



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

Centro de Ciencias de la Salud

Departamento de Estomatología

TESIS

**EFFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS
CONTEOS DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE PACIENTES
INFANTILES**

PRESENTA

M.E. Gabriela Cabrera Rueda

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS ÁREA
REHABILITACIÓN BUCAL**

TUTOR

Dr. Enrique Reyes Vela

COMITÉ TUTORAL

Mtro. Rafael Casillas Peñuelas

Aguascalientes, Ags. 18 de Junio del 2011



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES



ANIVERSARIO
UAA

GABRIELA CABRERA RUEDA
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
P R E S E N T E

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que ha cumplido con los siguientes requisitos; a) Participación como ponente en un congreso, b) Asistente a dos congresos de su área de formación, c) La aceptación o publicación de un artículo. d) Su trabajo de tesis, titulado:

“EFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE PACIENTES INFANTILES”

Los requisitos para su titulación han sido revisados y aprobados por su tutor y el consejo académico, se autoriza continuar con los trámites para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Biomédicas, área Rehabilitación Bucal.**

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo

**ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”**

Aguascalientes, Ags., 13 de junio del 2013.



**DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

ccp. C.P. Ma. Esther Rangel Jiménez / Jefe de Departamento de Control Escolar.
ccp. Mtra. Guadalupe Valdés Reyes / Jefa de Departamento de Apoyo al Posgrado.
ccp. Archivo.

DICTAMEN DE REVISIÓN DE LA TESIS / TRABAJO PRÁCTICO

DATOS DEL ESTUDIANTE	
NOMBRE: GABRIELA CABRERA RUEDA	ID (No. de Registro): 146152
PROGRAMA: MAESTRIA EN CIENCIAS BIOMEDICAS	ÁREA: REHABILITACION BUCAL
TUTOR/TUORES: ENRIQUE REYES VELA RAFAEL CASILLAS PEÑUELAS	
TESIS (<input checked="" type="checkbox"/>)	TRABAJO PRÁCTICO (<input type="checkbox"/>)
OBJETIVO: EFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS DE ESTREPTOCOCCUS MUTANS EN SALIVA DE PACIENTES INFANTILES	
DICTAMEN	
CUMPLE CON CRÉDITOS ACADÉMICOS:	<input checked="" type="checkbox"/>
CONGRUENCIAS CON LAS LGAC DEL PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/>
CONGRUENCIA CON LOS CUERPOS ACADÉMICOS:	<input checked="" type="checkbox"/>
CUMPLE CON LAS NORMAS OPERATIVAS:	<input checked="" type="checkbox"/>
COINCIDENCIA DEL OBJETIVO CON EL REGISTRO:	<input checked="" type="checkbox"/>

Aguascalientes, Ags. a 12 de JUNIO de 2013

FIRMAS

 <u>DR. DAVID MASUOKA ITO</u> CONSEJERO ACADÉMICO DEL ÁREA	 <u>MCO JAIME BERNAL ESCALANTE</u> SECRETARIO TÉCNICO DEL POSGRADO
 <u>DR. LUIS FERNANDO BARBA GALLARDO</u> SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO	



Universidad Autónoma de Aguascalientes

Maestría en Ciencias Biomédicas

Área Rehabilitación Bucal

CONSEJO ACADÉMICO DEL POSGRADO

PRESENTE.

Por medio de la presente como Asesores designados de la estudiante **Gabriela Cabrera Rueda** con ID 146152 quien realizó la tesis titulada: **Efecto del enjuague a base de propóleo sobre los conteos de *Streptococcus mutans* en saliva de pacientes infantiles**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Por lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarles un cordial saludo.

