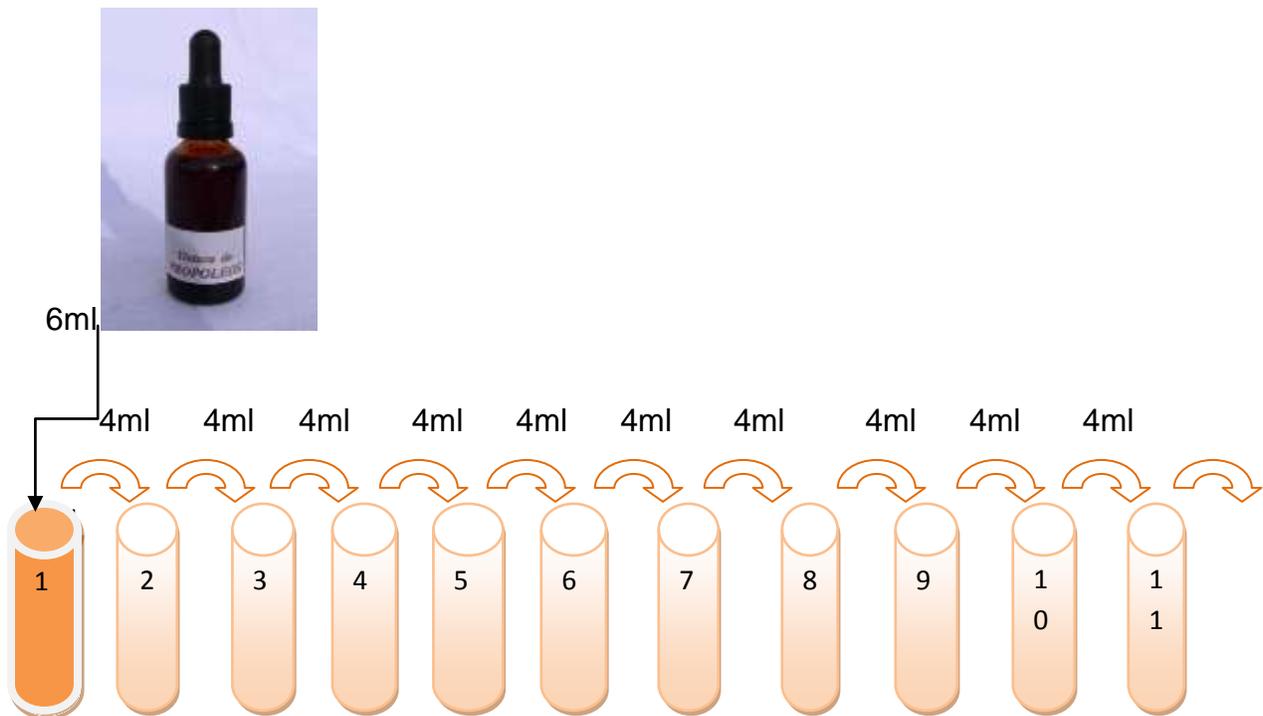
¹Camponovo C.R. Susceptibilidad bacteriana a antimicrobianos. Rev Chil Infect.2009; 26(1):18-20.

D.TÉCNICAS:

El presente estudio fue comparativo, cuya muestra biológica estuvo conformada por cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC (*American Type Collection Culture*) procedente del Departamento de producción de Campus I de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, las prácticas correspondientes se llevaron a cabo en el laboratorio de producción de Campus I; en compañía del asesor y del encargado de dicho laboratorio que proporcionó el material necesario para realizar las pruebas correspondientes.

Se realizaron pruebas *in vitro*, utilizando cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC (American Type Collection Culture), con el propósito de construir el patrón de susceptibilidad al propóleo y compararlo con la clorhexidina, como mecanismo para valorar esta sustancia como alternativa para el control de infecciones por dicha cepa.

Obtención de las diluciones del extracto de propóleo. Fueron necesarios 11 frascos de color ámbar de 15ml, se rotularon del 1 al 11, a los frascos rotulados del 2 al 11 se agregaron 4 ml de agua destilada. Al frasco 1 se añadió 6ml del extracto de propóleo puro. Con una pipeta de 5ml se tomó 4ml del frasco 1 y se adicionó al frasco rotulado con el número 2, se agitó hasta homogeneizar el contenido; con la misma pipeta de 5ml se tomó 4ml del frasco 2 y se adicionó al frasco 3, agitó hasta homogeneizar el contenido; con la misma pipeta de 5ml se tomó 4ml del frasco 3 y se adicionó al frasco 4, se agitó hasta homogeneizar el contenido, se repitió la operación hasta llegar al frasco 11 al llegar a este se tomaron 4ml del frasco 11 y se desecharon.



Los medios de cultivo preparados de Agar de Mueller Hinton se consiguieron en la empresa DIBICO, S.A. de C.V. Posteriormente se realizó una siembra masiva con un hisopo estéril en la superficie del agar con inóculos de *S. aureus* en cada uno de los medios, siempre trabajando cerca del mechero, se tomó un papel filtro estéril, posteriormente se impregnó con la dilución del frasco 1; se escurrió y se colocó en el medio de cultivo previamente sembrado, identificándolo y rotulándolo en la parte posterior de la caja; de nuevo se tomó un papel filtro impregnado con la dilución del frasco 2, se realizó la misma operación con cada una de las diluciones hasta llegar al frasco 11, como resultado se obtuvo que cada medio tuvo colocado

11 discos de papel filtro impregnados de propóleo y sus diluciones; y un disco adicional impregnado con clorhexidina colocado en la parte central del medio de cultivo. Esto con el objetivo de identificar la sensibilidad in vitro de dicha cepa frente a discos de extracto de propóleo y clorhexidina.

