



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

EFICACIA DEL PROPÓLEO IN VITRO SOBRE STAPHYLOCOCCUS  
EPIDERMIDIS, ESTUDIO COMPARATIVO CON LA CLORHEXIDINA.

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA  
PRESENTA:

PALACIOS RESENDIZ JAVIER EMMANUEL

DIRECTOR: Q. F. B. MARÍA ELENA TEJEDA ROSALES

ASESOR: MTRO. ALFREDO DE LEÓN VALDÉZ

MÉXICO D.F. NOVIEMBRE 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.



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.

**TÍTULO:**

EFICACIA DEL PROPÓLEO IN VITRO SOBRE STAPHYLOCOCCUS  
EPIDERMIDIS, ESTUDIO COMPARATIVO CON LA CLORHEXIDINA.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	5
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	7
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
<b>PROPÓLEO</b> .....	7
<b>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</b> .....	15
<b>CLORHEXIDINA</b> .....	32
<b>HIPÓTESIS</b> .....	36
<b>OBJETIVOS</b> .....	36
<b>DISEÑO METODOLÓGICO</b> .....	36
<b>DISEÑO ESTADÍSTICO</b> .....	39
<b>RECURSOS</b> .....	40
<b>RESULTADOS</b> .....	41
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</b> .....	47
<b>DISCUSIÓN</b> .....	50
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	52

## INTRODUCCIÓN

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 microorganismos.

Los procesos sépticos odontológicos aparecen con alta frecuencia en las consultas estomatológicas. Existen diferentes medicamentos para su tratamiento donde la clorhexidina es uno de los antimicrobianos a utilizar para la irrigación de las zonas afectadas, teniendo en cuenta sus diferentes concentraciones y propiedades químicas; su utilización es amplia, siendo además el agente más efectivo para los tratamientos periodontales.

En la actualidad existen los agentes antimicrobianos, en presentación de 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 utilización. Cabe resaltar entonces que el hallazgo del agente antiplaca ideal aún constituye un reto para los investigadores.

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.

El propóleo es un producto de naturaleza compleja elaborado por las abejas a partir de resinas, aceites esenciales y polen que colectan en las zonas de vida donde realizan su actividad de pecoreo. En el proceso de recolección, transporte y almacenamiento a la colmena, adicionan sustancias enzimáticas y cera, de secreciones glandulares de la hipofaringe y glándulas cereras presentes en los esternitos del abdomen. Adicionalmente, puede añadir microelementos del entorno, donde el producto final es de consistencia viscosa, con tonalidades de color castaño, marrón, pardo, rojizo y verde, en algunos casos negro, según sea el origen botánico y geográfico.

Dentro de los productos apícolas, el propóleo se destaca por sus propiedades antibacterianas, fungicidas, antivirales, anestésicas, antiulcerosas, inmunoestimulantes, hipotensiva, citostática, antioxidantes, fitoinhibidoras y anticariogénica.

Una de las actividades más importantes del propóleo es su actividad antimicrobiana la cual se le atribuye básicamente a los flavonoides, es un compuesto bioactivo de grandes potencialidades para el tratamiento como antiséptico de aftas en la boca, herpes, amigdalitis, ayuda en la cicatrización de las heridas, antiinflamatorio, anticaries, cirugía oral, endodoncia, periodoncia y patología oral entre otras.

Debido al uso indiscriminado y prolongado de antimicrobianos sintéticos se ha elevado el número de patógenos mutantes resistentes, tomando fuerza el uso de antimicrobianos naturales como una alternativa eficaz y económica en el tratamiento de infecciones bacterianas.

En el presente trabajo se realizaron pruebas in vitro con 2 soluciones de propóleo (20 y 40%) de las cuales a su vez se obtuvieron 10 diluciones y puestas a prueba en cultivos de *Staphylococcus Epidermidis* para determinar los halos de inhibición de cada dilución y así comprobar su efecto antimicrobiano comparándolo con el de la clorhexidina. También se realizó una prueba con el objeto de determinar si el propóleo es un agente bacteriostático o bactericida.

## JUSTIFICACIÓN

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.<sup>18</sup>

La composición del propóleo varía de acuerdo a la vegetación que pueda encontrarse en cada región específica. Sin embargo, muestras de propóleos de diferentes regiones con diferencias en su composición, han demostrado similares efectos antimicrobianos.<sup>20</sup>

El propóleo contiene una amplia variedad de compuestos químicos; se han identificado más de 300, tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos, alcoholes y cetonas fenólicas), terpenoides, esteroides, aminoácidos, y compuestos inorgánicos. Sin embargo, la composición de este producto de la colmena es altamente variable y dependiente de la flora local en el sitio de recolección. 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 donde está ausente esta vegetación, las abejas visitan otras plantas como fuente para la producción de propóleos, lo que conduce a diferencias en la composición química.<sup>9</sup>

La clorhexidina es un antiséptico biguanídico con acción frente a una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas, anaerobios facultativos, aerobios y levaduras.<sup>40</sup>

Por décadas, la clorhexidina ha sido ampliamente usada como antiséptico de la piel y las mucosas por profesionales de la salud. La reacción más frecuente a la clorhexidina es la dermatitis de contacto, pero ésta es más común con los productos a base de yodo. Se han reportado reacciones de hipersensibilidad y anafilaxia a la clorhexidina, pero han sido casos esporádicos.<sup>41</sup>

Las especies más frecuentemente involucradas en patología humana son: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* y *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, que en conjunto alcanzan hasta el 80% de los casos.<sup>22</sup>

*Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) es la especie más prevalente de los estafilococos coagulasa negativos (ECN). Supone más del 65% de todos los



estafilococos aislados en las muestras. En los últimos años, el protagonismo de estas bacterias como patógenos es manifiesto, fundamentalmente causando bacteriemia e infecciones de cuerpos extraños. La mayoría de las infecciones causadas por *S. epidermidis* son de origen nosocomial.<sup>25</sup>

Numerosas propiedades biológicas se han asociado con el propóleo, incluyendo antibacteriana, antifúngica, antiviral, antiinflamatoria, antitumoral, antioxidante, entre otras.<sup>9</sup>

Muestras de propóleos obtenidas de diferentes orígenes geográficos han demostrado actividad antibacteriana sobre (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*), antifúngica sobre (*Candida albicans*) y antiviral contra (*Avianinfluenza virus*). La actividad de todas las muestras fue similar a pesar de las diferencias en la composición química de las mismas, concluyendo que la acción biológica del propóleo no se debe a una sustancia en particular como único responsable de las acciones estudiadas. Investigaciones hechas sobre la acción antibacteriana de sustancias individuales aisladas del propóleo, muestran que un solo componente no tiene mayor actividad que el total del extracto, sugiriendo sinergismo entre los constituyentes.<sup>20</sup>

La resistencia bacteriana a los antibióticos se explica por la generación de mutaciones y por su adquisición a partir de otras bacterias de genes que codifican proteínas responsables de la resistencia bajo diversos mecanismos. En el mundo mueren más de 2 millones de personas al año por infecciones intratables por efecto de su resistencia, fenómeno que se ha agudizado por las enormes cantidades de antibióticos que se utilizan con diferentes propósitos. La pérdida de eficacia de los antibióticos se debe a la conjunción de 2 circunstancias muy claramente definidas: la capacidad de las bacterias para producir permanentemente cambios genéticos y el uso masivo de antibióticos a nivel mundial, que ha ejercido en seis décadas una presión selectiva que ha dejado a lo largo de los años un número creciente y preocupante de infecciones sin posibilidad de tratamiento.<sup>35</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La cavidad oral alberga innumerables microorganismos orales los cuales son parte importantes para la salud cuando se encuentra un estado de eubiosis, sin embargo cuando se rompe este equilibrio y se produce la disbiosis, surge la enfermedad oral; por lo tanto, es de vital importancia contar con sustancias que contribuyan al control de la proliferación de estos microorganismos. Por ello se investigará ¿Cuál es la eficacia del propóleo in vitro sobre *Staphylococcus Epidermidis* comparado con la clorhexidina?

## **MARCO TEÓRICO**

### **PROPÓLEO**

#### **GENERALIDADES.**

La palabra Propóleo que significa "para la defensa de la colmena" da la idea de un compuesto muy importante para las abejas. Es elaborado por insectos pertenecientes a la familia Apidae, principalmente la especie *Apis mellifera*.<sup>1</sup>

Las abejas *Apis mellifera* L. lo obtienen por adición de cera y secreciones salivares al material resinoso, gomoso o balsámico que recolectan de diversas plantas.<sup>2</sup>

Existen dos teorías sobre la procedencia del propóleo elaborado por las abejas. Una teoría dice que se obtiene de la recolección realizada por la abeja (*A. mellifera*) por exudaciones o secreciones de origen vegetal, debido a que toman las partículas resinosas que hay sobre las yemas de diferentes plantas como el álamo, sauce, abedul, aliso, castaño silvestre, pino, enebro y algunas plantas herbáceas. Luego de mezclar esas exudaciones con otros agentes como polen y enzimas se tiene lugar una modificación física y química, y el producto es transportado al interior de la colmena, para ser utilizado finalmente con diferentes funciones. Otra teoría sobre el origen del propóleo manifiesta que se trata de un producto resultante de la digestión del polen en un pequeño órgano ubicado entre el saco polínico y el intestino.<sup>3</sup>

Puede ser ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos.<sup>4</sup>

En la colmena, las abejas utilizan al propóleo con diversos fines, tales como: cerrar grietas, reducir al mínimo las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan introducido en la colmena, consolidar componentes

estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones.<sup>2</sup>

Por su consistencia y estructura, los propóleos pueden clasificarse en dos grupos, los de naturaleza fluida y los balsámicos-oleorresinosos. Los primeros presentan una fracción importante de agentes volátiles, mientras que en los balsámicos predomina la consistencia densa, con bajo contenido de volátiles, susceptibles de polimerización y con frecuencia se percibe el aroma de las plantas en forma concentrada; en general son sustancias viscosas, semisólidas y cauchosas. 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°C.<sup>5</sup>

Las muestras asociadas al género *Populus* spp, contienen mezclas de agliconas flavónicas, ácidos hidroxicinámicos y sus ésteres. En muestras rusas se han detectado agliconas de flavonas y en muestras brasileras se han encontrado principalmente derivados del ácido p-cumárico. El aroma en algunos casos es parecido al de su origen botánico, siendo amargo, picante y hasta astringente.<sup>5</sup>

Los bioflavonoides son moléculas, más conocidas como vitamina P, muy presente en las frutas y verduras, que refuerzan los capilares sanguíneos y regulan su permeabilidad. Además ayudan a prevenir hemorragias y rupturas de capilares y tejido conectivo.<sup>6</sup>

Diversos trabajos han demostrado que el propóleo es una fuente natural de antioxidantes, que protegen a los aceites y lipoproteínas séricas de la oxidación. Sus propiedades antioxidantes se deben a su actividad anti radicalaria particularmente, frente a radicales alcoxi y en menor grado, a superóxido y al efecto inhibitor sobre el ión cuproso, iniciador de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad.<sup>5</sup>

El propóleo tiene una notable capacidad cicatrizante y antiinflamatoria, por lo que es muy bueno para aliviar las heridas, quemaduras y afecciones de la piel. Además, mejora la salud bucal por sus principios antisépticos y estimula la generación de la dentina (esmalte dental), impide la formación de caries y placa bacteriana.<sup>6</sup>

Tiene diferentes acciones farmacológicas, tales como: acción bactericida, antiviral, (debida a la presencia de flavonoides y de moléculas aromáticas), anestésica local y analgésica (presencia de aceites esenciales), inmunoestimulante, antioxidante, cicatrizante y regeneradora de tejidos, anticaries dentarias, antiinflamatoria, antitrombótica, antiulceroso, espasmolíticas y radioprotectoras.<sup>7</sup>

Su potencial antiinflamatorio ha sido atribuido a la capacidad de estimular la inmunidad celular ya que promueve la actividad fagocítica e inhibición de la síntesis de prostanglandinas, mediadoras de este proceso.<sup>8</sup>

Se pueden distinguir innumerables usos para el propóleo en diferentes industrias: farmacéutica (tanto en medicina humana como medicina veterinaria), agrícola, cosmética, y alimentaria.<sup>9</sup>

Es un componente común de cosméticos y de productos naturales con fines terapéuticos. Podemos encontrarlo en el mercado en forma de preparados tópicos, colutorios, o incluso como presentaciones para ingesta oral y tradicionalmente se ha utilizado para el tratamiento de distintas enfermedades como quemaduras, eczemas, úlceras, psoriasis, herpes simple, queilitis o gingivoestomatitis.<sup>10</sup>

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.<sup>11</sup>

## **ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

Al igual que la miel, el propóleo se conoce desde la más remota antigüedad y ha sido utilizado por diferentes culturas con diversas finalidades (embalsamar, cicatrizante, antiséptico, antipirético).<sup>12</sup>

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.<sup>13</sup>

Desde tiempos remotos, es conocido y empleado por sus propiedades terapéuticas. Aristóteles, Plinio y Avicena han citado en sus escritos sus cualidades curativas y cicatrizantes en heridas, supuraciones, abscesos y furúnculos. 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 medicamentos.<sup>14</sup>

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.<sup>14</sup>

Existe documentación donde se informa que ha sido empleado desde la antigüedad por los egipcios para embalsamar cadáveres; en Grecia y Roma era empleada por los médicos como agente antiséptico y cicatrizante. Entre las culturas precolombinas, los Incas lo utilizaron como sustancia antipirética; pero tan solo a partir del siglo XVII aparece reportado como droga oficial en la farmacopea de Londres.<sup>15</sup>