ATENTAMENTE

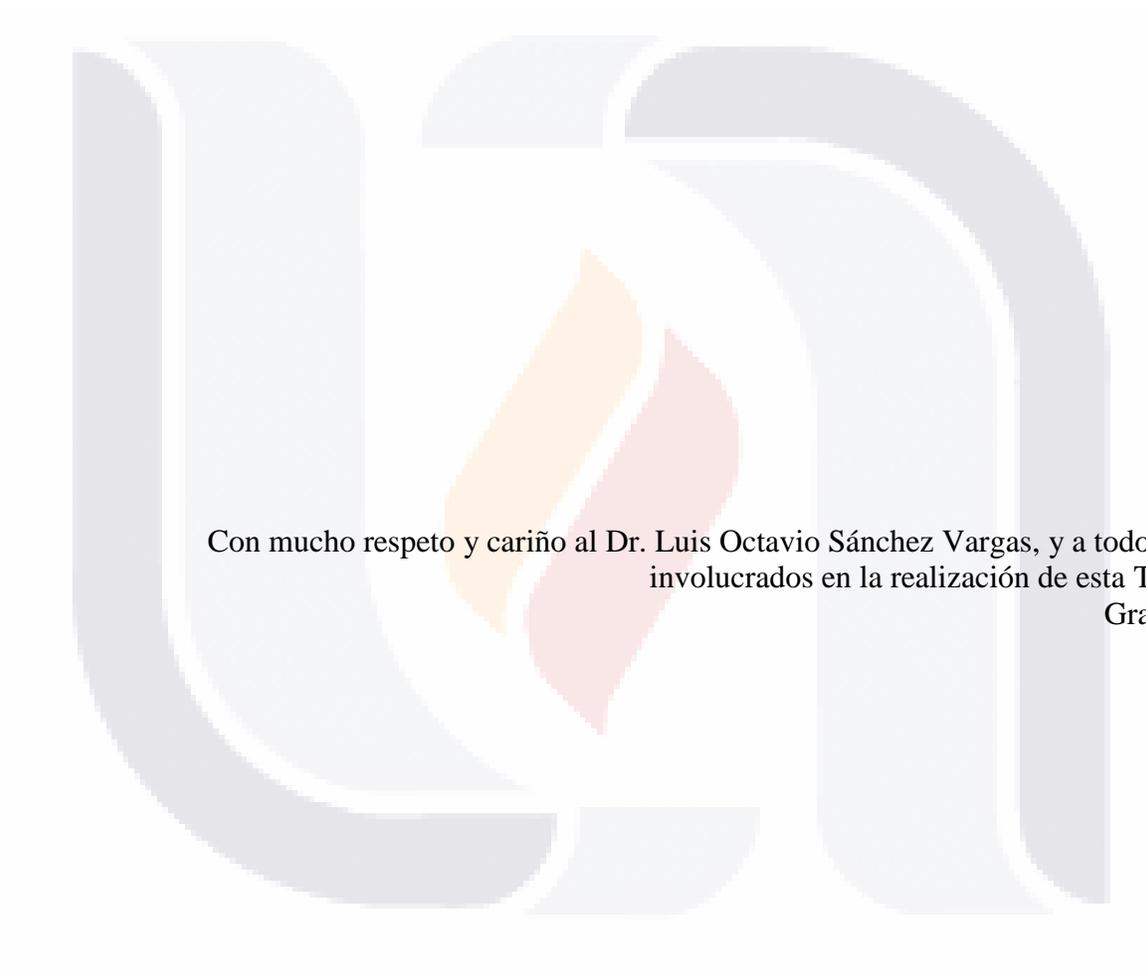
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 12 de Junio de 2013-06-11

M.C. Enrique Reyes Vela

Asesor

AGRADECIMIENTOS



Con mucho respeto y cariño al Dr. Luis Octavio Sánchez Vargas, y a todos los involucrados en la realización de esta Tesis.
Gracias.

DEDICATORIA



A mi mamá y hermanas por ser lo más importante en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Índice general	I	
Índice de tablas	III	
Índice de figuras	V	
Resumen	1	
Abstract	2	
Capítulo I		
Introducción	3	
Capítulo II. Marco teórico		4
Caries dental.....	4	
Distribución de la caries dental en la población.....	6	
Los microorganismos	9	
Enjuagues bucales	12	
Propóleo	15	
Capítulo III		
Planteamiento del problema.....	24	
Justificación.....	24	
Objetivos	25	
Hipótesis.....	26	
Diseño del estudio	27	
Capítulo IV		
Metodología	27	
Materiales y métodos	28	
Capítulo V. Resultados		
Resultados	36	
Discusión	45	
Conclusiones	47	
Glosario	47	
Bibliografía	49	

Anexo A
Anexo B



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. En los pacientes que realizaron el enjuague a base de propóleo, se	37
Tabla 2. El uso del enjuague de propóleo disminuyó el riesgo de caries.	38
Tabla 3. Según las UFC/ml de saliva, el enjuague a base de propóleo.....	39
Tabla 4. Se muestra la relación entre cada uno de los grupos de estudio (control, propóleo clorhexidina) y con el riesgo de caries.....	39
Tabla 5. Los valores de P son mayores a .05 lo que indica que las características específicas son independientes.	40
Tabla 6. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo propóleo con los grupos de riesgo de caries.....	41
Tabla 7. No existe relación entre los grupos propóleo y control y el riesgo de caries	41
Tabla 8. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo clorhexidina y el riesgo de caries.	42
Tabla 9. Si existe relación entre los grupos de estudio y el riesgo de caries	42
Tabla 10. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo clorhexidina y el riesgo de caries	43
Tabla 11. No existe relación entre los grupos propóleo y clorhexidina y el grupo de riesgo de caries	43

Tabla 12. Los promedios de los grupos son diferentes.....44

Tabla 13. Los promedios de los grupos control y clorhexidina son diferentes.....45

Tabla 14. Los resultados de P menores a .05 indican que si existe diferencia significativa entre los grupos control y clorhexidina.....45