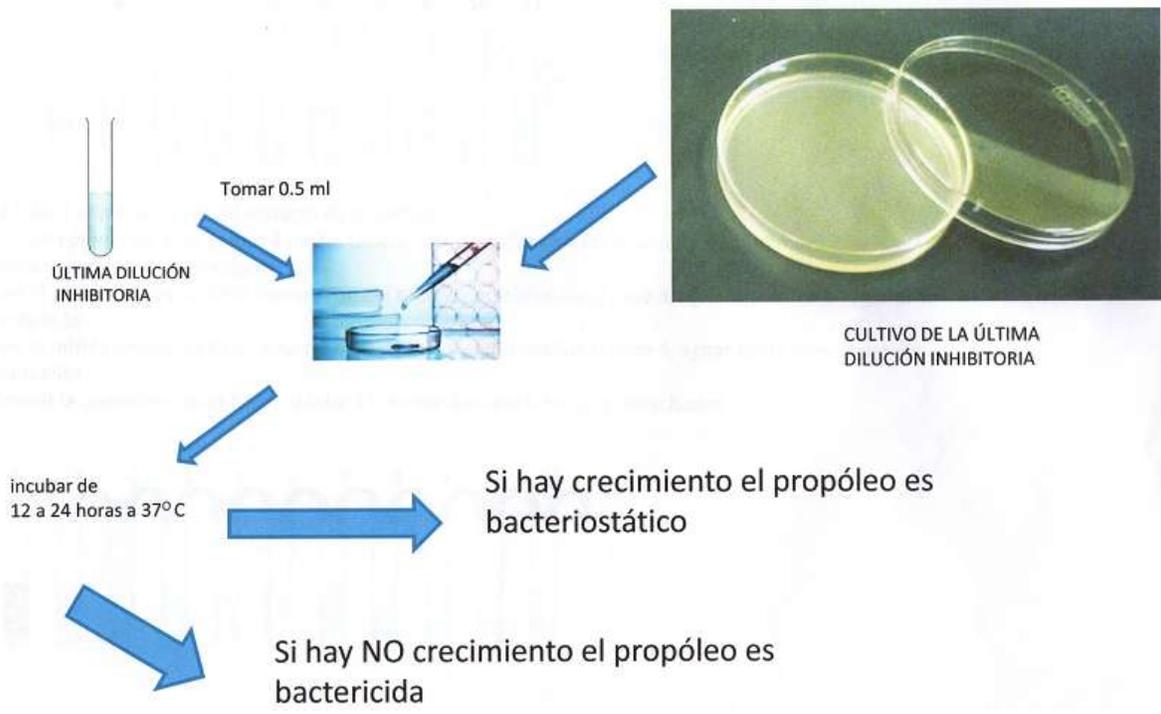
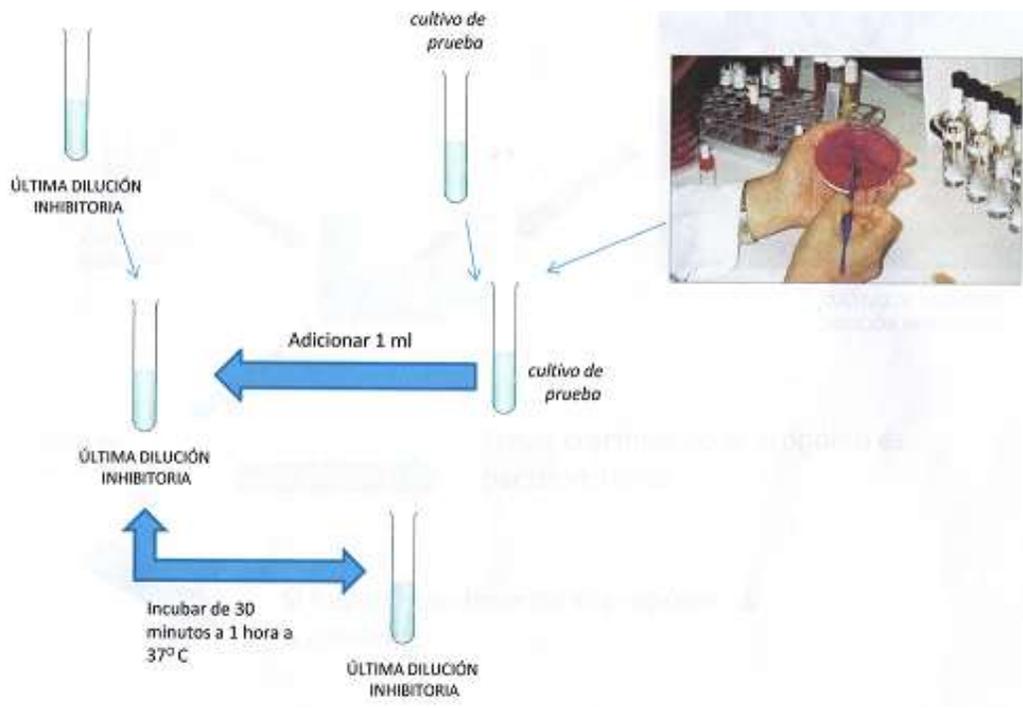
Esto se incubó durante 24 horas a 37°C. Para el análisis de la actividad antimicrobiana del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) y la clorhexidina, se determinó por la formación del halo inhibitorio alrededor de los discos medida mediante una regla vernier, el cual nos determinó la cantidad en milímetros de diámetro del halo de inhibición. En el caso de los que no se encontró, un halo de inhibición, se anotó la dilución correspondiente.

Para determinar si el extracto de propóleo tenía acción bacteriostática o bactericida, se tomó en cuenta a partir de que dilución se generó un último halo de inhibición, se tomó con una jeringa estéril un 1ml del frasco correspondiente y colocarlo en un tubo de ensayo estéril, se rotuló como ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA.

En un tubo de ensayo estéril, se agregó con una jeringa estéril un 1ml de solución salina estéril, se rotuló el tubo como cultivo de prueba, cerca del mechero, se tomó una asada de *Staphylococcus aureus* y se introdujo en el tubo de cultivo de prueba, una vez homogeneizado el contenido, se tomó 1ml del cultivo de prueba, se colocó en el tubo rotulado como ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA, se agitó e incubó de 30 minutos a 1 hora a 37°C.