El propóleo es utilizado para producir apiterápicos de uso humano y animal, debido a sus propiedades biológicas. En el primer libro médico, "Libro de preparación de medicamentos para todas las partes del cuerpo humano", en el papiro de Ebers (hace más de 1700 años AC), se menciona el propóleo como medicina (Asís, 1993). 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 cicatrizante (González y Bernal, 1997).<sup>16</sup>

Su máximo empleo se dio durante la guerra de los boers, en África del sur, alrededor de 1900, en el tratamiento de heridas infectadas y como sustancia cicatrizante.<sup>14</sup>

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 propiedades.<sup>6</sup>

A partir de la década de los 60 se efectuaron las primeras investigaciones científicas que revelaron la compleja estructura del propóleo y pusieron de manifiesto numerosas aplicaciones farmacológicas. Científicos de diferentes disciplinas profundizaron en su estudio, por lo que hoy se tiene respuesta a muchos interrogantes acerca de los mecanismos de acción que explican sus propiedades antimicrobianas, cicatrizantes, estimulantes del sistema inmunológico y antioxidantes.<sup>8</sup>

En el año 1979 se realizaron en Cuba los primeros estudios, y fueron los veterinarios los pioneros en alertar sobre las propiedades farmacoterapéuticas del propóleo, al demostrar la factibilidad de esta sustancia al ser disuelta en soluciones alcohólicas que, suministradas en dosis, salvaron a decenas de terneros en menos de 72 horas, que padecían diarreas agudas y neumopatías.<sup>7</sup>

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 oral.<sup>12</sup>

## CONSTITUCIÓN QUÍMICA

El propóleo es una sustancia compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% de granos de polen.<sup>17</sup>

El propóleo contiene una amplia variedad de compuestos químicos; se han identificado más de 300, tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos, alcoholes y cetonas fenólicas), terpenoides, esteroides, aminoácidos, y compuestos inorgánicos.<sup>9</sup>

Su composición depende de la flora de la región donde es recolectado; esto influye en la forma en que es utilizado dentro de la colmena ya que puede servir como sustancia embalsamadora o de recubrimiento de la colmena. Esto significa que distintas partes de la colmena tendrán diferente composición del propóleo, por lo que será muy difícil encontrar dos colmenas que produzcan propóleos idénticos aun cuando estén ubicadas en la misma zona geográfica, puesto que lo elaboran de acuerdo a sus necesidades y fuentes de materia prima disponibles.<sup>8</sup>

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 propóleos, lo que conduce a diferencias en la composición química. En Brasil, por ejemplo, se han encontrado como constituyentes principales de este producto apícola, terpenoides y derivados prenilados de ácidos p-cumáricos (Marcucci, 1995), mientras que en Chile se encontraron predominantemente lignanos (Valcic, Montenegro y Timmermann, 1998), y en Venezuela, Brasil y Cuba se hallaron benzofenonas preniladas (Tomas et al., 1993; Porto et al., 2000; Trusheva et al., 2004; Hernández et al., 2005). Las resinas de *Clusia* spp., *Araucaria heterophylla*, y *Baccharis* spp. se observaron como las fuentes dominantes del propóleo tropical.<sup>8</sup>

Según el instituto de Química Orgánica de Moscú, su análisis químico ha arrojado la presencia de un gran número de sustancias minerales y oligoelementos,

primordialmente en forma de radicales libres o asociados a formas proteicas, entre los cuales se distinguen: aluminio, bario, boro, bismuto, cobalto, calcio, cobre, cromo, estaño, estroncio, fósforo, hierro, litio, manganeso, molibdeno, níquel, plata, plomo, potasio, selenio, silicio, titanio, vanadio, yodo y zinc. Muchas de estas sustancias desempeñan un papel importante a nivel de numerosas vías metabólicas celulares.<sup>8</sup>

Los propóleos están constituidos fundamentalmente por flavonoides, derivados de ésteres y ácidos fenólicos. Walker y Crane (1987) reportaron la presencia de 38 flavonas, 12 derivados del ácido benzoico, 14 derivados del alcohol cinámico y el ácido cinámico, 12 componentes entre alcoholes, cetonas y fenoles, 7 terpenos, 11 esteroides, 7 azúcares y 2 aminoácidos. Los métodos instrumentales de análisis actualmente han permitido identificar entre 150 y 180 compuestos distintos en un mismo producto, demostrándose la variabilidad y complejidad del producto, que han dado validez y versatilidad de uso terapéutico.<sup>5</sup>

Los flavonoides, desde el punto de vista estructural, corresponden a un sistema de 3 anillos fusionados en una secuencia de carbonos que presenta un heterociclo central en una estructura  $C_6C_3C_6$ , que ha sido discutida ampliamente por su estabilidad y reactividad. Estos compuestos suelen presentar al menos tres hidroxilos fenólicos, condición que facilita su clasificación y reactividad frente respecto del tricloruro de aluminio y 2,4D.<sup>5</sup>

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 triterpenos. Al respecto, el primer reporte sobre la presencia de este tipo de metabolito secundario fue la identificación del triterpeno acíclico escualeno, precursor de los triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos; considerado como el más importante de los triterpenos.<sup>18</sup>

La presencia de triterpenos pentacíclicos en propóleos brasileños en particular y en propóleos de países tropicales en general, constituye una característica importante de su composición química vinculada a su actividad antiinflamatoria, anticancerígena y antiviral. Por tal razón, en los momentos actuales, las investigaciones respecto a los propóleos se han dirigido hacia la actividad biológica de estos metabolitos secundarios, principalmente a estudiar la capacidad antiviral de ciertas estructuras de triterpenos pentacíclicos: ácidos betulínico, ácido morónico, ácido betulónico y las meliferonas que presentan una importante acción anti-HIV.<sup>18</sup>

Estudios preliminares realizados por varios investigadores señalan que se han encontrado mayor porcentaje de compuesto fenólicos en el propóleo que recubre los panales que en el destinado a reducir el ingreso de agentes extraños a la colmena. Se han identificado en el propóleo más de 160 compuestos, 50% de ellos fenólicos a los que se les atribuye acción farmacológica.<sup>8</sup>

### COMPOSICIÓN DEL PROPÓLEO

ELEMENTOS	PORCENTAJE
Resinas y bálsamos	50-55%
Cera	30-40%
Aceites volátiles aromáticos	5-10%
Polen	5%
Sustancias orgánicas y minerales	5%

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.

Se considera que la cera y las mezclas mecánicas presentes en el propóleo, no tienen actividad terapéutica probada y que normalmente constituyen alrededor del 40 al 50% de la masa total en una muestra de propóleo; el resto corresponde a la parte biológicamente activa. La fracción que se relaciona con los polifenoles de ácidos aromáticos constituye las 2/3 partes de esta cantidad, a las cuales se les atribuye la acción farmacológica.<sup>8</sup>

En relación a las sustancias orgánicas incluyen:

- Ácidos orgánicos: ácido benzoico y derivados (ácido hydroxi-4 benzoico, ácido metoxi-4 benzoico, ácido protocatéquico y ácido gálico).
- Ácidos-fenoles: ácido caféico, ácido fenílico, ácido isofenílico.
- Aldehídos aromáticos: vainillina, isovainillina.
- Ácidos aromáticos no saturados: ácido cinámico y derivados ácido p.cumárico, ácido ferúlico (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehido) y ácido isoferúlico.
- Cumarinas: esculetol, escopoletol.
- Flavonoides: ecacetina, crisina amarilla, pectolinarigenina, tectocrisina, galangina 3,5,7-trihidroxiflavona, isalpinina, ramnocitrina, isorhamnetina, quercetina, quemferido, butelenol, ermanina, pinobanksina y apigenina, 5,7-dioxi-3,4-dimetoxiflavon; 3,5-dioxi-7,4- dimetoxiflavona y 5-oxi-7,4-dimetoxiflavona.
- Flavononas: pinostrobinina, sakuranetina.
- Derivados de la quercetina: alfa-acetoxibetulenol.<sup>8</sup>

Existe otro grupo de compuestos que resultan de fundamental importancia en la actividad biológica del propóleo y en el metabolismo celular, destacándose el



ácido nicotínico y pantoténico; además de lactosas, polisacáridos y aminoácidos que representan un papel preponderante en numerosas reacciones celulares. En los estudios del propóleo se han encontrado, vitaminas C, E, A, B2, B6, B1 Y PP, especialmente B3 o nicotinamida, sustancias de naturaleza proteica, ácidos grasos no saturados y ésteres de ácidos aromáticos, que justifican en parte su gran actividad biológica.<sup>8</sup>

## **PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS**

Una de las propiedades más importantes del propóleo es su actividad antibacteriana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides.<sup>12</sup>

El embalsamado de intrusos dentro de la colmena para contener la putrefacción y evitar enfermedades en su interior es una prueba de sus cualidades. En el interior de la colmena hay una alta densidad poblacional, hasta 90.000 abejas, temperaturas de 34°C, intercambio y almacenamiento de alimentos, condiciones ideales para el crecimiento de microorganismos nocivos para las abejas; sin embargo, la presencia de sustancias antimicrobianas del propóleos inhibe su proliferación.<sup>16</sup>

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.<sup>19</sup>

El propóleo es una sustancia compleja constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia.<sup>12</sup>

Levy (1999) sugiere que el mecanismo de la actividad antimicrobiana del propóleo es complejo y puede ser atribuido al sinergismo entre algunos de sus compuestos, tales como flavonoides, ácidos aromáticos, ácidos grasos, ésteres, hidroxiacidos, sesquiterpenos y otros compuestos fenólicos presentes en su composición. Vargas et al. (2004) reportan que los EEP (Extractos Etanólicos de Propóleo) mostraron actividad antimicrobiana contra una serie de bacterias resaltando la inhibición de 45 aislados de *Staphylococcus* sp.<sup>16</sup>

Los flavonoides son compuestos químicos de origen botánico con marcada actividad biológica y han sido usados como marcadores de la calidad del propóleo.

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 bacterias.<sup>6</sup>

Sforcin et al. (2000) señalan que la actividad antimicrobiana del propóleo es el reflejo de sus constituyentes, los cuales pueden variar su composición química, dependiendo de la región y de la estación que sea recolectado.<sup>16</sup>

Muestras de propóleos obtenidas de diferentes orígenes geográficos han demostrado actividad antibacteriana sobre (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*), antifúngica sobre (*Candida albicans*) y antiviral contra (*Avianinfluenza virus*). La actividad de todas las muestras fue similar a pesar de las diferencias en la composición química de las mismas, concluyendo que la acción biológica del propóleo no se debe a una sustancia en particular como único responsable de las acciones estudiadas.<sup>20</sup>

Los extractos de propóleos se han evaluado frente a bacterias grampositivas, entre ellas *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, y gramnegativas como *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, teniendo sobre las bacterias grampositivas mayor efectividad.<sup>17</sup>

En general, la actividad antimicrobiana de este compuesto es más activo contra bacterias Gram positivas que contra bacterias Gram negativas; sin embargo, se ha demostrado su carácter inhibitorio en microorganismos bucales Gram negativos involucrados en procesos cariogénicos y periodontopatogénicos como *Streptococcus mutans*, *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas gingivalis*, e incluso en levaduras como *Candida albicans*.<sup>8</sup>

El uso indiscriminado de antibióticos, ha generado resistencia bacteriana, por lo cual es preciso tener alternativas preventivas y terapéuticas, como los propóleos a los cuales no se les ha descrito resistencia alguna.<sup>21</sup>

## **STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS**

### **GENERALIDADES**

Los estafilococos son cocos gram-positivos dispuestos en pares, tétradas, cortas cadenas y racimos (del griego *staphyle*, racimo de uvas). Fue Robert Koch en 1878 el primero en describir estafilococos en pus humano. En 1880 Luis Pasteur los cultivó en medio líquido, en 1882 Sir William Ogston demostró su

patogenicidad en ratón y cobayo, y en 1884 se produjo el primer intento taxonómico por parte de Rosenbach, quien describió dos especies: *Staphylococcus aureus*, así denominada por el pigmento amarillo-dorado de sus colonias, y *Staphylococcus albus*, que formaba colonias de color blanco-yesoso. En 1930 Julianelle introdujo la primera clasificación basada en las características antigénicas del género y en 1942 Fisk desarrolló un método de tipificación por bacteriófagos. Pero no fue sino hasta fines de la década del 60 y principios de la del 70 que los trabajos de G. Pulverer comenzaron a mostrar el carácter de patógenos oportunistas de los ECN, y finalmente en la década del 70 los múltiples trabajos de Wesley E. Kloos y Karl H. Schleifer dieron un vuelco definitivo en esta materia y pusieron orden en la compleja taxonomía de este grupo, al describir las numerosas especies que aún hoy reconocemos.<sup>22</sup>

Los estafilococos son comunes colonizadores bacterianos de la piel y las membranas mucosas de los seres humanos y otros mamíferos. *S. epidermidis* es la especie más frecuentemente aislada de epitelios humanos, y predominantemente coloniza las axilas (sobacos), la cabeza y las fosas nasales (narinas). El análisis del genoma de *S. epidermidis* se indica que la especie está bien equipada con genes que se predicen para proporcionar protección frente a las duras condiciones que se encuentran en su hábitat natural. Por ejemplo, para hacer frente a los extremos de concentración de sal y la presión osmótica, *S. epidermidis* tiene ocho iones de sodio / intercambiadores de protones y seis sistemas de transporte para osmoprotectores.<sup>23</sup>