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica de los flavonoides	16
Figura 2. Peso del propóleo en la balanza analítica.....	28
Figura 2.1 Filtrado de la solución con filtro Whatman 41	28
Figura 3. Filtro Whatman 41	29
Figura 4. Esterilización del agar por autoclave	30
Figura 4.1 Colocación del agar en placas	31
Figura 5. Frasco recolector de saliva	32
Figura 5.1 Diluciones seriadas de la saliva en solución salina isotónica.....	32
Figura 6. Diluciones salivales.....	33
Figura 7. Método de sembrado por extensión en placa o césped.	34
Figura 7.1 Siembra en placas e incubación en anaerobiosis.....	34
Figura 7.2 Conteo de colonias	34

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

EFFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE PACIENTES INFANTILES

RESUMEN

En la búsqueda de alternativas naturales para el control de las principales bacterias causantes de la caries dental, se evaluó la acción antibacterial de un enjuague a base de propóleo de las abejas melíferas obtenido en el Estado de Aguascalientes sobre la concentración de *Streptococcus mutans* que colonizan la cavidad oral de pacientes infantiles. Cuarenta y un pacientes entre 12 y 15 años realizaron un enjuague bucal, sin ningún cambio en su higiene o dieta habitual. Fueron obtenidas muestras de saliva en dos tiempos, la primera antes del uso del enjuague y la segunda muestra fue obtenida 15 minutos después de este. Treinta y un pacientes utilizaron el enjuague a base de propóleo del Estado de Aguascalientes al 30% y 10 pacientes utilizaron el enjuague a base de Clorhexidina al 2% como control positivo. Los resultados se midieron comparando el número de colonias de *S. mutans* encontradas en los cultivos de las muestras colectadas antes y después del uso del enjuague. El extracto de propóleo posee actividad antimicrobiana contra *S. mutans* presentes en la cavidad oral y puede ser usado como medida alternativa para prevenir la caries dental.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

THE EFFECT OF MOUTHWASH PROPOLIS ON *Mutans Streptococci* COUNTS ON CHILDREN SALIVA

ABSTRACT

In the search for natural alternatives for controlling the main bacteria that cause tooth decay, we evaluated the antibacterial action of a base rinse honeybee propolis obtained in the state of Aguascalientes on the concentration of *Streptococcus mutans* colonizing the oral cavity of pediatric patients. Forty-one patients between 12 and 15 years developed a mouthwash, with no other changes in hygiene or diet. Saliva samples were obtained in two stages, the first rinse before use and the other sample was obtained 15 minutes later. Thirty-one patients used the propolis-based mouthwash 30%, 10 patients used the chlorhexidine-based mouthwash 0.2% as a positive control. Outcomes were measured by comparing the number of colonies of *S. mutans* found in cultures of the collected samples before and after use of the rinse. The extract of propolis has antimicrobial activity against *S. mutans* present in the oral cavity and can be used as an alternative measure to prevent tooth decay.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

EFFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE PACIENTES INFANTILES

INTRODUCCIÓN

La caries dental es la principal enfermedad bucal que afecta al mayor número de la población infantil en el mundo, y todos los esfuerzos preventivos se han enfocado en la remoción mecánica del factor etiológico que es la placa dentobacteriana. Sin embargo, esta medida no ha logrado disminuir la incidencia de caries en la mayoría de los países. La prevención y el control de la caries no es el resultado de una sola técnica, si no que incluye chequeos regulares, el uso rutinario de pastas fluoradas, la disminución de la ingesta de azúcar, aplicaciones de flúor y el uso continuo de enjuagues con soluciones antimicrobianas. Aunque la remoción mecánica de la placa es hoy en día el método más eficaz para eliminar los microorganismos, en la actualidad, algunas sustancia químicas y naturales son usadas para disminuir la presencia del microorganismo principal causante de la caries dental, el *Streptococcus mutans*. Recientemente, se han introducido alrededor del mundo productos naturales como nuevas alternativas, ya sea de manera preventiva o terapéutica. El propóleo, una sustancia producida por las abejas, parece ser un ingrediente prometedor debido a sus propiedades biológicas multidireccionales. Además de tener propiedades antibacteriales, varios estudios han demostrado que también posee propiedades antioxidantes, antivirales y antiinflamatorias entre otras.

Siendo los niños los más susceptibles a presentar la caries dental, este estudio pretende demostrar la disminución de los conteos de *S. mutans* usando un enjuague bucal a base de este producto natural.

MARCO TEÓRICO

CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad infecciosa transmisible donde una biopelícula cariogénica en la presencia de un estado oral que es más patológico que protector, conduce a la desmineralización del tejido dental duro y es la que más afecta a la población global con una incidencia de más del 95% (Kutsh 2011). En México se ha documentado que la prevalencia de caries dental afecta entre 70 y 85% en dentición secundaria a la edad de 12 años. La microbiota específica de la caries está regida por especies como el *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*.