Se rotuló una caja de agar nutritivo como CULTIVO DE LA ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA. Una vez terminado el tiempo de incubación, con una pipeta estéril se tomó 0.5ml de la ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA. Se colocó en la caja de agar nutritivo CULTIVO DE LA ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA. Se sembró por estría cruzada con ayuda de un hisopo estéril e incubó 24 horas a 37°C. Posteriormente, si había crecimiento el extracto de Propóleo era bacteriostático; y si no hubo crecimiento el extracto es bactericida.

PRUEBA PARA DETERMINAR LA ACCION BACTERIOSTÁTICA O BACTERICIDA



PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO (EEP)

El experto con más de 20 años de experiencia en el manejo de las abejas, realizó el preparado de propóleo usando una solución alcohólica al 40%, para diluir el Propóleo, mezclando ambas en una relación de cada 100 ml de alcohol de caña puro 40 g de Propóleo . Para esto se debe triturar con ayuda de un mortero hasta pulverizarlo, posteriormente se mezcla con el alcohol, este previamente fue guardado y envasado en frasco color ámbar, cumpliendo las siguientes características:

- a) Fuera del sol.
- b) En un lugar fresco.
- c) Fuera del alcance de olores fuertes (por ejemplo naftalina o solventes).
- d) Fuera del alcance de fuentes de energía electromagnética u otra (transformadores, microondas, televisores, radios, etcétera.).

Este proceso denominado "maceración" se realizó durante 7-10 días, este se debe mover unos minutos diariamente. Después de este tiempo, se filtra la solución y se envasa el producto en goteros color ámbar (este para mantener sus propiedades) de 15ml será llamado tintura madre o extracto etanólico de Propóleo listo para su uso terapéutico correspondiente.

E.DISEÑO ESTADÍSTICO

TABULACIÓN Y ANÁLISIS. Las lecturas se evaluaron por el grado de inhibición de la bacteria luego de haber estado expuesta a la actividad del propóleo y las diluciones obtenidas y comparar con los halos obtenidos con la Clorhexidina en un lapso de tiempo de 24 horas. Para los resultados se realizaron análisis estadísticos según los halos de inhibición obtenidos por cada elemento utilizado (Extracto Etanólico de Propóleo y sus diluciones y clorhexidina) el análisis fue por cada uno en contra del *S. aureus* y fueron analizados estadísticamente mediante el programa computacional SPSS del área Química Computacional de la FES Zaragoza; y tomando en cuenta la última dilución inhibitoria se determinó si el Extracto Etanólico de Propóleo es un agente bactericida o bacteriostático.

RECURSOS

HUMANOS:

- Responsable de la investigación
- Director de la investigación (Área Metodológica)
- Asesor de la investigación (Área Microbiológica)
- Responsable de laboratorio

FÍSICOS:

- Laboratorio de fes- Zaragoza de campus I
- Bancas
- Mesas
- Papelería
- Computadora
- Cámara fotográfica

MATERIALES:

- Bata blanca
- Cajas de Petri con Medio de cultivo Agar de Mueller Hinton
- Cepas de Staphylococcus aureus ATCC (American Type Collection Culture)
- Hisopos estériles
- Discos de papel filtro estériles
- Extractos etanólicos de propóleo y sus diluciones
- Mechero
- Clorhexidina
- Asas bacteriológicas
- Agujas de 3ml estériles
- Cinta maskin
- Pipeta de 5ml y 10ml
- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Agua destilada
- Pinzas
- Regla vernier
- Solución salina estéril
- Incubadora

CRONOGRAMA

PERIODO MARZO 2012- MARZO 2013

| ACTIVIDAD | ENE | FEBR | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGOS | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR |
|--|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Elección del tema de investigación | | | | | | | | | | | | | | | |
| Establecimiento del planteamiento del problema | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fijación de objetivos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Formulación de hipótesis | | | | | | | | | | | | | | | |
| Identificación de variables | | | | | | | | | | | | | | | |
| Recopilación de información teórica | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estructura del diseño metodológico | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diseño del instrumento de recolección de datos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Establecimiento de la técnica | | | | | | | | | | | | | | | |
| Planificación de recursos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diseño estadístico | | | | | | | | | | | | | | | |
| Análisis de resultados | | | | | | | | | | | | | | | |
| Resultados y conclusiones | | | | | | | | | | | | | | | |

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN

S. AUREUS (SOLUCIÓN 1)

| CAJA | HALO DE INHIBICIÓN EN | DILUCIÓN (DISCOS) | | | | | | | | | | CLORHEXIDINA | |
|------|-----------------------|-------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|--------------|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | 11 |
| 1 | | 6 | 7 | 7 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 13 |
| 2 | | 7 | 7 | 7 | 0 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 14 |
| 3 | | 9 | 7 | 7 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 | 14 |
| 4 | | 9 | 8 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 13 |
| 5 | | 8 | 8 | 8 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 14 |

S. AUREUS (SOLUCIÓN 2)

| CAJA | HALO DE INHIBICIÓN EN | DILUCIÓN (DISCOS) | | | | | | | | | | CLORHEXIDINA | |
|------|-----------------------|-------------------|----|---|---|---|---|---|---|---|----|--------------|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | 11 |
| 1 | | 9 | 9 | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 13 |
| 2 | | 9 | 9 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 14 |
| 3 | | 9 | 8 | 9 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 15 |
| 4 | | 8 | 8 | 7 | 6 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 14 |
| 5 | | 9 | 10 | 7 | 0 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 14 |

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

SOLUCIÓN 1

Los resultados del análisis estadístico de la varianza (ANOVA, del inglés Analysis of Variance), muestran que con *Staphylococcus aureus*, las diferentes diluciones de la *solución 1* de Propóleo tienen diferentes valores en los halos de inhibición ($p > 0.05$).

ANOVA

Halo de inhibición en mm

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 213.350 | 3 | 71.117 | 123.681 | .000 |
| Within Groups | 9.200 | 16 | .575 | | |
| Total | 222.550 | 19 | | | |

Mediante los contraste de Duncan, se encontró el comportamiento de los diferentes halos de inhibición en mm.