Las especies más frecuentemente involucradas en patología humana son: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* y *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus*, que en conjunto alcanzan hasta el 80% de los casos; el resto se debe a *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus capitis* subsp. *ureolyticus*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum* y otras.<sup>22</sup>

Los ECN (Estafilococos Coagulasa Negativo) son un grupo de microorganismos muy heterogéneo y complejo, al que año tras año se van agregando especies nuevas e, inclusive, nuevos fenotipos de especies ya conocidas. Tal es el caso de la primera cepa de *S. epidermidis anaerobia* estricta, recientemente descrita por Rowlinson et al., aislada de una infección de prótesis de cadera en cultivo puro, caracterizada bioquímicamente y confirmada por estudios de secuenciación de los genes 16S ARNr y *rpoB*, que codifica la fracción altamente conservada de la subunidad b de la ARN polimerasa. La cepa presentó ciertas características bioquímicas muy poco compatibles con una bacteria anaerobia estricta, como ser catalasa positiva, metronidazol y penicilina resistente.<sup>22</sup>

Por ser comensales de la piel, los ECN también son uno de los principales agentes etiológicos de las bacteriemias relacionadas con catéteres (40-70%), de las peritonitis asociadas a la contaminación del catéter de Tenckhoff en los pacientes en plan de diálisis peritoneal (20-50%), de las infecciones en las derivaciones ventrículo-atriales o ventrículo-peritoneales (33-64%), y de las endocarditis de válvulas protésicas (22-50%) y nativas (1-3%). Asimismo, son responsables de infecciones asociadas al empleo de otros dispositivos protésicos (en caderas y rodillas, marcapasos, etc.) (19-50%), de abscesos superficiales y de infecciones en piel y partes blandas (hasta en un 57%), de infecciones oftalmológicas posquirúrgicas (> 50%) y de infecciones urinarias (2-5%).<sup>22</sup>

Se los reconoce primariamente asociados a infecciones nosocomiales con cepas de la propia flora (infecciones endógenas) o provenientes del personal de salud (contaminación exógena) en pacientes inmunocomprometidos o debilitados y en neonatos, con la excepción de la mayoría de los episodios de endocarditis de válvula protésica que se manifiestan luego del primer año del implante, algunos episodios de peritonitis en diálisis peritoneal y de las infecciones urinarias causadas por *Staphylococcus saprophyticus*, en mujeres jóvenes sexualmente activas. Por otra parte, las infecciones nosocomiales endógenas o exógenas suelen ser con cepas no solamente resistentes a la meticilina sino multirresistentes.<sup>22</sup>

Normalmente, *S. epidermidis* es un habitante inofensivo y común de la piel humana y superficies mucosas. Sin embargo, después de la penetración de las barreras epidérmicas, las cepas de *S. epidermidis* con un repertorio específico de factores de virulencia pueden invadir un anfitrión que típicamente está predispuesto. Normalmente, las infecciones por *S. epidermidis* son crónicas y se caracterizan por las denominadas biofilms bacterianos y pegajosas aglomeraciones que con frecuencia se desarrollan en implantes en el ámbito hospitalario y que disminuyen drásticamente la eficacia de los antibióticos y de los mecanismos de defensa del huésped inmune. Estudios recientes sobre la interacción de *S. epidermidis* con la defensa innata del huésped humano han avanzado significativamente nuestra comprensión de la patogénesis de estafilococos y proporcionan ejemplos clave de cómo causan enfermedades en los seres humanos estafilococos. Sin embargo, existe una grave falta de comprensión de la regulación de estos procesos.<sup>24</sup>

*S. epidermidis* supone más del 65% de todos los estafilococos aislados en las muestras. En los últimos años, el protagonismo de estas bacterias como patógenos es manifiesto, fundamentalmente causando bacteriemia e infecciones de cuerpos extraños.<sup>25</sup>

*S. epidermidis* pertenece a los estafilococos coagulasa negativos (ECN), que se distinguen de los estafilococos coagulasa positivos, tales como *S. aureus*, por su falta de la enzima coagulasa. Aunque no es tan discriminatorio como para *S. aureus*, los esfuerzos recientes utilizando multilocus escribiendo secuencia han dado una idea de la composición de *S. epidermidis* como especie. El uso de un esquema mejorado recientemente, se encontró que las cepas de *S. epidermidis* muestran un alto nivel de diversidad, con 74 tipos de secuencias identificadas (STS). La mayoría de los aislados pertenecen a clonal complejo 2 (CC2), que incluye el ST2 más frecuentemente aislado. La propagación exitosa de ST2 puede ser debido al hecho de que todos los aislamientos ST2 contienen las secuencias de inserción IS256 y genes *ica*, dos factores que se han encontrado que se correlaciona con la invasividad *S. epidermidis*. Además, la mayoría de los aislamientos ST2 muestran una capacidad *in vitro* para formar biopelículas.<sup>23</sup>

El *S. epidermidis*, que se caracteriza por ser coagulasa negativo y novobiacina sensible, fue considerado por mucho tiempo como un germen contaminante de cultivos. Sin embargo, ahora se le reconoce como un patógeno importante y es considerado el agente causal de diferentes entidades clínicas, entre ellas: Infecciones urinarias intrahospitalarias, osteomielitis, endocarditis de válvula nativa, bacteremia en pacientes inmunosuprimidos, endoftalmítis después de cirugía ocular, infecciones de dispositivos médicos o cuerpos extraños (catéteres endovenosos, fístulas para hemodiálisis, catéteres de diálisis peritoneal, marcapasos, articulaciones protésicas, injertos vasculares, válvulas cardíacas protésicas e implantes de mama).<sup>26</sup>

Anteriormente considerado como relativamente inocua, *Staphylococcus epidermidis* se ha ganado un gran interés en los últimos años y se ha convertido en uno de los patógenos más importantes en las infecciones nosocomiales, especialmente entre inmunocomprometidos, inmunosuprimidos, a largo plazo hospitalizados y pacientes en estado crítico.<sup>27</sup>

## **EPIDEMIOLOGÍA**

Estafilococos coagulasa negativos son parte de la microflora normal de la piel y la mucosa. Sin embargo, en los últimos años, *S. epidermidis* se ha convertido en una causa común de infecciones nosocomiales en pacientes inmunocomprometidos.<sup>28</sup>

Los pacientes neutropénicos e inmunosuprimidos, así como los portadores de catéteres endovenosos o dispositivos protésicos son los que se encuentran en los grupos de mayor riesgo.<sup>26</sup>

Entre los Staphylococcus Coagulasa Negativos (CoNS), *S. epidermidis* causa el mayor número de infecciones. A partir de los estudios en los que se ha realizado la identificación de especies, se puede suponer que la mayoría de las no especificadas infecciones por CoNS se deben a *S. epidermidis*. En particular, *S. epidermidis* representa el agente causal más frecuente de las infecciones de dispositivos médicos permanentes, tales como catéteres intravenosos periféricos o centrales (CVC). Estas infecciones por lo general comienzan con la introducción de bacterias de la piel del paciente o la del personal de salud durante la inserción del dispositivo y se han incrementado en número, probablemente debido a la mayor utilización de tales dispositivos. Infecciones del torrente sanguíneo se producen en al menos 4-5 de cada 1.000 inserciones CVC realizadas en pacientes en cuidados intensivos en los Estados Unidos, por lo menos el 22% de estas infecciones son causadas por *S. epidermidis*. Además de la abundancia de *S. epidermidis* en la piel, esta alta frecuencia de infección es probablemente debido a los complejos mecanismos utilizados para colonizar las superficies del catéter. Además, *S. epidermidis* pueden estar implicados en la articulación protésica, injerto vascular, el sitio quirúrgico, derivación del sistema nervioso central y los dispositivos de las infecciones cardíacas. En particular, y en segundo lugar solamente a *S. aureus*, *S. epidermidis* causan ~ 13% de las endocarditis de válvula protésica (EVP), las infecciones, con una alta tasa de abscesos intracardiacos (38%) y 24% de mortalidad. Sin embargo, las complicaciones graves PVE y otras son raras entre las infecciones de *S. epidermidis*, que pueden caracterizarse como predominantemente subaguda y crónica.<sup>23</sup>

*Staphylococcus epidermidis* es el más frecuente estafilococo coagulasa negativo aislado de infecciones del torrente sanguíneo. Su prevalencia está asociada con su tendencia a colonizar catéteres venosos centrales y otros dispositivos médicos implantados, que se basa en su capacidad para desarrollar una estructura muy consolidada: el biofilm. En particular, la formación de biofilm de cepas de *S. epidermidis* que también son resistentes a la meticilina (SERM) se han convertido en un problema clínico muy grave, ya que estas infecciones son especialmente difíciles de erradicar de los colonizados dispositivos.<sup>29</sup>

## **PATOGENICIDAD**

*Staphylococcus epidermidis* es un estafilococo coagulasa negativo, que ha surgido en los últimos años como uno de los más importantes patógenos nosocomiales y oportunistas. Es más comúnmente asociado con infecciones procedentes de dispositivos médicos permanentes tales como catéteres y prótesis. Esto está directamente relacionado con su capacidad de adherirse y formar biopelículas

gruesas y de varias capas en superficies abióticas, constituido de bacterias colonizadoras y una auto-excreta matriz amorfa exopolimérica en la que están inmersos.<sup>30</sup>

A diferencia del *S. aureus*, se conoce poco sobre el mecanismo de patogénesis del *S. epidermidis*. Sin embargo, se reconoce como característica de muchas cepas la formación de un “biofilm” fabricado en base al ácido teicoico, el cual normalmente forma parte de la pared del estafilococo. Esta capa los protege de la acción de los neutrófilos y a su vez disminuye la penetración de los antibióticos.<sup>26</sup>

Como parte de la microflora epitelial humana, *S. epidermidis* normalmente tiene una relación benigna con su huésped. Además, se ha propuesto que la *S. epidermidis* puede tener una función probiótica mediante la prevención de colonización del huésped por más patógenos graves, tales como *S. aureus*. Sin embargo, no hay evidencia clara que indica que *S. epidermidis* segrega factores que tienen un impacto sobre la colonización de otros microorganismos en vivo.<sup>23</sup>

*S. epidermidis* ha surgido como patógeno nosocomial en infecciones relacionadas con implantes médicos como catéteres, válvulas cardíacas, prótesis de cadera, lentes intraoculares, bandas esclerales, material de sutura, oclusores de puntos lagrimales<sup>16</sup> y lentes de contacto, relacionando su patogenicidad con la capacidad de producir biofilmes.<sup>31</sup>

El factor patogénico principal de *S. epidermidis* se piensa que es mediado por la formación de biopelículas un polisacárido intercelular Adhesina (PIA). De hecho, el papel importante de la formación de biopelículas en la patogénesis de *S. epidermidis* en bio-materiales e infecciones relacionadas se ha documentado en modelos animales.<sup>28</sup>

La capacidad de formar biofilm, una capa viscosa con microcolonias incrustados, es una de las más importantes y uno de los factores de virulencia más extendidos que ocurren en los microbios. Esta capacidad se puede encontrar en las bacterias que viven en el entorno exterior, así como en los agentes patógenos y patógenos potenciales de los seres humanos. La capacidad de formación de biofilm ayuda a las bacterias para resistir las condiciones del entorno circundante. Los biofilms crecen fácilmente sobre superficies de materiales artificiales utilizados para catéteres y dispositivos protésicos, y se estima que las biopelículas están asociadas con alrededor del 65% de las infecciones nosocomiales. Estas infecciones son generalmente crónicas y difíciles de tratar. La mayor incidencia de las infecciones asociadas a la biopelícula se asocia con el uso frecuente de los implantes artificiales y dispositivos médicos hoy en día, y las bacterias más comúnmente aisladas de estas infecciones son los del género *Staphylococcus*.<sup>32</sup>

Un biofilm es un agregado de células adheridas a las superficies vivas como no vivos y embebidos en una matriz de producción propia de sustancias poliméricas extracelulares (EPS). En forma de biofilm, las bacterias están protegidas de los agentes antimicrobianos y el sistema inmune del huésped contribuye a la persistencia de las infecciones biofilm, y puede ser de hasta 1 000 veces más resistentes a los antibióticos y otros agentes antimicrobianos, que sus homólogos planctónicas.<sup>33</sup>

La formación de biofilm se realiza en dos fases: primero, la bacteria se adhiere a la superficie de un implante y en un segundo paso la unión célula-célula y su acumulación en multicapas depende de la habilidad de las células para formar la adhesina intercelular polisacárida (PIA). El biofilm representa sociedades microbianas con sus propias defensas y sistemas de comunicación, confiere a las bacterias protección contra las defensas innatas del huésped y resistencia a diferentes agentes antimicrobianos.<sup>31</sup>

La formación de biopelículas procede por la adhesión inicial de las células a una superficie y su posterior agregación en las estructuras multicelulares. Por lo tanto, el desarrollo de un biofilm requiere fuerzas adhesivas tanto para la colonización de las superficies y las interacciones célula-célula.<sup>23</sup>

Christensen y colaboradores demostraron que las cepas que producen biofilm causan más infecciones que las no productoras y sugirieron que la formación de biofilm es esencial en la patogenicidad de *S. epidermidis*. El biofilm representa sociedades microbianas que tienen sus propias defensas y sistemas de comunicación, estas comunidades celulares son resistentes a los antimicrobianos y solo pueden ser eliminadas quirúrgicamente.<sup>34</sup>