Investigadores americanos sugieren que la caries es la principal razón de las extracciones dentales (Moen BD, 1953), por otro parte, algunos estudios sugieren que la enfermedad periodontal es la razón más frecuente que lleva a la pérdida de diente. Por lo tanto, los hallazgos controversiales podrían ser explicados de acuerdo a las diferencias en las características de la población estudiada, factores inmunológicos y genéticos, las creencias culturales y las características socio-económicas entre otras. Razones inmunológicas y genéticas son algunos de los factores que contribuyen a la explicación de por qué algunas poblaciones expuestas a los mismos factores etiológicos bacterianos no se desarrollan con las mismas condiciones patológicas (Montandon A, 2012).

La Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-2006 define a la población de riesgo como el grupo de individuos que por sus características de edad, sexo, raza, problemas sistémicos, ocupación, condición económica y zona geográfica donde radica, entre otras variables, se encuentra mayormente expuesta a presentar determinada patología. En relación a la caries dental, la población de alto riesgo está principalmente representada por las embarazadas y los menores de 0 a 15 años de edad. La población escolar es aquella que de acuerdo con las disposiciones educativas, se refiere a tres subgrupos que son: los preescolares, cuya edad es de 4 a 5 años, escolares de primaria de 6 años a menores de 12 años y escolares de secundaria menores a 15 años de edad. (Diario Oficial de la Federación, 2007)

EPIDEMIOLOGÍA DE LA CARIES

La caries dental es una enfermedad en la que los signos de desmineralización cariosa se pueden ver en los tejidos dentales duros, pero el proceso de la enfermedad se inicia dentro de la biopelícula bacteriana que cubre la superficie del diente. Es causada por la colonización de microorganismos orales y la acumulación de polisacáridos extracelulares sintetizados por *Streptococcus mutans* con el sinergismo de *Lactobacillus* spp (Dziedzic 2013). Teorías actuales sugieren que el enfoque singular sobre *S. mutans* y *Lactobacillus* spp como los únicos agentes causantes de la caries dental ya no es una estrategia viable en el tratamiento de ésta; Kutsh y col. (2011) mencionan que la caries es un proceso de la enfermedad infecciosa transmisible donde el biofilm en presencia de un estado oral que es más cariogénico que protector, lo llevará a la eventual desmineralización del tejido duro dental. Estudios recientes acerca del biofilm dental, han introducido la “hipótesis de la placa ecológica” en donde se ha demostrado que las bacterias no solo se adaptan a vivir en un ambiente ácido sino que también desarrollaron la habilidad de producir ácidos por ellas mismas. Los factores genéticos, como la preferencia hereditaria a ciertos alimentos y la dieta alimentaria también han sido asociados al desarrollo de la caries (Kutsh 2011). Sin embargo, sigue siendo más aceptado en la génesis de la caries el aumento de *S. mutans* y *Lactobacillus* como los principales microorganismos asociados a la caries de esmalte y dentina.

La caries se ve afectada por el consumo de azúcares de la dieta, el flujo y composición salival, la limpieza de los dientes, la exposición al flúor entre otros factores. El proceso salud-enfermedad puede ser investigado en al menos 3 niveles: sub-individual, individual y población (Almeida-Filho 2001). En este último nivel las formas crónicas de la caries dental predominan. Las formas agudas, que se caracterizan por periodos de latencia y curso de corta duración asintomáticas, se producen en una pequeña proporción de las personas afectadas por la enfermedad, especialmente durante la etapa de emergencia dental en la infancia. Aunque la transmisión de microorganismos de padres afectados a hijos ha sido demostrada, desde el punto de vista de población, la caries dental no se considera una enfermedad trasmisible, pero si a nivel individual y subindividual (Almeida-Filho 2001).

Los principales objetivos de la epidemiología de la caries son describir su distribución, investigar sus factores determinantes y evaluar el impacto de las acciones determinadas por su aparición en la población.

DISTRIBUCIÓN DE LA CARIES DENTAL EN LA POBLACIÓN.

En Grecia, donde existen documentos históricos que abarcan un largo periodo de tiempo, ha sido posible comparar la caries detectada en esqueletos de individuos que vivieron hace miles de años con los esqueletos de los individuos que vivieron recientemente. Los datos muestran un rápido deterioro durante el siglo XIX. La expansión del consumo de azúcar en los siglos XVI y XVII ayuda a explicar el cambio en el escenario mundial y los niveles de epidemia en países más desarrollados (Santos 2010- Frazao 2012). Es por esto que la caries se ha convertido en un problema de salud pública.

Durante la Primera Guerra Mundial, una de las principales razones por las que se les negó a los jóvenes alistarse en el ejército fue por su mal estado bucal. A principios de 1930, los investigadores en el servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de América comenzó a desarrollar técnicas de medición de las tendencias de distribución de seguimiento. A través de los años, el índice CPO se convirtió en una herramienta pertinente para los especialistas. A pesar de ciertas variaciones en los criterios para la detección de su ocurrencia, la información epidemiológica producida, basada en un examen visual, fue la primera de las comparaciones mundiales realizadas (Petersson 1996).