Halo de inhibición en mm

Duncan^a

| Dilución | N | Subset for alpha = .05 | |
|------------|---|------------------------|------|
| | | 1 | 2 |
| Dilución 4 | 5 | .00 | |
| Dilución 2 | 5 | | 7.40 |
| Dilución 3 | 5 | | 7.40 |
| Dilución 1 | 5 | | 7.80 |
| Sig. | | 1.000 | .441 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

El análisis de los resultados muestra que las diluciones 1, 2 y 3 se comportan estadísticamente iguales, con un promedio en sus halos de inhibición de 7.8 mm, 7.4 mm y 7.4 mm respectivamente, la dilución 4 ya es estadísticamente diferente y para efectos prácticos no presenta inhibición.

Se concluye que para la *solución 1* de Propóleo la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus*, **es la dilución 3.**

SOLUCIÓN 2

Los resultados del análisis estadístico de la varianza, muestran que con *Staphylococcus aureus*, las diferentes diluciones de la *solución 2* de Propóleo tienen diferentes valores en los halos de inhibición ($p > 0.05$).

ANOVA

Halo de inhibición en mm

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 646.967 | 4 | 161.742 | 326.092 | .000 |
| Within Groups | 12.400 | 25 | .496 | | |
| Total | 659.367 | 29 | | | |

Mediante los contraste de Duncan, se encontró el comportamiento de los diferentes halos de inhibición en mm.

Halo de inhibición en mm

Duncan^{a,b}

| Dilución | N | Subset for alpha = .05 | | | |
|-------------------------|----|------------------------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Dilución 4 | 5 | .00 | | | |
| Dilución 3 | 5 | | 7.40 | | |
| Dilución 1 | 5 | | | 8.80 | |
| Dilución 2 | 5 | | | 8.80 | |
| Clorhexidina sin diluir | 10 | | | | 13.80 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.556.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

El análisis de los resultados muestra que para la *solución 2* de Propóleo, las diluciones 1 y 2 se comportan estadísticamente iguales, con un promedio en sus halos de inhibición de 8.8mm, la dilución 3 a su vez presenta un menor rango de inhibición con 7.4 mm en promedio, la dilución 4 es estadísticamente diferente y para efectos prácticos no presenta inhibición.

Se concluye que para la *solución 2* de Propóleo la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus*, **es la dilución 3**.

De la misma forma se concluye que bajo nuestras condiciones de trabajo, la **dilución 3 de la solución 2** de Propóleo tiene mayor capacidad inhibitoria del crecimiento in vitro de *Staphylococcus aureus*.

Para saber si la capacidad inhibitoria de la Clorhexidina es semejante a las diluciones de Propóleo, se realizó un contraste mediante una T de student encontrándose:

One-Sample Test

| | Test Value = 15.9 | | | | | |
|--------------------------|-------------------|----|-----------------|-----------------|---|-------|
| | t | df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | 95% Confidence Interval of the Difference | |
| | | | | | Lower | Upper |
| Halo de inhibición en mm | -14.920 | 4 | .000 | -8.70 | -10.32 | -7.08 |

Encontrándose que bajo nuestras condiciones de trabajo, la Clorhexidina tiene in vitro, un mayor poder de inhibición para el *Staphylococcus aureus*, en comparación con la *solución 2* de Propóleo independientemente de cualquier dilución. Y se encontró que el diámetro del halo de inhibición del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) de ambas solución 1 y solución 2 fue menor al compararlo con el de la Clorhexidina.

HALOS DE INHIBICIÓN



CULTIVO DE PRUEBA DE LA ACCIÓN BACTERIOSTÁTICA



CONCLUSIONES

Como bien se sabe *s. aureus* presenta resistencia a múltiples antimicrobianos debido a las malas prácticas en el tratamiento, de ahí radica la importancia de esta investigación de proponer el extracto etanólico de propóleo por los resultados positivos obtenidos.

En el análisis de los resultados muestra que de las diferentes diluciones utilizadas en las pruebas in vitro en contra de la cepas de *Staphylococcus aureus*, resultó que de la solución 1 de propóleo la dilución 3 muestra que fue la que obtuvo la máxima inhibición en el crecimiento in vitro de *s. aureus*. En el caso de la solución 2 la dilución 3 fue de igual manera la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de *s. aureus*. El resto de las diluciones muestra que se comportan estadísticamente diferentes y para efectos prácticos no presentan inhibición.

En este trabajo se probó el Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) reportando buenos resultados como antimicrobiano, ya que las cepas de *s. aureus* fueron sensibles in vitro ante EEP. Al propóleo se le atribuyen múltiples propiedades las cuales podrían llevar a que tengamos a disposición un excelente medio

terapéutico en la odontología. Esta investigación también reporta haber encontrado diferencias significativas en la actividad antimicrobiana de las muestras de las diferentes diluciones de propóleo. Los resultados confirman aquellos que en la literatura enfatizan la sensibilidad de *S. aureus* ante el extracto etanólico de propóleo, y sugiere que actúa de diferente manera en cada una de las diluciones. En la prueba realizada para determinar si era un agente bacteriostático o bactericida, el resultado fue que presenta acción bacteriostática.

De igual manera se concluye que bajo nuestras condiciones de trabajo, la Clorhexidina tiene in vitro, un mayor poder de inhibición para el *Staphylococcus aureus*, en comparación con la *solución 2* de Propóleo independientemente de cualquier dilución. Y se encontró que el diámetro del halo de inhibición del Extracto Etanólico de Propóleo (EEP) de ambas solución 1 y solución 2 fue menor al compararlo con el de la Clorhexidina. A base de este estudio realizado se puede contribuir a la generación de información confiable para proponer un tratamiento alternativo, para las afecciones causadas por el *S. aureus* y así el propóleo pueda formar parte de la solución terapéutica no solo de dicho microorganismo sino en las afecciones en general en odontología. La mucosa bucal representa un lugar de fácil acceso para agentes infecciosos, de ahí que en la mayor parte de las enfermedades de esta exista una sobreinfección por *S. aureus*. Dentro de las lesiones bucales, las infecciones dentales son motivo de consulta frecuente en la práctica odontológica, por lo que resulta importante realizar una revisión de todas las entidades que cursan con la presencia de las infecciones bucales, con el objetivo de establecer un diagnóstico diferencial correcto previo al manejo terapéutico. La creciente preocupación mundial por la presencia de cepas de microorganismos multiresistentes a las drogas antibióticas tradicionales siendo el principal organismo *S. aureus*, ha llevado a la búsqueda de alternativas terapéuticas eficientes de tal manera que Propóleo se recomienda ampliamente ya que este no presenta resistencia.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio sobre la utilización del Propóleo en odontología, recomendamos lo siguiente:

1. Continuar profundizando en el estudio de los efectos del propóleo en las afecciones estomatológicas y utilizar el propóleo como tratamiento efectivo en ellas.
2. Utilizar el propóleo como tratamiento alternativo.
3. Se recomienda de igual manera se tome muy en cuenta las reacciones alérgicas por algún componente del propóleo, ante cualquier prueba realizada in vivo.
4. De igual manera se brinda a la estomatología una nueva línea de investigación para la realización a futuro de más estudios, que puedan demostrar su efectividad en pacientes.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-Medina R.R., Benitez C.A., Gómez C.A. Antimicrobianos y bacterias en la consulta odontológica. *Revista Mexicana de Odontología Clínica*.2006; 1 (5):4-10.
- 2.-Sánchez-Saldaña L., Sáenz-Anduaga E. Antisépticos y Desinfectantes. *Dermatología Peruana*.2005; 15 (2):82-103.
- 3.-Del Río M.I. Actividad Biocida de un propolis chileno frente a *Porphyromonas gingivalis*: Estudio in vitro. Chile. Tesis para obtener el título de Cirujano Dentista; 2006.p.1-163.
- 4.-Bellón L.S., Calzadilla M.M. Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. *Instituto de Ciencias Médicas de La Habana*.2008; 44:1-8.
- 5.-Galarreta S.P. El propóleo. *Revista Generación*.2010; 176: 30-33.
- 6.-Benedetti L., Pieralli L. Apicultura. Barcelona. .Ediciones Omega; 1990.p. 99-100,112.
- 7.-Cornejo G. Apicultura práctica en América Latina. Roma. Boletín de servicios agrícolas de la FAO; 1993.p.135-136.
- 8.-García B.M., Medina M.R., Hidalgo Y.P., Delgado L.M., Truffin T.E., Gómez M. R. Actividad in vitro del Propóleos frente a Patógenos Bacterianos aislados de Infecciones Humanas. *Lat. Am. J. Pharm*.2007; 26 (1): 100-102.
- 9.-Farré R.,Sánchez A. El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*.2004; 45 (1): 21-43.
- 10.-Londoño O.A., Penieres C.J., García T.C., Carrillo M.L., Quintero M.M., García V.S., Mendoza S.M., Cruz S.T. Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del estado de México. *Tecnología en Marcha*.2008; 21(1):49-55.
- 11.-Martínez G.J. Caracterización físico-química y evaluación de la actividad antifúngica de propóleos recolectados en el suroeste antioqueño. Tesis de Maestría en ciencia y tecnología de alimentos; 2009.p.1-102.
- 12.-Neacato V.F. Uso de Extractos Etanólicos de Propóleo para el control de *Staphylococcus aureus* in vitro obtenidos de leche de vacas con mastitis. Tesis para obtener título de ingeniero agropecuario; 2005.p 13-14.

- 13.-**Palomino G.L. Caracterización físico química y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos de Antioquia. Colombia. Tesis para obtener maestría en química; 2009.p.1-143.
- 14.-**Manrique J.A. Actividad antimicrobiana de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del estado Miranda, Venezuela. Efecto de la variación estacional. *Zootecnia Tropical*.2006; 24 (1): 43-53.
- 15.-**Correa B.A. Historia de la apicultura en México. *Imagen veterinaria*.2004; 4(1):1-68.
- 16.-**Bravo V.A., Díaz G.L., Armas G.L. Tratamiento de la alveolitis dental con tintura de propóleos al 5 %.*Revista Cubana de Farmacia*. 2012; 46(1):97-104.
- 17.-**Guzmán-Novoa E., Correa B.A., Espinosa M.L., Guzmán N.G. Colonización, impacto y control de las abejas melíferas africanizadas en México. *Vet. Méx.* 2011; 42 (2):149-178.
- 18.-**Manrique J.A., Santana W. Flavonoides, actividades antibacteriana y antioxidante de propóleos de abejas sin aguijón, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. de Brasil y Venezuela. *Zootecnia Trop*.2008; 26(2): 157-166.
- 19.-**INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). La apicultura en la Península de Yucatán. Censo Agropecuario 2007. 2012.
- 20.-**García G.L., Meza R.E. Oportunidades y obstáculos para el desarrollo de la apicultura en Nayarit. México. Edición académica: 2012.p.3-140.
- 21.-**Quintero-Mora M., Londoño-Orozco A., Hernández-Hernández F., Manzano-Gayosso P., López-Martínez R., Soto-Zárate C., Carrillo-Miranda L., Penieres-Carrillo G., García-Tovar C., Cruz-Sánchez T. Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellífera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans* .*Rev Iberoam Micol*. 2008; 25: 22-26.
- 22.-**González R.C., Corona C.M., Martínez R.M., García M., Núñez A.L. Pulpotomías de molares temporales en pulpas muertas con tintura de propóleos al 10%.*Rev Cubana Estomatol*.2007; 44 (3): 1-5.
- 23.-**Bracho P.J. , Rodríguez B.C. , Llanes F. Triterpenos Pentacíclicos en propóleo. *Rev Soc Quím Perú*.2009;75 (4):439-452.
- 24.-**Palomino G.R., Martínez G.P., García P.M., Gil G.H., Durango R.D. Caracterización Físicoquímica y Actividad Antimicrobiana del Propóleos en el

Municipio de La Unión (Colombia).Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.2010; 63 (1): 5373-5383.

25.-Martínez G.J., García P.C., Durango R.D., Gil G.J. Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección. Rev.MVZ Córdoba.2012; 17(1):2861-2869.

26.-Plana- Domínguez R., Perurena-Lancha M. Tratamiento de la estomatitis subprótesis en atletas y ex atletas con propomiel y nistatina. Segunda parte. Rev. Cub. Med. Dep. & Cul. Fís. 2011; 6 (3): 1-15.