Los biofilms de *S. epidermidis* se caracterizan por la reducción en procesos celulares básicos y la inducción de factores de protección. Cambios fisiológicos en el *S. epidermidis* biofilms protegen a las bacterias de la defensa del sistema inmune del huésped mediante la reducción de la sensibilidad hacia moléculas nocivas, incluyendo antibióticos, citocinas y péptidos antibacterianos, y por provocar un cambio a un estado de inflamación no agresiva y la reducción de la quimiotaxis de células inmunes al sitio de la infección. Tales tácticas de evasión inmune permiten que las bacterias persistan durante la infección. Yao et al (2005b) describen un cambio global en la expresión de genes en *S. epidermidis* biofilms, incluyendo el metabolismo bajo, disminución de la transcripción y la traducción y un paso de la producción aeróbica de energía a la fermentación, resultando en un modo no agresivo y protegida de crecimiento que es menos sensible a los antibióticos y la defensa inmune del huésped y óptimamente adecuado para garantizar la supervivencia a largo plazo durante la infección crónica.<sup>27</sup>



El conocimiento de la dinámica de la formación de biopelículas es fundamental para la comprensión de los procesos que se ejecutan en la capa de biofilm. Hay muchas obras que tratan sobre algunas características del biofilm-positivas bacterias, pero no hay consistencia en las condiciones que sean factibles para la formación de biofilm entre los autores. El único acuerdo es en la temperatura de cultivo, 37 ° C parece ser apropiada. Otras condiciones, por ejemplo, presencia de la nutrición y el tiempo de cultivo, pueden variar en muchas publicaciones.<sup>32</sup>

El éxito de *S. epidermidis* como patógeno dentro del ambiente del hospital también se puede explicar por su naturaleza altamente adaptable, la variabilidad genética inherente y flexibilidad genética intrínseca, todos los cuales pueden hacer frente a entornos externos hostiles. Los estafilococos demuestran la variabilidad fenotípica pronunciada y, como resultado, las propiedades específicas, tales como morfología de la colonia, tasa de crecimiento, la hemólisis y la formación de biopelículas difieren significativamente entre las variantes de la misma cepa parental. *S. epidermidis* posee un potencial de recombinación excelente y la capacidad de transferir material genético, dando lugar a la propagación y la evolución de rasgos de resistencia dentro de comunidades bacterianas nosocomiales. La naturaleza cambiante de *S. epidermidis* y su adaptación al medio ambiente nosocomial dinámica ha sido recientemente destacada por Kozitskaya et al que informó de que las infecciones por *S. epidermidis* fueron causadas principalmente por una única adhesina intercelular (ica)-positivo clon de *S. epidermidis* (Secuencia tipo 27), cuya presencia estaba muy extendida en los hospitales en Alemania. El clon ST27 raramente se encontraba fuera de las instalaciones médicas y difieren de las cepas comensales de la comunidad y se planteó la hipótesis de que el establecimiento exitoso de ST27 en ambientes nosocomiales se vio facilitada por la presencia de genes que codifican las biopelículas y rasgos de resistencia.<sup>27</sup>

La combinación letal de la capacidad de *S. epidermidis* para formar biopelículas resistentes, su resistencia a múltiples fármacos y la flexibilidad genética y las fuerzas secundarias selectivas que operan en los resultados del medio ambiente hospitalario en la supervivencia, otorgan el éxito y el predominio de *S. epidermidis* como patógeno nosocomial.<sup>27</sup>

## **CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE INFECCIONES**

Para arrojar luz sobre el significado clínico de *S. epidermidis* en las infecciones y proporcionar datos para el control y las medidas epidemiológicas, las cepas de este organismo deben ser identificados con certeza. Sin embargo, el diagnóstico

de *S. epidermidis* actualmente depende de mucho tiempo de pruebas microbiológicas convencionales bioquímicas, que proporcionan la identificación de especies y las pruebas de sensibilidad aunque con baja precisión.<sup>29</sup>

Las infecciones por ECN continúan siendo un desafío diagnóstico para microbiólogos, clínicos e infectólogos. Son microorganismos que actúan silenciosa y lentamente, pero con firmeza y virulencia. La correcta interpretación de los hallazgos en el laboratorio y la adecuada valoración del cuadro clínico-epidemiológico, muchas veces crónico, permiten evitar las consecuencias devastadoras en cuanto a morbilidad y hasta mortalidad en las infecciones más graves.<sup>22</sup>

Generalmente, el *S. epidermidis* biofilm matriz comprende varias sustancias poliméricas extracelulares (EPS), tales como polisacáridos, proteínas, cantidades considerables de ácidos extracelulares teicoicos y también ADN extracelular. Todos estos compuestos parecen jugar un papel importante en el proceso de formación de la biopelícula y el mantenimiento. El polisacárido adhesina intercelular (PIA), un polímero de N-acetil glucosamina se ha descrito como crucial para el proceso de adhesión célula-a-célula y la acumulación de biofilm y como un componente esencial de la matriz extracelular. Durante el proceso de proliferación y acumulación como grupos de células de capas múltiples, *S. epidermidis* también secreta un poco de exoenzimas, con el objetivo de ayudar en la invasividad de los tejidos del huésped y las defensas del huésped. La matriz extracelular es extremadamente importante para la conexión intercelular durante la colonización de la superficie y la protección contra el sistema inmune del huésped y la resistencia a los antibióticos.<sup>30</sup>

Este miembro del grupo coagulasa-negativos de los estafilococos puede causar graves infecciones después de la penetración de las barreras de protección epiteliales del cuerpo humano. Médicos relacionados con el dispositivo infecciones representan el principal tipo de infección asociada con *S. epidermidis*. La presentación clínica y el síndrome de infección dependen del sitio de inserción y el tipo de dispositivo médico utilizado.<sup>27</sup>

Ejemplos de infecciones relacionadas con dispositivos asociados con *S. epidermidis* incluyen endocarditis de válvula protésica después de la implantación de la válvula protésica, queratitis debido al contacto uso lente, endoftalmitis de comienzo retrasado post-operatorio asociada con implante de lente intraocular, la bacteriuria después del uso de catéteres urinarios, infección asociada al catéter intravascular y la infección relacionada con la prótesis incluyendo el aflojamiento séptico de prótesis articulares después de la artroplastia total de la articulación. Tales infecciones pueden tener consecuencias potencialmente devastadoras.<sup>27</sup>

Las infecciones son típicamente indolentes, con largos períodos de latencia entre el momento de la contaminación del dispositivo biomédico y la manifestación de la enfermedad. La virulencia está fundamentalmente relacionada con la capacidad de ciertas cepas de expresar adhesinas y formar biofilms en los dispositivos protésicos y catéteres, en cuya intimidad los microorganismos se agregan y forman macrocolonias que crecen protegidas de la acción de antibióticos, anticuerpos, y del resto de los mecanismos de defensa del huésped. También pueden sintetizar enzimas como lipasas, proteasas, hemolisinas y demás exoenzimas que degradan los tejidos y contribuyen a la persistencia de la infección.<sup>22</sup>

## TRATAMIENTO

La primera línea de defensa contra las infecciones bacterianas de estafilococos y otros es proporcionado por los leucocitos polimorfonucleares (PMN). PMN ingieren y matan las bacterias mediante una combinación de mecanismos, que pueden implicar especies reactivas de oxígeno (ROS) y péptidos antimicrobianos (AMP). Además, los tipos de células epiteliales secretan AMP para evitar la colonización bacteriana. Aunque varios mecanismos que eviten la destrucción de PMN en los estafilococos son conocidos, no se entiende cómo estas bacterias coordinan una respuesta adaptativa a los agentes microbicidas y los mecanismos de defensa innata del huésped humano.<sup>24</sup>

El *S. epidermidis* ha desarrollado resistencia a la meticilina en forma paralela al desarrollo de resistencia del *S. aureus*, pero mostrando tasas mucho más elevadas que esta última, y que ha ido incrementándose de manera importante en los últimos 20 años. Mientras que a inicio de los '80s se indicaban tasas de resistencia a la meticilina del 20%, en 1999 estas llegaron al 80%. Esta es la razón por la cual en la actualidad se considera que la vancomicina es el tratamiento de elección para las infecciones causadas por este germen.<sup>26</sup>

El tratamiento tradicional de las infecciones por *S. epidermidis*, incluidas las causadas por biofilms en IMDs, implica el uso de la terapia antibiótica convencional dirigida contra la cepa causal conocida o probable, la elección final, dependiendo de las propiedades microbiológicas, farmacológicas, toxicológicas del agente antibacteriano. Sustancias antimicrobianas son clasificadas en dos grupos principales - agentes bactericidas o bacteriostáticos. Agentes bacteriostáticos detienen el crecimiento bacteriano y la reproducción pero no matan a la célula; agentes bactericidas (incluyendo desinfectantes, antisépticos y antibióticos) eliminan las células bacterianas. A nivel superficial, los antibióticos

matan o inhiben el crecimiento bacteriano y pueden afectar negativamente a la adhesión de los microorganismos, interfiriendo con adherencias bacterianas resultantes en la muerte o la prevención de la unión de las bacterias planctónicas.<sup>27</sup>

El linezolid, por ser un antibiótico eficaz frente a este patógeno y ante su facilidad de uso por vía oral, está siendo de elección en el tratamiento de estas infecciones en el domicilio. Sin embargo, el uso continuado de este fármaco está causando la aparición de resistencias sobre todo en unidades de cuidados intensivos.<sup>25</sup>

La práctica clínica aceptada incluye a menudo terapia de combinación en la que dos o más agentes antimicrobianos se utilizan para tratar las infecciones asociadas a biofilm. Este enfoque proviene de la práctica clínica estándar, de tal manera que un espectro de actividad más amplio se consigue y menores concentraciones de antimicrobiano se requieren, dando como resultado una terapia más eficaz y disminución de la resistencia.<sup>27</sup>

La administración de terapia de antibióticos profilácticos para prevenir la colonización también es una práctica común durante la inserción quirúrgica de la mayoría de los biomateriales. Sin embargo, a menudo surgen complicaciones infecciosas y se ha demostrado que, incluso en la presencia de antibióticos, la adhesión, colonización y el establecimiento de la infección puede ocurrir en la superficie de IMDs (Implanted Medical Devices).<sup>27</sup>

Por desgracia, las infecciones asociadas a implantes son recalcitrantes a la terapia antimicrobiana típica y las defensas del huésped, estas infecciones bacterianas tienden a ser muy difíciles de erradicar y las recaídas son frecuentes.<sup>27</sup>

## **RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS**

En el mundo mueren más de 2 millones de personas al año por infecciones intratables por efecto de su resistencia, fenómeno que se ha agudizado por las enormes cantidades de antibióticos que se utilizan con diferentes propósitos.<sup>35</sup>

La acción de los antibióticos sobre las bacterias se basa en su capacidad de unión con ciertos sitios de la estructura bacteriana, que desactiva las funciones correspondientes. Pese a esto, conforme pasa el tiempo de uso generalizado de los antibióticos, éstos van perdiendo eficacia a tal grado que dejan de ser útiles para la práctica clínica. La resistencia bacteriana a los antibióticos se explica por la generación de mutaciones y por su adquisición a partir de otras bacterias de genes que codifican proteínas responsables de la resistencia bajo diversos mecanismos.<sup>35</sup>

Otros antibióticos inhiben diversos componentes de la maquinaria biosintética de proteínas, impidiendo así la traducción de los RNA mensajeros, proceso fundamental para la vitalidad bacteriana.<sup>35</sup>

La pérdida de eficacia de los antibióticos se debe a la conjunción de 2 circunstancias muy claramente definidas: la capacidad de las bacterias para producir permanentemente cambios genéticos y el uso masivo de antibióticos a nivel mundial, que ha ejercido en seis décadas una presión selectiva que ha dejado a lo largo de los años un número creciente y preocupante de infecciones sin posibilidad de tratamiento.<sup>35</sup>

Los organismos sufren variaciones que van determinando la evolución de las especies, y quedan consignadas como mutaciones en su genoma. Las mutaciones espontáneas en las bacterias se deben a varios factores, principalmente a los errores que cometen las enzimas que incorporan nucleótidos en el proceso replicativo del DNA y a que en cierta proporción dichos errores permanecen sin ser corregidos por los mecanismos reparadores del DNA. Es decir, si la DNA polimerasa se equivoca y en lugar de incorporar un nucleótido con timina incorpora uno con citosina, y si dicho error no es corregido por los sistemas reparadores, el cambio se constituye en una mutación.<sup>35</sup>

Los patógenos deben evadir las defensas del huésped para sobrevivir en el cuerpo humano. Aunque sólo un subconjunto limitado de los mecanismos de defensa, tales como la producción de péptidos antimicrobianos (AMP), están presentes en la piel humana, *S. epidermidis* tiene que hacer frente a diversos mecanismos adicionales de defensa del huésped después de la penetración de la barrera epitelial. El sistema inmune innato es la primera línea de defensa contra un microorganismo invasor tales como *S. epidermidis* y actúa de una manera no específica. Por ejemplo, como una parte clave de la defensa innata del huésped, los neutrófilos ingieren bacterias y las matan usando especies reactivas de oxígeno y AMP. *S. epidermidis* dispone de varios mecanismos para evadir ser ingeridos y asesinado por los neutrófilos.<sup>23</sup>