Un hecho sin precedentes fue reconocido en 1982: la disminución de la caries dental en niños y adolescentes en algunos países industrializados. La hipótesis más importante fue el amplio desarrollo socioeconómico y la propagación de los tratamientos y alimentos con flúor (Petersson 1996). Sheihham y col (2005) también demostraron una disminución de la caries dental en países desarrollados, sin embargo, sigue siendo el principal problema de salud bucal en la mayoría de los países industrializados y la principal causa de pérdida de dientes y el dolor que lleva al ausentismo en el trabajo y la escuela, lo que afecta el rendimiento diario y la estabilidad emocional de los individuos.

A principios del siglo XXI el patrón epidemiológico muestra que la prevalencia del edentulismo es a menudo más alta que el promedio del número de dientes retenidos en

países de altos ingresos comparado con los países de ingresos bajos y medianos (Frazao 2012). Estudios realizados en México en el año 2002, mostraron que en comparación con estudios anteriores, existió una reducción en la caries de la dentición en niños de 10 años de un 6.6% debido a los programas de fluoración de sal de mesa. Sin embargo, en el Estado de Morelos, se registró un incremento en la población con caries, así como se demostró un cambio en la dieta con un aumento en alimentos ricos en carbohidratos (Irogoyen 2012).

ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL.

TEORÍAS DE LA CARIES.

- TRIADA DE KEYES:

La etiopatogenia de la caries dental fue propuesta por W. Miller en 1882; según Miller el factor más importante en la patogenia de la enfermedad era la capacidad de un gran número de bacterias bucales de producir ácidos a partir de hidratos de carbono de la dieta, hipótesis que sustentó experimentalmente al aislar a varios grupos de microorganismos bucales que eran cariogénicos. Paul Keyes en 1960, en forma teórica y experimental, estableció que la etiopatogenia de la caries obedece a la interacción simultánea de tres elementos o factores principales: un factor “microorganismo” que en presencia de un factor “sustrato” logra afectar a un factor “diente” (también denominado hospedero). La representación esquemática de estos tres factores básicos se conoce como triada de Keyes. Si estos condicionantes confluyeran solo durante un periodo muy breve, la enfermedad cariosa no se produciría; por lo tanto, se ha agregado el tiempo de interacción de éstos, así como diversas variables e interrelaciones que inciden como modificadores de este proceso. Al factor tiempo se le incluyeron a partir de los años 80’s los denominadores “factores de riesgo”. Estos son modificadores externos e internos del proceso de la caries dental.

Es a partir de la inclusión de los factores de riesgo externos e internos que podemos considerar un giro en el estudio de la caries dental.

- PARADIGMA ACTUAL: FEJERSKOV:

En el marco del actual paradigma se considera a la caries dental como una enfermedad infecciosa no clásica, que se origina como la consecuencia de los cambios ecológicos que

se producen en la biopelícula de la placa dental, conformada por los denominados microorganismos residentes y no por microorganismos patógenos oportunistas. En función tiempo y bajo las influencias del medio en el que se desarrollan estos microorganismos se adhieren a las superficies dentarias, conformando la película con mayor o menor grado de patogenicidad de acuerdo con su virulencia. Fekerskov encuentra asociación entre el *S. mutans* y la caries dental, con valor predictivo pero pone en dudas su papel como agente etiológico, ya que si este microorganismo forma parte de la microbiota residente, puede estar presente sin que se desarrolle la lesión cariogénica. Por lo que propone que la enfermedad caries dental finalmente surge del desequilibrio fisiológico entre el mineral de las piezas dentarias y los constituyentes de la biopelícula (Negroni 2009).

METABOLISMO DE LA SACAROSA

La sacarosa es el sustrato para el metabolismo bacteriano. El metabolismo de la sacarosa incluye tres etapas fundamentales:

1. Producción de ácidos
2. Síntesis de polisacáridos extracelulares
3. Síntesis de polisacáridos intracelulares

Producción de ácidos: la mayor parte de la sacarosa que ingresa en la cavidad bucal es utilizada como fuente energética por los microorganismos. Dentro de las células, la sacarosa es desdoblada por la acción de la enzima invertasa en glucosa y fructosa y debido a su fosforilación se convierte en glucosa 6 fosfatos, lo que va a resultar en lactato, acetato y etanol.

Polisacáridos extracelulares: antes de que la sacarosa penetre en la célula, un porcentaje de ella es transformado por exoenzimas de *S. mutans* que la rompen y transfieren cada fracción hexosa a una molécula receptora y forman polímeros que se difunden en un medio vecino o permanecen asociados con la célula.

Polisacáridos intracelulares: una vez que la glucosa o la fructuosa penetran en la célula, su destino es ser catabolizado por la vía glucolítica. Los excesos de azúcares derivan en un compuesto que almacena reservas de energía para ser utilizada en los momentos donde se disminuye el aporte de nutrientes. La formación de este polisacárido intracelular esta encadenada con la vía glucolítica y los niveles celulares de ATP (Negroni 2009).