27.-SAGARPA. Situación actual y perspectiva de la apicultura en México. 2008; (199): 3-34.

28.-Valladares S.J. Parámetros organolépticos y fisicoquímicos para la caracterización y uso del propóleos a nivel industrial. Chile. Tesis para obtener el título Profesional de Técnico Universitario en Química.p.1-83.

29.-Palomino G., Lady R.; García P., Carlos M.; GIL G., Jesús H.; Rojano, Benjamín A.; Durango R., Diego L. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia). Vitae. 2009; 16(3): 388-395.

30.-Alvarez M.S. Caracterización organoléptica y Físico-químico de propóleos del departamento de la libertad, Perú. The Biologist.2012; 10(1):34-40.

31.-Salamanca G.G, Correa C.I., Principal J. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. Zootecnia Trop.2007; 25 (2): 95-102.

32.-López-Patiño C.L. Globalización y producción de propóleos (propolis de Apis mellífera) en Colombia y América Latina. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial.2011; 9(1):119-125.

33.-Raissouni T. Estudio comparativo de la eficacia de varios tratamientos tópicos de la estomatitis aftosa recurrente. Granada. Tesis para obtener el grado de doctor en cirujano dentista; 2007.p.1-107.

34.-Premoli G., Laguado P., Díaz N., Romero C., Villarreal J., González A. Uso del Propóleo en Odontología .Acta Odontológica Venezolana.2010; 48 (2):1-13.

35.-García-Mayea Y., Costa-Mugica A., Mondéjar-Álvarez D., Vidal-Novoa A. Potencial acción ateroprotectora de algunos productos apícolas. Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2012; 43(2): 1-9.

- 36.-**Pineda J., Principal J., Barrios C., Milla D., Solano Y., Gil E. Propiedad fungistática in vitro de propóleos sobre tres aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides*. *Zootecnia Trop.* 2010; 28 (1): 83-91.
- 37.-**Yoong K.A. Caracterización físico-química del propóleo de la Escuela Agrícola Panamericana y su efecto antioxidante en aceite de soya. Tesis para obtener la licenciatura en Agroindustria; 2004.p.1-64.
- 38.-**Herrera L.C., Fritz O., Montenegro G., Alvear M., Del Sol M., Salazar L.A. El Propóleo Reduce la Esteatosis Hepática Inducida por Dieta en Ratones. *Int. J. Morphol.* 2010; 28(1): 75-84.
- 39.-**Muñoz R.L., Linares V.S., Narváez S.W. Propiedades del propóleo como aditivo natural funcional en la nutrición animal. *Biosalud.* 2011; 10 (2): 101 – 111.
- 40.-**Tolosa L., Cañizares E. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche , México. *Ars Pharmaceutica.* 2002; 43:1-2: 187-204.
- 41.-**Samara-Ortega N., Benítez-Campo N., Cabezas-Fajardo F. Actividad antibacteriana y composición cualitativa de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del departamento del cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.* 2011; 9 (1):8-16.
- 42.-**Secretaría de Salud. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 9ª edición. México. 2009.p.2477-2689.
- 43.-**Tichavsky R. Manual de agrohomeopatía. México. Instituto Comenius. Secretaría de Desarrollo Social. 2007.p.7-78.
- 44.-**Carrillo M.L., Castillo N.L., Mauricio R. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información Tecnológica.* 2011; 22 (5): 21-28.
- 45.-**Peña R.C. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Cien. Inv. Agr.* 2008; 35(1): 17-26.
- 46.-**Vila M.D., Pi Osoria A., Giral R.T., González-Longoria C. Aplicación del propóleo en el tratamiento de la parotiditis crónica del niño. *Revista Cubana de Estomatología.* 2009; 46(4):41-48.
- 47.-**Soto V.V. Efecto protector del propóleo en la teratogenicidad producida por el cadmio en ratón. México. Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias quimicobiológicas; 2009.p.1-76.

- 48.-**Gerpe F.K., Reyes M.O., Arias Herrera S.A., Paz Latorre P.E. Eficacia de la tintura de propóleo al 20% en el tratamiento de la hiperestesia dentinaria. *Archivo Médico de Camagüey*.2007; 11(5): 1-15.
- 49.-**Martínez R.J., Fajardo C.M., Pérez M.J. Obtención de Tintura de Propóleos en las Plantas de Productos Naturales. *Revista CENIC Ciencias Químicas*.2005; 36:1-4.
- 50.-**Mayta-Tovalino F., Sacsquispe-Contreras S.J. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa (Perú) sobre cultivos de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. *Rev Estomatol Herediana*. 2010; 20 (1): 19-24.
- 51.-**Ann M.E., Xiong X., Buekensp. Padilla N. Prevalencia d enfermedad periodontal en primigestas en un centro de Salud urbano en Celaya Guanajuato. *Revista ADM*. 2008; Vol. (LXV) No.1: 13-19.
- 52.-**Muñoz E.J., Gómez M.P., Moreno G.A. Efecto antibacteriano de 5 antisépticos de uso en cavidad bucal. *Acta Odontológica Venezolana*.2011; 49(1):1-16.
- 53.-**Cuesta A.I., Jewtuchowicz V., Brusca M.I., Natri M.L., Rosa A.C. Prevalencia de *staphylococcus spp* y *candida spp* en la cavidad oral y bolsas periodontales de pacientes con enfermedad periodontal. *Acta Odontol. Latinoam*.2010; 23(1):20-26.
- 54.-**Nazar C.J. Biofilms bacterianos. *Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello*. 2007; 67: 61-72.
- 55.-**De Almeida F.I., Araújo A.L., De Carvalho J.V., Dantas A.L., Díaz C.R., Nascimento P.W. Actividades antibacteriana e antiadherente in vitro de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bacterias formadoras do biofilme dentário. *Odontol. Clín.-Cient., Recife*.2010; 9 (2): 139-143.
- 56.-**Baena M.T., Moreno M.V., Franco M.F., Aldape B.B., Quindós G., Sánchez V.L. *Colonización por Candida albicans, Staphylococcus aureus y Streptococcus mutans en pacientes portadores de prótesis dentales. Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005; 10:27-39.
- 57.-**Nabón A. *Staphylococcus Aureus* resistente a betalactámicos. *Salud militar* .2006; 28 (1): 26-33.
- 58.-**Muñoz A.B. La infección nosocomial y los trabajadores de la salud portadores de *Staphylococcus aureus* Meticilino resistente. *Revista de investigaciones*: 2008; 10: 59-62.