El tratamiento de la infección por *S. epidermidis* es muy difícil debido a la creciente resistencia a los agentes antibacterianos. El desarrollo de bacterias resistentes a antibióticos se ha incrementado en una tasa alarmante desde la introducción de los antibióticos en los años 1940. El frecuente uso excesivo de antibióticos, el diagnóstico incorrecto, inapropiada prescripción, la dirección preferencial de los pacientes con antibióticos con cobertura de amplio espectro, el incumplimiento de la terapia con antibióticos por los pacientes y el mal uso de los antibióticos en la ganadería y la agricultura han impulsado la rápida propagación de resistencia incluso a los antibióticos modernos. La aparición de resistencia entre los

patógenos nosocomiales también se puede atribuir al aumento del número de pacientes inmunodeprimidos, el uso de procedimientos invasivos y dispositivos y la ruptura de las prácticas de infección y control de las enfermedades dentro del ambiente hospitalario. La resistencia antimicrobiana tiene un impacto significativo en el resultado del paciente mediante la mejora de la virulencia, retardo de la administración de la terapia apropiada, limitar la terapia disponible y aumentar el tiempo de hospitalización y recuperación posterior, lo que lleva a una mayor morbilidad y mortalidad.<sup>27</sup>

El *S. epidermidis*, dado que es un microorganismo de transmisión nosocomial, tiene una alta tasa de resistencia a múltiples antibióticos. Cerca del 90% producen beta lactamasas, mientras que 60% al 80% son resistentes a la meticilina. Además, estas bacterias suelen ser resistentes a macrólidos, lincosaminas, aminoglicósidos y fluoroquinolonas. El fármaco de elección es la vancomicina y la duración del tratamiento varía de acuerdo al tipo de infección. Se han descrito en Estados Unidos cepas con sensibilidad disminuida a la vancomicina, por lo que la emergencia de resistencia a los glicopéptidos mostrada por el *S. epidermidis* se convertiría en un serio problema de salud pública.<sup>26</sup>

*S. epidermidis*, es también uno de los principales patógenos nosocomiales que muestran un patrón de resistencia múltiple característica, incluyendo la resistencia a la meticilina, quinilone y antibióticos glicopéptidos. El amplio uso de agentes antimicrobianos y desinfectantes en el medio hospitalario ofrece un escenario ideal para el desarrollo de bacterias resistentes, agravando aún más el problema.<sup>27</sup>

En muchos países, incluyendo los Estados Unidos, el 75-90% de todos los aislamientos hospitalarios de *S. epidermidis* resistentes a meticilina, un antibiótico de primera elección frente a las infecciones por estafilococos, lo que es incluso más alta que la tasa correspondiente a *S. aureus* (40 - 60%). En algunos países, como los Países Bajos, programas eficientes de búsqueda y destrucción y estrictas medidas de higiene han tenido éxito en mantener la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente en hospitales en un nivel bajo, mientras que éste ha demostrado ser mucho menos exitoso en la meticilina *S. epidermidis* resistente.<sup>23</sup>

Además de resistencia a la meticilina, las cepas de *S. epidermidis* han adquirido resistencia a varios antibióticos, incluyendo la rifamicina, fluoroquinolonas, gentamicina, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, clindamicina y sulfonamidas. La resistencia a las estreptograminas, linezolid y tigeciclina también ocurre, aunque raramente. La mayoría de los genes de resistencia a antibióticos es codificada por plásmidos y son más frecuentes en los estafilococos resistentes a la meticilina de las cepas susceptibles. Esto es probablemente debido al hecho de

que la resistencia a la meticilina y otros antibióticos es frecuente entre las cepas nosocomiales endémicas. A pesar de una amplia resistencia a la meticilina y otros antibióticos, 80% de los catéteres infectados con *S. epidermidis* todavía pueden ser tratados con antibióticos tales como la vancomicina, sin retirar el catéter. Sin embargo, la resistencia intermedia a la vancomicina también ha sido descrita y la formación de biofilm de *staphylococcus* disminuye significativamente la actividad de la vancomicina y otros antibióticos.<sup>23</sup>

Las nuevas estrategias para el control de *S. epidermidis* biofilm mediadas por infecciones han atraído la atención de muchos grupos de investigación y varios estudios han y están llevando a cabo con el fin de encontrar agentes antimicrobianos eficaces contra esta bacteria, específicamente en este modo de crecimiento. Sustancias naturales con posibles propiedades antimicrobianas han despertado el interés de los investigadores y se señalan como posibles alternativas a los antibióticos. Algunos ejemplos son los alcoholes de terpeno farnesol y otros, N-acetilcisteína (NAC), berberina, casbane diterpeno, salvipisone, etc. que se han probado como agentes novedosos contra varios microorganismos patógenos tales como bacterias, hongos y virus, y también a saber, contra *S. epidermidis*. El desarrollo de resistencia adaptativa a los antibióticos utilizados en la práctica clínica habitual también ha aumentado el interés en la nueva generación de antibióticos como la tigeciclina, daptomicina, linezolid, arylomycins, etc, que son vistos como alternativas terapéuticas. Además, la rápida aparición de resistencia ha puesto de relieve la importancia de la combinación de antibióticos o con otros agentes antimicrobianos, con miras a la reducción de la probabilidad de desarrollo de resistencia y la potenciación de los efectos de los diferentes agentes antimicrobianos por la acción sinérgica.<sup>33</sup>

Algunas de estas estrategias mostraron alentadores resultados in vitro en el control de biopelículas de *S. epidermidis* y parecen ser alternativas prometedoras a los antibióticos estándar utilizados habitualmente en el tratamiento de infecciones relacionadas con *S. epidermidis*. Debido a la creciente participación de *S. epidermidis* en infecciones relacionadas a cuerpos extraños, el rápido desarrollo y exposición de resistencia a múltiples antibióticos, así como su gran propensión a causar infecciones persistentes, crónicas y recurrentes, este patógeno sigue siendo un desafío y un tema de estudio por varios grupos de investigación y continúa recibiendo gran atención.<sup>33</sup>

Un problema actual preocupante es el aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos tradicionales comúnmente utilizados en los hospitales para tratar infecciones coagulasa negativos (ECN), que se agrava cuando las células están en biofilms. Generalmente, los agentes antimicrobianos solos son inefectivos contra biofilms de *S. epidermidis*. Rifampicina, un inhibidor de la síntesis de ARN,

se encuentra entre las moléculas más eficaces para el tratamiento de las infecciones relacionadas con biofilm. Sin embargo, este antibiótico tiene una alta propensión para el desarrollo rápido de resistencia. Este hecho hace inviable la rifampicina como monoterapia. Una solución a este problema es la combinación de agentes antimicrobianos, evitando el uso de monoterapia. La combinación antibiótica representa una opción terapéutica en el tratamiento de las infecciones por *S. epidermidis*. De hecho, algunos autores han demostrado que, por ejemplo, la combinación de rifampicina con quinolonas o ácido fusídico pueda impedir la aparición de resistencia a la rifampicina durante el tratamiento.<sup>33</sup>

Además de evitar la resistencia, esta estrategia también puede potenciar el efecto de los agentes antimicrobianos individuales por acción sinérgica. Gomes et al. probó la susceptibilidad de *S. epidermidis* biofilms in vitro a los antibióticos tradicionales, solos y en combinaciones dobles de concentración de punto de ruptura y demostró que hay algunas combinaciones que pueden ser potencialmente considerados para el uso terapéutico para un control eficaz de *S. epidermidis* biofilm relacionados con la infección. La rifampicina está siempre presente en estas combinaciones, siendo la rifampicina+gentamicina y rifampicina+clindamicina y las combinaciones más activas con el más amplio rango de acción.<sup>33</sup>

La capacidad de resistencia a los antibióticos se evidencia por el cultivo de microorganismos en biopelículas impulsando la búsqueda continua de nuevos agentes eficaces en el aclaramiento de las células en este modo de crecimiento. Nuevas estrategias de control de *S. epidermidis* biofilm son entonces necesarias para combatir estas relaciones biofilm infecciones/ enfermedades.<sup>33</sup>

La resistencia intrínseca y adquirida de poblaciones de biopelícula a los agentes antimicrobianos ha sido bien documentado. El mecanismo de resistencia biofilm es multifactorial e incluye penetración deteriorada, reducción de la tasa de crecimiento y un fenotipo distinto exhibido por las bacterias del biofilm incluyendo la expresión de genes de resistencia. El entorno de biofilm promueve el intercambio genético de genes de resistencia antimicrobiana, el aumento de la virulencia bacteriana y contribuir al desarrollo de fenotipos de multiresistencia. Saginur et al (2006) han confirmado recientemente el aumento de la resistencia de la película biológica asociada a los estafilococos y demostrado que las poblaciones de biopelículas son mucho más resistentes a los efectos inhibidores y bactericida de los antibióticos que los cultivos planctónicos.<sup>27</sup>

El tratamiento con antibióticos puede matar a las bacterias planctónicas desprendiéndolas de la superficie del biofilm, sin embargo, no logran erradicar las incluidas dentro de la biopelícula, que puede posteriormente actuar como un nido



de infección recurrente. Después del tratamiento antibiótico estándar, una minoría de bacterias resistentes a los fármacos existentes repueblan el biofilm. El retratamiento posterior de la biopelícula repoblada resulta sólo en una modesta reducción en el número de bacterias, lo que indica que el biofilm repoblado es mucho más resistente al tratamiento.<sup>27</sup>

Las infecciones por *S. epidermidis* rara vez se convierten en enfermedades potencialmente mortales, su frecuencia y el hecho de que son muy difíciles de tratar, representan una pesada carga para el sistema de salud pública.<sup>23</sup>

La elevada resistencia presentada por *Staphylococcus epidermidis* células del biofilm a los agentes antimicrobianos impulsó la persistente demanda por nuevas estrategias de control contra ésta bacteria patógena en éste modo de crecimiento.<sup>33</sup>

Hoy en día, el interés en sustancias naturales como posibles alternativas a los antibióticos y los nuevos fármacos antimicrobianos / anti-biofilm, es decir, las sustancias naturales producidas por las plantas, cuyos compuestos bioactivos son bien conocidos por sus propiedades antimicrobianas, está emergiendo y está en el foco de algunas empresas biotecnológicas. La amplia gama de metabolitos secundarios producidos por las plantas sirve para proteger contra los patógenos microbianos y de los daños inducidos por parásitos. Quizá fue este hecho que ha despertado el interés en este tipo de compuestos para el tratamiento de infecciones en humanos.<sup>33</sup>

## **INFECCIONES BUCALES**

Entre los individuos jóvenes sanos (edad, 32-59 años, edad media, 45 años) con periodontitis y la evidencia tanto de *S. aureus* y *Staphylococcus epidermidis* en sus surcos subgingivales, el penicilina resistente *S. epidermidis* es el organismo predominante. Las personas con implantes dentales fallidos en ocasiones (17%) demuestran *S. epidermidis* en surcos subgingivales peri-implante. Los estudios que utilizan la tecnología molecular indican que los factores de virulencia (genes FgBP) asociados con *S. aureus* y *S. epidermidis* están presentes en algunas cámaras de la pulpa asépticamente abiertas de dientes no vitales que no tienen filtración coronal alrededor de márgenes de la restauración ni los conductos sinusales.<sup>36</sup>

Procedimientos clínicos como extracciones dentales, tratamiento periodontal, y endodóntico, pueden causar una bacteriemia transitoria, la cual en pocos minutos es eliminada por el sistema reticuloendotelial del hospedero; en pacientes que

padecen de afecciones valvulares cardíacas, o vasculares, esta bacteriemia puede resultar muy problemática por su potencial de desarrollar endocarditis infecciosa, infarto del miocardio, o infarto cerebral. La bacteriemia ocurre con mayor frecuencia de 1 a 5 minutos después de haber realizado una extracción dental, y permanece aproximadamente otros 15 minutos después de culminado el acto operatorio. Entre otros procedimientos odontológicos que pueden generar una bacteriemia tenemos: cirugía periodontal (gingivectomía, osteoplastia, alisado radicular, levantamiento de colgajo etc.) de un 36% a 88%, procedimientos de higiene bucal por parte del odontólogo (tartrectomía mediante ultrasonido y profilaxis bucal) hasta un 4%, procedimientos de higiene bucal por parte del paciente (cepillado dental, uso del hilo dental y estimulación de las encías) hasta un 51%.<sup>37</sup>

*Staphylococcus epidermidis*, han sido identificados entre la microflora de las infecciones endodónticas, pero su importancia como patógenos endodónticos ha sido ignorado en gran medida debido a su presencia casi universal sobre la piel y la consiguiente probabilidad de contaminación de la muestra.<sup>38</sup>

El tratamiento de las infecciones endodónticas implica la inserción de gutapercha en el canal radicular desbridado y desinfectado y la restauración de los dientes. Este tratamiento puede fallar, con el canal de la raíz de nuevo infectado. Una gama de bacterias se han aislado a partir de tales sitios infectados, incluyendo *P. acnes* y *S. epidermidis*, pero éstos generalmente han sido consideradas como contaminantes.<sup>38</sup>