LOS MICROORGANISMOS

Los principales microorganismos relacionados con la caries dental son aquellos que participan en:

- a) El desarrollo inicial de la enfermedad;
- b) La progresión de las lesiones establecidas

Desarrollo inicial de la enfermedad: numerosos estudios han demostrado que *S. mutans* está relacionado con la biopelícula de la placa cariogénica y asociado a su comienzo: al mismo tiempo que en la saliva hay un aumento significativo de estos microorganismos antes de la formación de la caries dental. *S. sobrinus* es la segunda especie de importancia.

Progresión de las lesiones establecidas. Se incluyen *Lactobacillus spp*, *Actinomyces spp* y otros microorganismos capaces de sobrevivir y proliferar en medios ácidos, tal es el caso del hongo *Candida albicans* entre otros microorganismos. Generalmente, estos microorganismos se ven favorecidos por las condiciones del medio promovidos por los estreptococos del grupo *mutans*.

Los *Streptococcus* se subdividen en: viridans y no viridans, que a su vez se dividen en grupos: *S. mutans*, *S. mitis*, *S. anginosus* y *S. salivarius*. El grupo de los *S. mutans* se subdivide en siete especies: *S. mutans*, *S. rattus*, *S. sobrinus*, *S. macacae*, *S. cricetus*, *S. downei*, y *S. ferus* (Negroni 2009).

Streptococcus mutans

El *Streptococcus mutans* es una bacteria anaerobia facultativa gram positiva que ha sido reconocida por muchos años como el microorganismo predominante en la etiología de la caries dental. Es el organismo clave de acuerdo a la “hipótesis específica de la placa” (Loesche 1979) y una considerable cantidad de investigaciones han sido realizadas para conocer el papel de este microorganismo en la caries y para predecir un mayor riesgo de caries (Zickert 1982). La cantidad de *S. mutans* de las muestras clínicas, usualmente de saliva, han sido extensamente usadas para predecir y monitorear el riesgo de caries. Además, se ha demostrado que este organismo se transmite de madre a hijo, dando lugar a la aparición temprana de la caries (Kohler 1981, Holbrook 1992); se coloniza la boca de

los niños durante la época de la infección y se vuelven más propensos a la caries (Holbrook 1993). La temprana colonización de la bacteria en la boca resulta en más caries y mayores concentraciones de *S. mutans* en muestras de saliva y placa (Alalusua 1991, Berkowitz 2006). La cantidad considerable de los datos clínicos que vinculan a *S. mutans* a la caries dental es apoyada por una vasta cantidad de estudios en laboratorio, incluso la producción de una vacuna que ha demostrado protección contra la caries inducida en animales de laboratorio (Caufield 1993).

IDENTIFICACIÓN DE *S. mutans*

En el campo de los métodos de cultivo microbiológicos, la identificación de los *S. mutans* se realiza de forma estándar con agar Mitis-Salivarius (Gold 1973) adicionado con bacitracina. Son varias las sustancias encargadas de garantizar la elevada selectividad de la prueba como la sacarosa y la bacitracina, un antibiótico polipéptido, así como distintas sales responsables de la coloración azulada del agar. La cavidad es algo que interviene muy tarde. Antes, la inspección clínica permite captar manchas tizosas. Previamente, se da el estadio de las zonas desmineralizadas, que no se ven y que pueden detectarse sólo mediante métodos costosos. En este sentido, la observación de los hallazgos microbiológicos permite intervenir a tiempo antes que los defectos se hagan. El *S. mutans* muestra una gran resistencia a esta combinación, la cual, sin embargo, impide el crecimiento de otros microorganismos. Si se utilizan pruebas de placa o saliva no diluidas así como dentina ablandada de lesiones dentinarias muy avanzadas o bien frotis del dorso lingual, pueden cultivarse también Enterococos y Levaduras. Estas colonias tienen un aspecto muy diferente de las de los *S. mutans*: los Enterococos aparecen como colonias lisas de color azul oscuro-marrón; las Levaduras, por el contrario, como colonias grandes de blancas a azul claro mate. En un empleo rutinario del agar MSB, no suponen problema alguno.

TINCIÓN DE GRAM

Esta tinción desarrollada por el Dr. Christian Gram en 1884, es hoy la más utilizada en los laboratorios de bacteriología y permite, de acuerdo con la estructura y grosor de la pared

bacteriana, agrupar las bacterias en Gram positivas y en Gram negativas. Las Gram positivas poseen una capa gruesa de peptidoglicán y carecen de membrana externa, mientras que las Gram negativas tienen una capa más delgada de peptidoglicán y poseen una membrana externa.

Esta tinción además, correlaciona con otras propiedades como endotoxinas, susceptibilidad a antibióticos, sensibilidad o resistencia a sales biliares, punto isoeléctrico y tensión superficial.