- 59.-**Franco M.D., Motta A., Mendoza N. Staphylococcus aureus: sensibilidad y resistencia a los antibióticos en una muestra de pacientes con dermatitis atópica Rev Asoc Colomb Dermatol. 2010; 18: 189-95.
- 60.-**Rivera-Jacinto M., Rodríguez-Ulloa C., Huayán-Dávila G..Frecuencia de aislamientos ambientales de Staphylococcus aureus y su actividad beta-lactamasa en un hospital de Cajamarca, Perú. Infectio. .2009; 13 (3): 193-195.
- 61.-**Melchor D.C. Staphylococcus aureus METICILINA RESISTENTE, situación actual en México. Bioquímica.2009; 1(34):1-8.
- 62.-**Velázquez-Meza Ma, E. Surgimiento y diseminación de meticilinorresistente. Salud Publica Mex .2005; 47 (5):381-387.
- 63.-**Bustos-Martínez J.A., Hamdan-Partida A., Gutiérrez-Cárdenas M. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev. Biomed. 2006; 17 (4):287-305.
- 64.-**Gonzales E., Antiparra R., Villarreal F. Aislamiento e identificación de una cepa de Staphylococcus aureus meticilino resistente y catalasa negativo. An Fac med. 2009; 70(1):45-46.
- 65.-**Durán V.A., Zhurbenko R., Viera O.D. Propuesta de una modificación en la formulación del medio agar manitol salado utilizado en el aislamiento de estafilococos de importancia clínica. Rev Cubana Med Trop. 2004; 56(3):172-177.
- 66.-**Rodríguez-Bañoa J., Bischofbergerb C., Álvarez-Lermac F., Asensiod A., Delgadoe T., García-Arcalf D., García-Ortega L., Hernándezg M^a J., Molina-Cabrillanah J., Pérez-Canosad C., Pujoli M. Vigilancia y control de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en hospitales españoles. Enferm Infecc Microbiol Clin 2008; 26(5):285-98.
- 67.-**Lasa I., Del Pozo J.L., Penadés J.R., Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. An. Sist. Sanit. Navar. 2005:28 (2); 163-175
- 68.-**Tibavizco D., Rodríguez J., Silva E., Cuervo S., Cortés J..Enfoque terapéutico de la bacteriemia por Staphylococcus aureus. Biomédica. 2007; 27:294-307.
- 69.-**Cimera P.D., Pérez P.F. Prevalencia de portadores nasales asintomáticos de Staphylococcus aureus meticilino-resistente y su relación con factores de riesgo y protectores en el personal de salud del Hospital General de las Fuerzas Armadas. Rev Mex Patol Clin.2010.57 (4):196-204.

- 70.-**De Colsa R.A. Staphylococcus aureus: De la genómica a la clínica. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría. 2011; XXIV (9)5:91-94.
- 71.-**El Sayed A., Alber J., Lämmle C., Jäger S., Wolter W., Castañeda-Vázquez H. Estudio comparativo de las características genotípicas de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de casos de mastitis clínica y subclínica en México. Vet. Méx.2006; 37(2):165-179.
- 72.-**Davis D.D. Comparación de resistencia a los antibióticos penicilina, eritromicina, oxacilina, cloranfenicol y vancomicina en el Staphylococcus aureus aislado de adultos saludables en los Estados Unidos de Norteamérica y México. Revista Médica de la Universidad Veracruzana.2005; 5 (2):28-32.
- 73.-**Muñoz D., Graü de Marín C., Martínez C., Marval H., Zerpa A. Prevalencia de Staphylococcus aureus, Vibrio spp. y enterobacterias en carne de pepitona, Arca zebra, comercializada en Cumaná, Venezuela. Zootecnia Trop.2008; 26(4): 505-513.
- 74.-**Laluzza B.A. Importancia actual de la bacteriemia por Staphylococcus aureus en un hospital universitario. Tesis Doctoral; 2007.p.1-191.
- 75.-**Mamani E., Luján D., Pajuelo G .Perfil de sensibilidad y resistencia de Staphylococcus aureus. An Fac Med Lima. 2006; 67(2):120:124.
- 76.-**Tamariz J. et al.Staphylococcus aureus resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. Rev Med Hered.2010; 21: 5-10.
- 77.-**Sánchez V.G., Porrás de Quintana L., Pedraza A., Colorado C. Perfil de resistencia antimicrobiana del Staphylococcus aureus en un centro de referencia nacional en dermatología. Rev Panam Infectol.2009; 11(1):17-20.
- 78.-**Montoya I. y cols. Resistencia inducible a clindamicina en Staphylococcus aureus meticilino resistente. Rev Chil Pediatr. 2009; 80 (1): 48-53.
- 79.-**Borga H.G., Caiafa C.G., De La Rosa F.M., González G.F., Silva M., Caldera J., Pitteloud J. Frecuencia y resistencia bacteriana de Staphylococcus aureus en infecciones nosocomiales en el Hospital Universitario de Caracas, años 2004 y 2007. CIMEL. 2010; 15(1):28-30.
- 80.-**Alvarez J.A., Ramírez A.J., Mojica-Larrea M., Huerta J., Guerrero J.E., Rolón A.L., Medina H., Muñoz J.M., Mosqueda J.L., Macías A.E., Sifuentes-Osornio J. Staphylococcus aureus resistente a meticilina en un hospital general: panorama

epidemiológico del 2000 al 2007. Revista de Investigación Clínica.2009; 61 (2):98-103.

81.-Frick M.A., Moraga-Llop F.A., Bartolome R., Larrosa N., Campins M., Roman Y., Vindel A. Figueras C. Infecciones por Staphylococcus aureus resistente a metilina adquirido en la comunidad en niños. Enferm Infecc Microbiol Clin.2010; 28(10):675–679.