*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* se encuentran tanto en los pacientes con infección dental (especialmente absceso) y en aquellos con infección de prótesis articulares. Estos organismos, que por lo general tienen una fuente no oral, en conjunto representan casi dos tercios de los casos de LPJI de la cadera. Cerca de 250.000 prótesis de cadera se colocan en los Estados Unidos al año, principalmente en las personas mayores de 65 años. Asociaciones temporales entre la infección dental y LPJI históricamente dio lugar a una amplia aceptación entre los ortopedistas de la necesidad de la administración de antibióticos a los pacientes con artroplastia antes de someterse a tratamiento dental.<sup>39</sup>

## CLORHEXIDINA

### GENERALIDADES.

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.<sup>40</sup>

La forma en base es mínimamente soluble en agua, pero la forma en sal, el digluconato, es mucho más soluble.<sup>41</sup>

Se emplea como antiséptico para lavado de mucosas, heridas, quemaduras y escaras. Produce desinfección de piel y mucosas sin causar irritación ni manchar, como el caso de otros antisépticos. En obstetricia se emplea en lavados, es el antiséptico de elección. Es muy útil, vía tópica, en el lavado de las úlceras de decúbito o por presión en el paciente encamado, previo al tratamiento con desbridantes o apósitos cicatrizantes.<sup>40</sup>

Por décadas, la clorhexidina ha sido ampliamente usada como desinfectante de la piel y las mucosas por profesionales de la salud. La reacción más frecuente a la clorhexidina es la dermatitis de contacto, pero ésta es más común con los productos a base de yodo. Se han reportado reacciones de hipersensibilidad y anafilaxia a la clorhexidina, pero han sido casos esporádicos.<sup>41</sup>

La clorhexidina al 0.12% desafortunadamente presenta efectos secundarios adversos, como disgeusia y tinción dental, razones que limitan su utilización.<sup>42</sup>

La clorhexidina se absorbe escasamente por la piel; solamente se han identificado trazas en suero cuando se emplea en neonatos prematuros, por lo cual su uso no está indicado para menores de 28 días. Aun así, no ha habido reportes de efectos adversos en pacientes pediátricos y no hay datos que sugieran que los niveles traza tengan importancia clínica. Se debe evitar el contacto ocular con preparaciones de concentración superior al 1 %, porque pueden causar conjuntivitis y lesión corneal, y no se debe usar clorhexidina en cirugías que involucren el oído medio o interno, ya que es ototóxica.<sup>41</sup>

La baja absorción de la clorhexidina es un factor en su baja toxicidad. Se metaboliza en el organismo, absorbiéndose débilmente por mucosa del tracto digestivo y eliminándose por las heces el 90% del fármaco absorbido y el resto lo hace por orina.<sup>43</sup>

En boca se absorbe rápidamente a las superficies, incluidos los dientes con película adquirida, proteínas salivales y a la hidroxiapatita. La clorhexidina absorbida se libera gradualmente en 8-12 horas en su forma activa. Después de 24 horas aún pueden recuperarse concentraciones bajas de clorhexidina, lo que evita la colonización bacteriana durante ese tiempo. Su pH óptimo se encuentra entre 5,5 y 7. En función del pH ejerce su acción frente a diferentes bacterias. Con un pH entre 5,0 y 8,0 es activa frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. El desarrollo de resistencias es muy escaso. También reduce los microorganismos aerobios y anaerobios de la placa en un 54-97% en un periodo de seis meses.<sup>43</sup>

Debido a sus propiedades catiónicas se une a la hidroxiapatita del esmalte, a la película adquirida, y a las proteínas salivales. La clorhexidina absorbida se libera gradualmente, esto pueda ocurrir durante las 12 a 24 hrs. Después de su absorción con lo que se evita la colonización bacteriana en ese tiempo (sustantividad). Esta molécula está compuesta por cristales incoloros e inodoros solubles en agua y de aquí su uso mediante la fórmula de sal hidrosoluble.<sup>43</sup>

## **ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

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. Posteriormente comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano.<sup>43</sup>

La primera investigación que mencionó a la clorhexidina como colutorio bucal, para el tratamiento de la gingivitis inducida por placa en humanos, la realizó Løe en 1969, en un estudio a corto plazo.<sup>44</sup>

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.<sup>43</sup>

No es hasta 1976, que Løe realizó un estudio clínico a largo plazo (dos años) de un colutorio que contenía clorhexidina al 0,20%. Este estudio concluyó que la

clorhexidina al 0,20% era efectiva y no tenía efectos tóxicos si se utilizaba a largo plazo (dos años), en el control de la gingivitis. <sup>44</sup>

## **COMPOSICIÓN QUÍMICA**

La clorhexidina es una molécula bicatiónica simétrica consistente en dos anillos: cuatro clorofenil y dos grupos bisguanida conectados por una cadena central de decametileno (clorofenil bisguanida). <sup>43</sup>

El gluconato de clorhexidina es una sal de clorhexidina y ácido glucónico. La clorhexidina es una bisguanida de naturaleza catiónica, por lo que tiene afinidad por la pared celular de los microorganismos, que está cargada negativamente, alterándola. <sup>44</sup>

Este compuesto es una base fuerte dicatiónica a pH superior a 3,5 con dos cargas positivas en cada extremo del puente de hexametileno. Es esta naturaleza dicatiónica la que la hace extremadamente interactiva con los aniones, lo que es relevante para su eficacia, seguridad, efectos secundarios locales y dificultad para formularla en productos. Aunque es una base, la clorhexidina se mantiene más estable en forma de sal y la preparación más común es la sal de digluconato por su alta solubilidad en agua. <sup>43</sup>

## **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA**

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. <sup>41</sup>

Algunas especies de *pseudomonas* y *proteus* tienen baja sensibilidad. Es ineficaz frente a micobacterias. A baja concentración es bacteriostático; a concentración más elevada se comporta como bactericida. <sup>40</sup>

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. <sup>44</sup>

Por otro lado, debe tenerse en cuenta que, al ser una molécula catiónica, su actividad puede verse reducida por jabones naturales, aniones inorgánicos, surfactantes no iónicos y cremas de manos que contengan agentes aniónicos que generen emulsiones.<sup>41</sup>

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.<sup>44</sup>

La actividad antimicrobiana es atribuida a su unión y disrupción de la membrana citoplásmica, que alteran el equilibrio osmótico y causan precipitación de los contenidos celulares.<sup>41</sup>

Con PH fisiológico la molécula de clorhexidina se disocia, de esta forma una molécula cargada (+) así liberada será capaz de unirse a la pared bacteriana, cargada (-), alterando de esta manera el equilibrio osmótico.<sup>43</sup>

Actúa contra la pared celular de los microorganismos causando alteraciones en la movilidad electroforética de todo el microorganismo, alterando la integridad de la pared celular y facilitando la liberación de los componentes intracelulares. A bajas concentraciones es bacteriostático, las sustancias de bajo peso molecular, (K y P) pasan a través de la membrana celular y altas concentraciones es bactericida, produce precipitación del citoplasma.<sup>43</sup>

La clorhexidina también actúa sobre la inhibición de la formación de biopelícula mediante dos mecanismos:

- Reducción de la colonización de biopelícula: se une a los grupos ácidos aniónicos de las glucoproteínas salivales reduciendo así el grosor de la placa. Se une a las bacterias salivales interfiriendo de esta forma su adherencia al diente. La clorhexidina tendría una acción antiinflamatoria por su poder detergente y antioxidante. En efecto ella inhibe la capacidad de las bacterias de activar el metabolismo oxidativa de los neutrófilos impidiendo por lo mismo, la enorme liberación por estos últimos de enzimas que participan en el proceso inflamatorio.
- Simultáneamente, ella inhibe los efectos deletéreos de la producción excesiva de radicales libres en la inflamación gingival.<sup>4</sup>

## **HIPÓTESIS**

El extracto de propóleo a 20% y 40% posee propiedades antimicrobianas semejantes a las de la clorhexidina en pruebas in vitro ante Staphylococcus Epidermidis.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Determinar la eficacia del extracto de propóleo como agente antibacteriano ante Staphylococcus Epidermidis en comparación con la clorhexidina.

### **ESPECÍFICOS**

- Comparar los halos de inhibición del extracto de propóleo y de la clorhexidina en cultivos de Staphylococcus Epidermidis.
- Determinar si el extrato de propóleo tiene actividad bactericida o bacteriostática ante Staphylococcus Epidermidis.
- Descubrir a qué concentración es más efectivo el extracto de propóleo como agente antibacteriano.

## **DISEÑO METODOLÓGICO**

TIPO DE ESTUDIO: Estudio comparativo, prolectivo y longitudinal.

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

- Universo: medios de cultivo para Staphylococcus Epidermidis.
- Muestra: cepa de Staphylococcus Epidermidis.
- Criterios de inclusión: cepas de Staphylococcus Epidermidis.
- Criterios de exclusión: cepas de microorganismos distintos.

VARIABLES:

<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>			
VARIABLE	DEFINICION	MEDICIÓN	CATEGORIA
STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS	ES UN HABITANTE INOFENSIVO Y COMÚN DE LA PIEL HUMANA Y SUPERFICIES MUCOSAS. PRESENTE EN INFECCIONES NOSOCOMIALES Y ABSCESOS DENTALES	CUANTITATIVA DISCONTINUA	HALOS DE INHIBICIÓN ( mm ) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resistente</li> <li>• Intermedio</li> <li>• Susceptible</li> </ul>

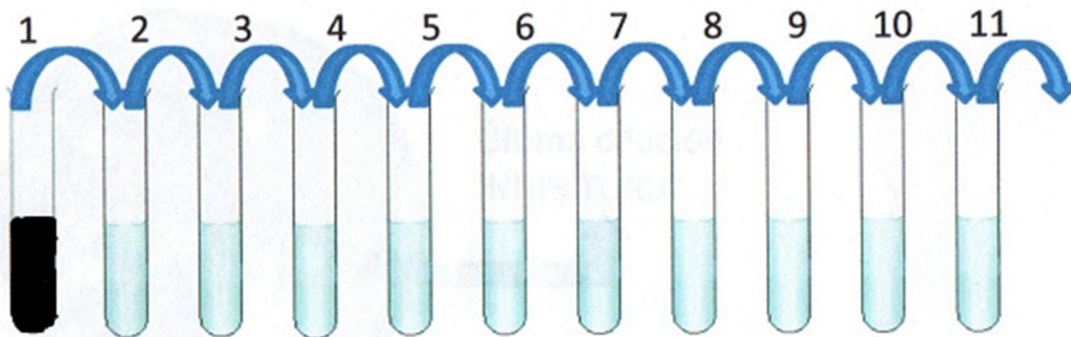
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>			
VARIABLE	DEFINICION	MEDICIÓN	CATEGORIA
EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO	SUSTANCIA ELABORADA A BASE DE ALCOHOL Y PROPÓLEO, PARA AFECCIONES EN CAVIDAD ORAL	CUALITATIVA NOMINAL DICOTOMICA	ACCIÓN ANTIBACTERIANA SÍ No
CLOREXHIDINA	ANTISÉPTICO Y DESINFECTANTE BIGUANÍDICO	CUANTITATIVA DISCONTINUA	HALOS DE INHIBICIÓN ( mm )



	<p>CON ACCIÓN FRENTE A UNA AMPLIA GAMA DE BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVAS, ANAEROBIOS FACULTATIVOS, AEROBIOS Y LEVADURAS.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resistente</li> <li>• Intermedio</li> <li>• Susceptible</li> </ul>
--	---	--	---

## TÉCNICA

Se prepararon primero las diluciones con 2 soluciones del extracto de propóleo (20% y 40%) en laboratorio de la FES Zaragoza bajo normas de bioseguridad y con ayuda del laboratorista y profesora titular de la siguiente manera: se tomaron 11 frascos color ambar los cuales fueron rotulados del 1 al 11. A los frascos rotulados con los números del 2 al 11 se les agregó 4ml de agua destilada con la ayuda de una pipeta. Al frasco 1 se añadió 6 ml de extracto de propóleo, con una pipeta de 5 ml se tomaron 4 ml del frasco 1 y se agregaron al frasco rotulado con el número 2, agitando hasta homologar el contenido; con la misma pipeta se tomaron 4 ml del frasco 2 y se agregaron al frasco 3, agitando hasta homologar el contenido; se repitió la misma operación hasta llegar al frasco 11 del cual se tomaron 4 ml y se desecharon. Se repitió el mismo procedimiento con la solución 2.



Las diluciones en los frascos quedaron de la siguiente forma: Frasco 1 solución madre. Frasco 2, 1:1. Frasco 3, 1:2. Frasco 4, 1:4. Frasco 5, 1:8. Frasco 6, 1:16.

Frasco 7, 1:32. Frasco 8, 1:64. Frasco 9, 1:128. Frasco 10, 1:256. Frasco 11, 1:512.

Para el sembrado del microorganismo se utilizaron 10 cajas petri de agar Mueller Hinton, en las cuales se sembró *Staphylococcus Epidermidis* masivamente con la ayuda de hisópos estériles.

Una vez sembrado el microorganismo se procedió a colocar discos de papel filtro impregnados con cada una de las diluciones de propóleo elaboradas anteriormente. Cerca del mechero, se esterilizaron las pinzas para tomar un disco impregnándolo con la solución del frasco 1, escurriéndolo y posteriormente colocándolo en la caja petri y rotulándolo en la parte posterior de la caja. La misma operación se realizó con cada dilución hasta llegar al frasco número 11. En el centro de la caja se colocó un disco impregnado con clorhexidina. Esto se realizó en las 10 cajas Petri sembradas con *Staphylococcus Epidermidis*. Se repitió el mismo procedimiento con las diluciones de la solución 2. Las cajas fueron incubadas durante 24 horas, pasado éste lapso de tiempo se anotaron los resultados midiendo los halos de inhibición con una regla Vernier.