Existen variaciones de esta técnica, pero en términos generales, la tinción de Gram involucra varios pasos:

1. Tinción inicial. Las células se tiñen con cristal violeta, el cual es el colorante primario. En este paso todas las células se tiñen de morado.
2. Mordente: se adiciona yoduro (lugol) que reacciona con el cristal violeta y forma un complejo cristal violeta-yoduro. En este punto todas las células continúan de color morado.
3. Decoloración: Se adiciona un solvente no polar, el cual actúa lavando el complejo cristal violeta-yoduro de las células Gram negativas. De esta manera las bacterias Gram positivas continúan moradas y las Gram negativas quedan incoloras. Este es el paso crítico de esta tinción, pues si se exagera, decolora las Gram positivas y si se hace muy débil no decolora a las Gram negativas.
4. Contratinción: se vuelve a teñir con safranina o fucsina, de manera que las bacterias Gram negativas que habían sido decoloradas, se tiñen de rosado a fucsia según el colorante empleado, en tanto, las bacterias Gram positivas no se afectan con la contratinción y permanecen moradas debido a lo intenso de esta coloración (Rodríguez 2005).

OTROS ESTREPTOCOCOS

S. salivarius, *S. mitis*, *S. anginosus*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. sanguinis* se consideran como estreptococos no mutans con baja capacidad para descender el ph.

LACTOBACILOS

Los lactobacilos presentan poca afinidad por las superficies dentarias, y en consecuencia, no se les implica en el comienzo de las caries de esmalte; no obstante, son los primeros relacionados con el avance de las caries de dentina: actúan principalmente como invasores secundarios que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa.

ESPECIES DE ACTINOMYCES

Los microorganismos del género *Actinomyces* poseen la capacidad de formar levanos a partir de la sacarosa; los levanos representan un elemento de nutrición más que de adherencia (Negroni 2009)

CÁMARA DE ANAEROBIOSIS

Una cámara de anaerobiosis es un sistema anaeróbico completo que permite al microbiólogo procesar muestras y realizar la mayoría de las técnicas bacteriológicas para el aislamiento e identificación de bacterias anaeróbicas sin exposición al aire. Para remplazar el aire, se necesita de la mezcla gaseosa de 85% de nitrógeno, 10% de hidrógeno y 5% de dióxido de carbono (Rodríguez 2005)

ENJUAGUES BUCALES

La mayoría de los estudios refieren a la clorhexidina al 2 % como el enjuague más usado para el cuidado y mantenimiento de la salud bucal. La clorhexidina es una bisguanida que ha sido ampliamente estudiada desde hace más de 20 años y es actualmente el más potente agente quimioterapéutico contra el *Streptococcus mutans*, tiene actividad bactericida contra tanto gram positivas y gram bacterias negativas. Su efecto contra *S. mutans* es mayor que contra *Streptococcus sanguis* y *Lactobacillus*. Es uno de los bactericidas más utilizados en productos antisépticos, tanto en el lavado de las manos y de los productos orales y como conservante y desinfectante. La clorhexidina es considerado el estándar de oro y es efectivo contra la gingivitis y periodontitis. Su actividad es dependiente del pH y se reduce en gran medida en la presencia de materia orgánica. Informes recientes han sugerido que la

clorhexidina es ineficaz contra la caries dental en los ensayos clínicos, y que se ha implicado con la resistencia de antibióticos (Filoche SK, 2005).

La clorhexidina desestabiliza y penetra las membranas de las células bacterianas. Precipita el citoplasma e interfiere con la función de la membrana, inhibiendo la utilización de oxígeno, lo que ocasiona una disminución de los niveles de ATP y la muerte celular (Russel 1993).

Lucas VS et al. (1998) ha reportado una disminución en la cantidad de bacterias y en la gingivitis después del uso continuo del enjuague. Malhotra R et al. (2011) consideran a la clorhexidina como el estándar de oro para los agentes antiplaca. El uso de la clorhexidina es importante sobre todo en pacientes que padecen inmunosupresión como parte de su tratamiento o en pacientes con discapacidad para realizar el cepillado dental correctamente. Sin embargo, algunos componentes de los enjuagues bucales - como el alcohol - causan efectos colaterales, como la sensación de irritación en la mucosa. Otros efectos colaterales de la clorhexidina; son las notables manchas sobre los dientes, disturbios en el sentido del gusto, y menos común, la descamación de la mucosa. (Malhotra 2011). Además el uso a largo plazo de la clorhexidina es limitada por su desagradable sabor (Anirban 2011).

La razón por la que la clorhexidina es tan usada como enjuague bucal es por su sustantividad (la habilidad de ésta de obligar a los tejidos orales con la subsiguiente liberación lenta y por lo tanto un periodo relativamente largo de acción) (Scannapieco 2009).

Los enjuagues con clorhexidina deberán realizarse por 60 segundos dos veces al día con 10 ml de gluconato de clorhexidina al 0.2% (Prathibha 2010).