82.-Perazzi B., Camacho M., Bombicino K., Flores Z., Vay C., Famiglietti A. Staphylococcus aureus: nuevos y antiguos antimicrobianos. Revista argentina de microbiología.2010; 42: 199-202.

83.-García A.C. Staphylococcus aureus metilino resistente adquirido en la comunidad. Acta Med Per.2011; 28(2):159-162.

84.-Platzer M.L., Aranís J.C., Beltrán M.C., Fonseca A.X., García C.P.Colonización nasal bacteriana en población sana de la ciudad de Santiago de Chile:¿Existe portación de Staphylococcus aureus metilino resistente comunitario?Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello .2010; 70: 109-116.

85.-Miranda N.M. Resistencia antimicrobiana del Staphylococcus aureus en México. Bol Med Hosp Infant Mex. 2011; 68(4):262-270.

86.-Mensa J., Barberán J., Llinares P., Picazo J.J., Bouza E., Álvarez L.F., Borges M., Serrano R., León C., Guirao X., Arias J., Carreras E., Sanz M.A., García R.J. Guía de tratamiento de la infección producida por Staphylococcus aureus resistente a metilina. Rev Esp Quimioter .2008; 21(4):234-258.

87.-Ruiz M.A., Díaz H.M., Pérez P.E., León G.Y., Castellanos M.Y., Quesada L.A. Incidencia y drogorresistencia de Staphylococcus aureus durante el año 2010 en el Hospital «Mártires del 9 de Abril», Cuba. Rev Latinoamer Patol Clin. 2012; 59 (2): 80-87.

88.-Nodarse H.R. Detección de Staphylococcus aureus resistente a metilina mediante disco de cefoxitina. Revista Cubana de Medicina Militar. 2009; 38(3-4):30-39.

89.-Brezzo C., Cecchini D., Biscione F., Orduna T., Costa N., Quinteros M. Enfermedad invasora por staphylococcus aureus metilino resistente adquirida en la comunidad. MEDICINA. 2006; 66 (5): 443-446.

- 90.-**Castro-Orozco R., Villafañe-Ferrer L., Álvarez-Rivera E., Martínez A.M., Rambaut-Donado C., Vitola-Heins G. Staphylococcus aureus meticilino resistente en niños escolares de Cartagena. Rev. Salud pública. 2010.12 (3): 454-463.
- 91.-**Telechea O.H., Speranza M.N., Lucas P.L., Santurio G.A., Giachetto L.G., Algorta R.G., Nanni R.L. y Pírez G.C. Evolución del consumo de antibióticos y de la susceptibilidad antimicrobiana en el Centro Hospitalario Pereira Rossell en la era de Staphylococcus aureus resistente a meticilina. Rev Chil Infect .2009; 26 (5): 413-419.
- 92.-**Rodríguez P.A. Evaluación de la actividad bactericida in vitro de soluciones antimicrobianas en uso. Rev Mex Patol Clin.2006; 53 (2): 123-125.
- 93.-**Cabrera C., Gómez R., Zúñiga A. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colomb Med .2007; 38 (2):149-158.
- 94.-**Aguilera C.M, Romano E., Ramos N., Rojas L. Sensibilidad del Streptococcus mutans a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). ODOUS CIENTIFICA. 2011; 12 (1):7-13.
- 95.-**Eguizábal A.M., Moromi NH..Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano sobre Streptococcus mutans y Lactobacillus casei. Odontol. Sanmarquina. 2007; 10 (2): 18-20.
- 96.-**Maimone S. Gluconato de Clorhexidina: ¿el mejor antiséptico para la piel?. ECI.2009; 1 (2): 60-63.
- 97.-**Cumbreño B.S., Higuero P.F. Clorhexidina 0,05% solución antiséptica. O F F A R M. 2005; 24 (11):141-143.
- 98.-**Torres L.M., Díaz Á.M., Acosta M.A. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. Gaceta Médica Espirituana. 2009; 11(1):1-8.
- 99.-**Calsina-Gomis G., Serrano-Granger J. ¿Existen realmente diferencias clínicas entre las distintas concentraciones de clorhexidina? Comparación de colutorios. RCOE. 2005; 10 (4): 457-464.
- 100.-**Fernández O.N., Romeo R.M., Martínez VJ.A. Alteraciones del color dental por fármacos. Artículo de Revista Internacional de Prótesis Estomatológica.2007; 9 (1): 1-8.

- 101.-**Maya J.J., Ruiz S.J., Pacheco R., Valderrama S.L., Villegas M.V. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. *Infectio*. 2011; 15(2): 98-107.
- 102.-**Alava M.J.A., Álvarez M.N., Cantero G.D., Carrandi C.B., Delgado P.D., Goikouria A.A., et al. Guía de Higiene de Manos para Profesionales Sanitarios. OSAKIDETZA COMISIÓN INOZ. 2009:1-34.
- 103.-**Bobbio A.S. Soluciones irrigantes en endodoncia. Investigación bibliográfica del proceso de suficiencia profesional para obtener el título de cirujano dentista; 2009.p.1-60.
- 104.-**Kuchenbecker R.C., Corrêa de Toledo B. Irrigación Subgingival con clorhexidina en terapia periodontal no quirúrgica. *Acta Odontológica Venezolana*. 2009; 47 (4): 1- 12.
- 105.-**Pomacóndor-Hernández C. Papel de la clorhexidina en la odontología restauradora. *Odontol. Sanmarquina*. 2010; 13(2): 46-49.
- 106.-**Poveda R.M., Sánchez G.S., Medina G.E., Espinel B.M., Ríos S.E., Fernández P.J. Gluconato de clorhexidina al 0.12% en la inhibición de la adherencia de *Streptococcus mutans* en restauraciones provisionales de polimetilmetacrilato *in vitro*. *Revista Odontológica Mexicana*. 2006; 10 (1): 24-29.
- 107.-**Moreno H.Z., Martínez A.P., Figueroa J. Efecto antimicrobiano *in vitro* de propóleos argentinos y cubanos sobre *Streptococcus mutans*. *Nova Publicación Científica* .2007; 5 (7):70-75.