Para determinar si el propóleo es bactericida o bacteriostático se tomó 1 ml de la última dilución que generó un halo de inhibición y se colocó en un tubo de ensayo estéril rotulado como "ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA". En un tubo de ensayo estéril se agregó 1 ml de solución isotónica estéril y se rotuló como "CULTIVO DE PRUEBA". Cerca del mechero se tomó una asada de *Staphylococcus Epidermidis* y se introdujo en el tubo "CULTIVO DE PRUEBA", una vez homogeneizado el contenido se tomó 1 ml de éste tubo y fue colocado en el tubo rotulado como "ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA", agitándolo e incubándolo de 30 minutos a 1 hora a 37 °C.

Se rotuló una caja de agar nutritivo como "CULTIVO DE LA ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA" anotando la fecha. Una vez terminado el tiempo de incubación, con una pipeta estéril se tomó 0.5 ml de la "ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA" colocándolos en la caja de agar nutritivo "CULTIVO DE LA ÚLTIMA DILUCIÓN INHIBITORIA". Se sembró por estría cruzada y fue incubado 24 horas a 37 °C.

## **DISEÑO ESTADÍSTICO**

Las lecturas se evaluaron por el grado de inhibición de la bacteria luego de haber estado expuesta a la actividad de las dos sustancias en un lapso de tiempo de 12 y 24 horas.

Una vez obtenido los resultados se realizaron tablas de datos según los halos de inhibición obtenidos por cada sustancia utilizada, (Extracto etanólico de propóleo y Clorhexidina) según los halos de inhibición por cada uno en contra del S. epidermidis y fueron analizados estadísticamente mediante el programa computacional SPSS de la unidad de informática de la FES Zaragoza.

## RECURSOS

Humanos:

- Encargado de laboratorio.
- Director de tesis (área microbiológica).
- Asesor de tesis (área metodológica).
- Tesista.

Físicos:

- Laboratorio de FES Zaragoza Campus I.

Materiales:

- Bata blanca.
- Cepa de Staphylococcus Epidermidis.
- Cajas petri estériles con agar Mueller Hinton.
- Mechero.
- Hisópos estériles.
- Asas bacteriológicas.
- Cinta maskin.
- Frascos color ambar.
- Pipeta de 10 y 5 ml.
- Gradilla.
- Tubos de ensayo.
- Agua destilada.
- Discos de papel filtro estériles.
- Pinzas estériles.
- Bolígrafo.
- Computadora.
- Cámara fotográfica.
- Incubadora.
- Solución isotónica estéril.

- Extracto de propóleo (solución 1 al 20%, solución 2 al 40%).
- Clorhexidina.

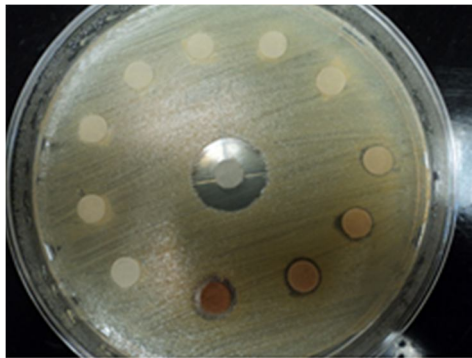
## RESULTADOS

### SOLUCIÓN 1 (20%)

CAJA	HALO DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS	DILUCIÓN (DISCOS)										CLORHEXIDINA	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11(solución madre)
1		8	7	7	0	0	0	0	0	0	0	9	15
2		9	6	6	0	0	0	0	0	0	0	12	15
3		6	7	9	0	0	0	0	0	0	0	10	16
4		7	7	8	0	0	0	0	0	0	0	11	16
5		8	7	6	0	0	0	0	0	0	0	11	17

### Imagen 1

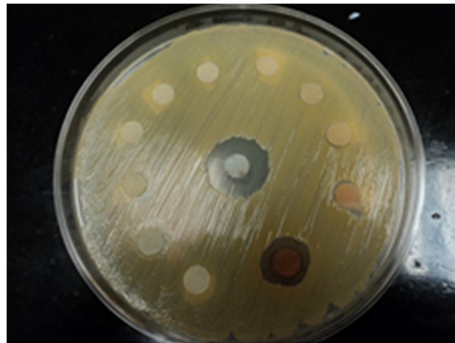
#### Solución 1 (caja 1)



En las diluciones 1, 2 y 3 encontramos halos de inhibición de un tamaño muy cercano al obtenido con la solución madre, pero lejano al obtenido con la clorhexidina. De las diluciones 4 a la 10 no se obtuvieron halos de inhibición.

## Imagen 2

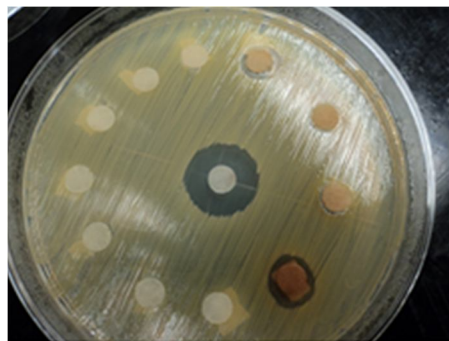
### Solución 1 (caja 2)



En la solución madre se obtuvo un halo de inhibición muy cercano al obtenido con la clorhexidina, con una diferencia de 3mm entre ambos. Obtuvimos también halos de inhibición en las diluciones 1, 2 y 3, de la 4 a la 10 no se obtuvo ningún halo de inhibición.

## Imagen 3

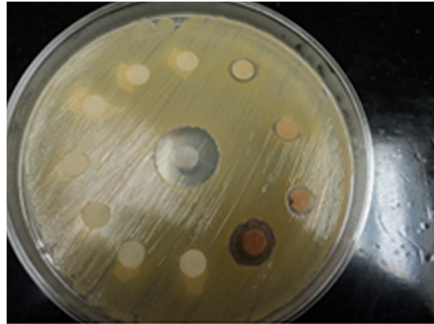
### Solución 1 (caja 3)



El halo de inhibición obtenido en la clorhexidina fue mucho mayor que el de las diluciones de propóleo, incluso, de la solución madre. Sorprendentemente en la dilución 3 se obtuvo un halo de inhibición más grande que en la 1 y 2.

#### **Imagen 4**

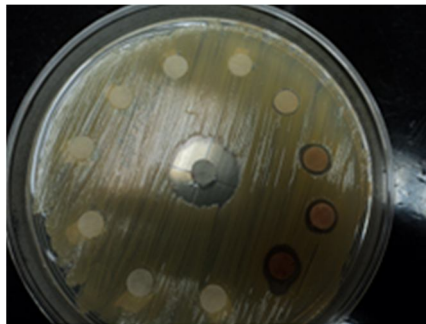
##### **Solución 1 (caja 4)**



Los halos de inhibición de las diluciones 1 y 2 fueron iguales, presentando la dilución 3 un halo mayor por 1mm, al igual que en la caja 3 la dilución a menor concentración presentó mayor inhibición. En cuanto a la solución madre obtuvimos un halo de inhibición muy bueno pero aún inferior al de la clorhexidina.

#### **Imagen 5**

##### **Solución 1 (caja 5)**



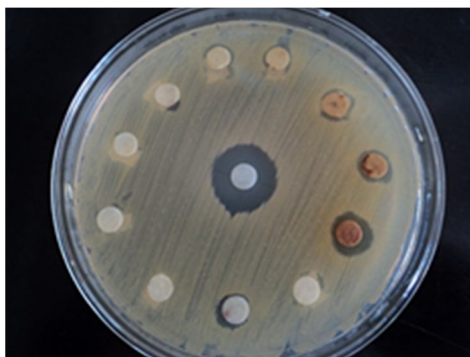
Obtuvimos el mayor halo de inhibición de la clorhexidina en las pruebas con la solución 1 de propóleo. Al igual que en las demás cajas de Petri solamente presentaron halo de inhibición las diluciones 1, 2 y 3, además de la solución madre que en promedio tuvo un halo de inhibición muy similar en todas las cajas.

## SOLUCIÓN 2 (40%)

CAJA	DILUCIÓN (DISCOS)											CLORHEXIDINA	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11 (solución madre)		
1	HALO DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS	9	9	10	9	8	0	0	0	8	8	10	17
2		8	10	8	0	0	0	0	0	0	0	10	17
3		8	8	10	6	0	0	0	0	0	0	12	16
4		15	8	7	6	0	0	0	0	0	0	14	15
5		10	9	7	7	7	0	0	0	0	0	11	15

**Imagen 6**

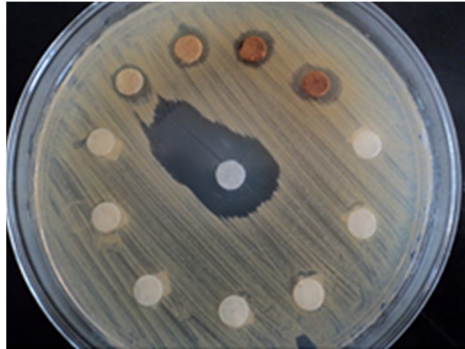
**Solución 2 (caja 1)**



Se obtuvieron halos de inhibición en 7 diluciones con valores semejantes. Sorprendentemente se obtuvieron también en las diluciones 9 y 10, lo cual no se había obtenido en ninguna otra prueba.

### Imagen 7

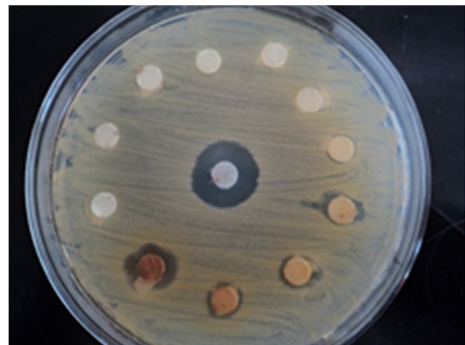
#### Solución 2 (caja 2)



Obtuvimos halos de inhibición en las diluciones 1, 2 y 3 con un valor semejante al de la dilución madre. El halo de inhibición de la clorhexidina salió alterado seguramente debido a un escurrimiento accidental.

### Imagen 8

#### Solución 2 (caja 3)

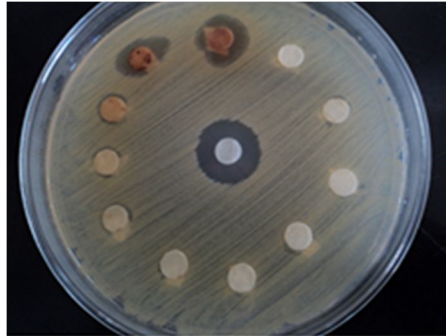


Las diluciones que presentaron halo de inhibición fueron la 1, 2, 3 y 4. un dato curioso es que la dilución 3 presentó un halo de inhibición mayor que el de la 1 y 2, incluso muy cercano al obtenido en la solución madre.



### Imagen 9

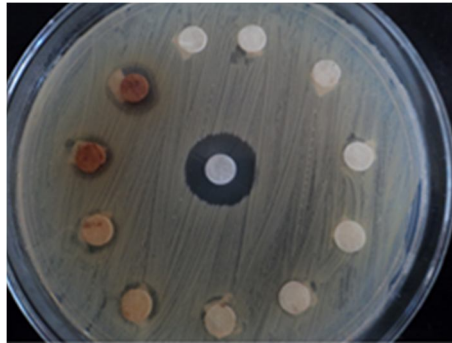
#### Solución 2 (caja 4)



El halo de inhibición obtenido en la dilución 1 fue de una amplitud más grande que el de la dilución madre por 1mm y sorprendentemente fue de igual amplitud que el halo de inhibición de la clorhexidina.

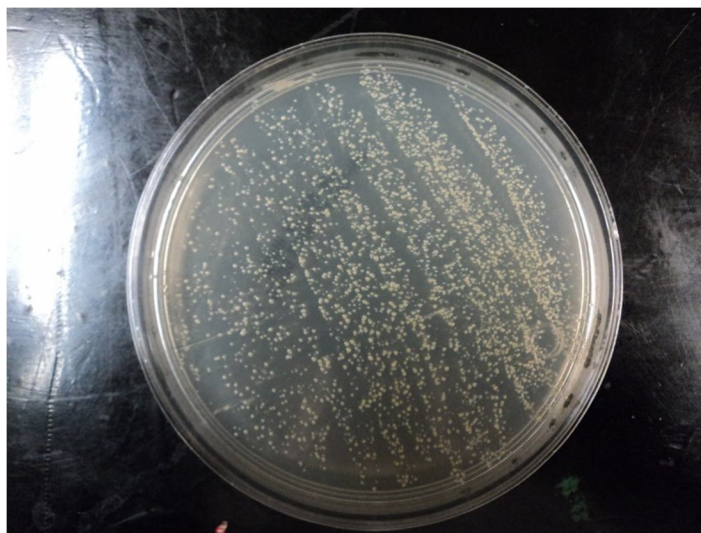
### Imagen 10

#### Solución 2 (caja 5)



Obtuvimos halos de inhibición en las primeras 5 diluciones. El halo de inhibición de la dilución 1 fue muy semejante al de la dilución madre.

## PRUEBA BACTERIOSTÁTICO/BACTERICIDA.



Debido a que hubo crecimiento se concluye que el propóleo es bacteriostático.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Los datos fueron codificados en una base de datos compatible con el programa estadístico SPSS 9.0 Windows

### Solución 1 (20%)

Los resultados del análisis estadístico de la varianza, muestran que con ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, 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	182.933	2	91.467	91.467	.000
Within Groups	12.000	12	1.000		
Total	194.933	14			

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

### Halo de inhibición en mm

Duncan<sup>a</sup>

Dilución	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
Dilución 3	5	.00	
Dilución 2	5		7.20
Dilución 1	5		7.60
Sig.		1.000	.539

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 y 2 se comportan estadísticamente iguales, con un promedio en sus halos de inhibición de 7.2 mm y 7.6mm respectivamente, la dilución 3 estadísticamente no presenta inhibición.

Se concluye que para la *solución 1* de propóleo la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, **es la dilución 2 (1:2)**.

### Solución 2 (40%)

Los resultados del análisis estadístico de la varianza, muestran que con ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, 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	280.640	4	70.160	23.232	.000
Within Groups	60.400	20	3.020		
Total	341.040	24			

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

### Halo de inhibición en mm

Duncan<sup>a</sup>

Dilución	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Dilución 5	5	.00		
Dilución 4	5		5.60	
Dilución 3	5			8.40
Dilución 1	5			8.60
Dilución 2	5			8.80
Sig.		1.000	1.000	.735

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

El análisis de los resultados muestra que para la solución 2 de propóleo, las diluciones 1, 2 y 3 se comportan estadísticamente iguales, con un promedio en sus halos de inhibición de 8.6 mm, 8.8 y 8.4 mm respectivamente, la dilución 4 ya es estadísticamente diferente, con un promedio de 5.6 mm de inhibición, para efectos prácticos la dilución 5 no presenta inhibición.

Se concluye que para la *solución 2* de propóleo la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, **es la dilución 4 (1:8)**.

De la misma forma se concluye que bajo nuestras condiciones de trabajo, la **dilución 4 (1:8)** de la *solución 2* de propóleo es la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, por ende la solución 2 tiene mayor capacidad inhibitoria del crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS

Bajo nuestras condiciones de trabajo, la clorhexidina tuvo en promedio 15.90 mm de inhibición del crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, con un valor máximo de 17mm y mínimo de 15 mm.

### Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Halo de inhibición en mm	10	15	17	15.90	.88
Valid N (listwise)	10				

Dado que la **dilución 2** de la *solución 1* de propóleo es la máxima dilución que inhibe el crecimiento in vitro de ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, se encontró que

esta dilución tiene en promedio 7.20 mm de inhibición con una desviación estándar de 2.3 mm:

#### Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Halo de inhibición en mm	5	6	9	7.20	1.30
Valid N (listwise)	5				

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	-7.03

Que bajo nuestras condiciones de trabajo, la clorhexidina tiene in vitro, un mayor poder de inhibición para el ESTAFILOCOCO EPIDERMIDIS, en comparación con la *solución 1* de propóleo independientemente de cualquier dilución.

## DISCUSIÓN

Los resultados de éste trabajo fueron compatibles con los obtenidos por otros investigadores como María L. Carrillo et al quienes determinaron que el propóleo es eficaz contra bacterias Gram positivas y negativas, teniendo más efectividad contra las positivas como lo es *S. epidermidis*. El por qué es más efectivo en bacterias Gram positivas puede deberse a las diferencias en la composición de las paredes celulares de cada grupo de bacterias, ya que las paredes celulares de las Gram positivas es muy simple y la de las negativas está compuesta por varias capas y es bastante complejas. Esta diferencia puede contribuir a la susceptibilidad de este grupo de bacterias a la acción de los principios activos del propóleo. De igual manera Milagros García Bernal et al. obtuvieron inhibición en

cepas de varias bacterias Gram negativas y positivas, entre las cuales incluyeron *S. epidermidis*. Una posible explicación de la variabilidad de los resultados es debido a que la composición del propóleo es variable dependiendo de la región, por la variedad de árboles y otras especies de plantas usadas para la colección y de la estación al cual es recolectado. Los resultados de la investigación confirman, al igual que otros autores y literatura, la actividad antibacteriana del propóleo frente a *S. epidermidis*.

## **RECOMENDACIONES**

Se requiere realizar más pruebas con diferentes microorganismos con la finalidad de determinar cuáles son susceptibles al extracto etanólico de propóleo y si existe alguna que presente resistencia a él. Además de pruebas en piezas dentarias para ver si tiene efectos secundarios como tinción, ya que es preciso determinar esos efectos antes de probarlo en pacientes para, de esta manera, evitar empeorar el estado de salud del paciente en vez de mejorarlo.

Realizar pruebas para determinar cuál es el tiempo ideal de eficacia, es decir, cuál es el tiempo en que se debe colocar en boca para que ejerza su efecto antimicrobiano.

## **CONCLUSIONES**

El extracto etanólico de propóleo utilizado en éstas pruebas presentó in vitro un menor poder de inhibición ante *Staphylococcus Epidermidis* en comparación con la clorhexidina. Se comprobó que el propóleo es un agente antibacteriano natural que si bien no es tan eficaz como la clorhexidina tiene propiedades muy prometedoras no solo en la odontología sino en muchas otras industrias.

Con este estudio se abren las puertas a más investigaciones que podrán demostrar que el uso de extracto etanólico de propóleo es una excelente alternativa en el uso de antimicrobianos naturales, de menor costo que los farmacéuticos y, hasta ahora, sin efectos secundarios.

La naturaleza es muy asombrosa y éste, como muchos otros productos naturales, nos proporciona propiedades muy útiles que, sabiéndolas aprovechar, podrán darnos opciones terapéuticas a diversos padecimientos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Samara ON, Benitez CN, Cabezas FF. Actividad antibacterial y composición cualitativa de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del departamento del Cauca. *Rev.Bio.Agro.* 2011; 9 (1)
2. Chaillou LL, Herrera HA, Maidana JF. Estudio del propoleos de Santiago del Estero, Argentina. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas.* 2004; 24 (1): 11-15.
3. Álvarez MS. Caracterización organoléptica y físico-química de propóleos del departamento de la Libertad, Perú. *The Biologist (Lima).* 2012; 10 (1): 34-40.
4. Peña RC. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Cien. Inv. Agr.* 2008; 35 (1): 17-26.
5. Salamanca GG, Correa CIL, Principal J. Perfil de flavonoides e índices de oxidación de algunos propóleos colombianos. *Zootecnia Tropical.* 2007; 25 (2): 95-102.
6. Galarreta SP. Sus bondades, el propóleo. *Revista Generación.* 2010; 176: 30-33.
7. Bellón LS, Calzadilla MXM. Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Facultad de Estomatología. Instituto de Ciencias Médicas de La Habana. 2007.
8. 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.
9. Palomino GLR, Martínez GJP, García PCM, Gil GJH, Durango RDL. Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleos en el municipio de la Unión (Antioquia, Colombia). *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín.* 2010; 63 (1): 5373-5383.
10. Lasa EO, Eginó GP, Sánchez AA, Ratón NJA, Díaz-Pérez JL. Dermatitis alérgica de contacto por propóleo. *Med Cutan Iber Lat Am.* 2004; 33 (3): 117-119.
11. Cornejo LG. Apicultura práctica en América Latina. Boletín de servicios agrícolas de la FAO. 1993: 135-136.
12. Mayta TFR, Saosaquispe CS. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Rev Estomatol Herediana.* 2010; 20(1):19-24.
13. Herrera CL, Fritz O, Montenegro G, Alvear M, Del Sol M, Salazar LA. El Propóleos Reduce la Esteatosis Hepática Inducida por Dieta en Ratones. *Int. J. Morphol.* 2010; 28 (1): 75-84.
14. Neacato VSF. Uso de extractos etanólicos de propóleo para el control de *Staphylococcus aureus* in vitro obtenidos de leche de vacas con mastitis.

- ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS "GRAD. CARLOMAGNO ANDRADE PAREDES". 2005
15. Muñoz RLC, Linares VSE, Narváez SW. Propiedades del propóleo como aditivo natural funcional en la nutrición animal. *Biosalud*. 2011; 10 (2): 101-111.
  16. Manrique AJ. 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.
  17. García BM, Medina MR, Hidalgo YPI, Delgado LMS, Truffin TE, Gómez MR. Actividad in vitro del propóleos frente a patógenos bacterianos aislados de infecciones humanas. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2007; 26 (1): 100-102.
  18. Bracho JC, Rodríguez C, Llanes F. Triterpenos pentacíclicos en propóleo. *Rev Soc Quím Perú*. 2009; 75 (4): 439-452.
  19. Tolosa L, Cañizares E. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*. 2002; 43: 187-204.
  20. Lozina LA, Boehringer SB, Acosta O. Extrapolación en una forma posológica de valores obtenidos in vitro sobre actividad antifungica del propóleos. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2005.
  21. Moreno HZ, Martínez AP, Figueroa J. Efecto antimicrobiano In vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *NOVA - PUBLICACIÓN CIENTÍFICA – ISSN*. 2007; 5 (7): 70-75.
  22. Predari SC. Estafilococos coagulasa negativos: el enemigo silente. *Revista Argentina de Microbiología*. 2007; 39: 1-3.
  23. Otto M. *Staphylococcus epidermidis* —the 'accidental' pathogen. *NATURE REVIEWS Microbiology*. 2009; 7: 555-567.
  24. Yao Y, Vuong C, Kocianova S, Villaruz AE, Lai Y, Sturdevant DE. Characterization of the *Staphylococcus epidermidis* Accessory-Gene Regulator Response: Quorum-Sensing Regulation of Resistance to Human Innate Host Defense. *JID*. 2006; 193: 841-848.
  25. Rodríguez-Rojas L, Castellanos-Monedero JJ, Gálvez-González J. *Staphylococcus epidermidis* resistente a linezolid en paciente portador de prótesis de rodilla. *Rev Ortp Traumatol*. 2012; 56 (1): 51-53.
  26. García AC, Pardo VJ, Seas RC. Bacteremia por *Staphylococcus epidermidis* y absceso de partes blandas en un paciente postoperado: Reporte de un caso. *Rev Med Hered*. 2003; 14 (4): 221-223.



27. McCann MT, Gilmore BF, Gorman SP. Staphylococcus epidermidis device-related infections: pathogenesis and clinical management. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008; 60: 1551-1571.
28. Eftekhari F, Mirmohammadi Z. Evaluation of biofilm production by Staphylococcus epidermidis isolates from nosocomial infections and skin of healthy volunteers. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. 2009; 1 (10): 438-441.
29. Iorio NLP, Azevedo MB, Barcellos AG, Barros EM, Pereira EM. Methicillin-resistant Staphylococcus epidermidis carrying biofilm formation genes: detection of clinical isolates by multiplex PCR. *INTERNATIONAL MICROBIOLOGY*. 2011; 14: 13-17.
30. Sousa C, Teixeira P, Oliveira R. The role of extracellular polymers on Staphylococcus epidermidis biofilm biomass and metabolic activity. *Journal of Basic Microbiology*. 2009; 49: 363-370.
31. Moreno-González ME, Ruíz-Galindo E. Staphylococcus epidermidis formador de biofilm en blefaroconjuntivitis. *Rev Med Hosp Gen Mex*. 2007; 70 (1): 24-29.
32. Holá V, Ruzicka F, Votava M. The dynamics of staphylococcus epidermis biofilm formation in relation to nutrition, temperature, and time. *SCRIPTA MEDICA (BRNO)*. 2006; 79 (3): 169-174.
33. Gomes F, Leite B, Teixeira P, Oliveira R. Strategies to control Staphylococcus epidermidis biofilms. *FORMATEX*. 2011: 843-852.
34. Ruiz-Galindo E, Martínez-Canseco C, López-Revilla R. Caracterización fenotípica de Staphylococcus epidermidis aislado de pacientes con endoftalmítis. *Gac Méd Méx*. 2010; 146 (2): 112-117.
35. Mendoza MA. El formidable reto de la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2011; 54 (1): 18-27.
36. Friedlander AH. Oral Cavity Staphylococci Are a Potential Source of Prosthetic Joint Infection. *CID*. 2010; 50: 1682-1683.
37. Papa ED. DISEMINACIÓN DE LA INFECCIÓN ODONTOGÉNICA (Revisión de la literatura). *Acta Odontológica Venezolana*. 2000; 38 (1).
38. Niazi SA, Clarke D, Do T, Gilbert SC, Mannocci F, Beighton D. Propionibacterium acnes and Staphylococcus epidermidis Isolated from Refractory Endodontic Lesions Are Opportunistic Pathogens. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. 2010; 48 (11): 3859-3869.
39. Shay K. Infectious Complications of Dental and Periodontal Diseases in the Elderly Population. *CID*. 2002; 34: 1215-1223.
40. Cumbreño BS, Pérez HFL. Clorhexidina 0,05% solución antiséptica. *O F F A R M*. 2005; 24 (11): 141-143.

41. Maya JJ, Ruíz SJ, Pacheco R, Valderrama SL, Villegas MV. Papel de la clorhexidina en la prevención de las infecciones asociadas a la atención en salud. ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA. 2011; 15 (2): 98-107.
42. Eguizábal AM, 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.
43. Torres LM, Díaz AM, Acosta MA. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en; la estomatología. Gaceta Médica Espirituana. 2009; 11 (1).
44. 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.
45. Carrillo ML, Castillo LN, Mauricio R. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). Información Tecnológica. 2011; 22 (5): 21-28.