En el caso del uso del peróxido de hidrógeno como enjuague bucal, se demostró no tener diferencias significativas cuando se usa a corto plazo, sin embargo, se conoce que disminuye el edema gingival cuando se usa a largo plazo combinado con un cepillado adecuado. (Medina 2006)

ALTERNATIVAS NATURALES

En reportes previos se ha tratado de encontrar una manera de disminuir la incidencia de caries y control de enfermedad periodontal por medio de alternativas naturales. Silvana

Alves y col (2007) demostraron que enjuagues a base de propóleo utilizado en un grupo de 41 pacientes de ambos sexos con rango de edad entre 11 a 30 años, dieron como resultado cambios en la flora bacteriana. En el 49% de las muestras de saliva se observó una disminución en el número de bacterias *S. mutans*, el 26% no obtuvo cambios y el 25% restante presentó proliferación bacteriana. Concluyendo que el extracto de propóleo posee actividad antimicrobiana efectiva contra *S. mutans* presentes en la cavidad oral y proponiendo que el propóleo podría ser utilizado como alternativa para la prevención de la caries y enfermedad periodontal.

Así mismo, en un estudio realizado por Faith Özan (2007) a 50 personas; se registró el tipo de microorganismos encontrados en boca (*Streptococcus*, *Stafilococcus*, *Escherichia coli*, y *Cándida albicans*) y se les suministró un enjuague a base de clorhexidina como control y enjuagues a base de propóleo a 4 diferentes concentraciones usando como diluyente alcohol y propilenglicol. Aunque los resultados arrojaron que los enjuagues bucales con clorhexidina son más efectivos que los a base de propóleos; estos últimos demostraron ser menos tóxicos a los fibroblastos gingivales y sugiere que si se sigue investigando y se encuentran las concentraciones adecuadas del propóleo, podría ser una importante opción para el buen mantenimiento de la salud periodontal y como cariostático.

Fausto y col (2010) sugieren que la colocación de pastas de propóleo como medicación en los conductos radiculares tiene condiciones similares al hidróxido de calcio, siendo este el medicamento de elección intraconducto en presencia de necrosis y contaminación radicular. Ardo Sabir y col (2005) demostraron que el uso de flavonoides derivados del propóleo como recubrimientos pulpares directos en primeros molares de ratas, proporciona disminución de la inflamación pulpar en los diferentes periodos de evaluación cuando fueron comparados con recubrimientos pulpares a base de óxido de zinc o con metabolitos no-flavonoides derivados del propóleo. Estos resultados sugieren que el uso de flavonoides derivados del propóleo podría disminuir la inflamación pulpar y estimular la función reparativa de la dentina.

PROPÓLEO

El propóleo (del griego própolis: defensa de la ciudad), cuyo nombre científico es Propolis de *Apis mellifera* (Gómez 2008), es una sustancia que obtienen las abejas de las yemas de los árboles, que procesan en la colmena, convirtiéndola en un potente antibiótico para recubrir las paredes de la colmena, con el objetivo de protegerla contra la acción de bacterias, virus y hongos.

Mecanismo de acción: se lleva a cabo por su capacidad antioxidante por un lado, y por el otro, a sus efectos inhibidores sobre algunas enzimas como la xantino-oxidasa, la ciclooxigenasa o la aldosa reductasa (Vademecum 2007).

El propóleo es una sustancia resinosa de color pardo rojizo o amarillo verdoso producido por las abejas a partir de resinas vegetales. Tiene su punto de fusión de 62 a 70 °C y su peso específico es de 1.127 g/cm³, se endurece a 14 °C. (Asís 2001). En el propóleo hay más de 160 componentes identificados: flavonas, flavonoles, flavononas, dihidroflavononas, derivados del alcohol bencílico, benzaldehído y ácido benzoico, derivados del alcohol cinámico, cumarinas, triglicéridos fenólicos, otros elementos aromáticos, un monoterpeneo, hexaterpenos, triterpenos, esteroides, ácidos grasos o alifáticos, carbohidratos, polisacáridos, vitaminas y otros compuestos. En general, la composición se agrupa en: flavonoides, resinas y bálsamo (50%), cera de abeja (30%), aceites esenciales (10%), sustancias tánicas (4-10%), impurezas mecánicas (<15%), polen y algunos minerales como: aluminio, plata, bario, boro, cromo, cobalto, estaño, hierro. Está presente también la provitamina A y vitaminas del complejo B. De todos sus componentes, los flavonoides (Fig 1) son los que presentan características antisépticas. Los flavonoides ejercen las siguientes funciones:

- Aumentan la acción de las catecolaminas, retardando su oxidación y estimulando su liberación.
- Inhiben la liberación de histamina.
- Estimulan la síntesis de colágeno contra los radicales libres.
- Forman un complejo con fosfolípidos membranarios.
- Disminuyen la fragilidad y permeabilidad de los vasos sanguíneos, y causan la vasoconstricción de los capilares.

- Tienen efecto vasodilatador e hipotensivo sobre el sistema circulatorio.
- Realizan una actividad antidiurética.
- Tienen función colerética (aumentan la producción de bilis).
- Reducen la circulación periférica.
- Ejercen acción estrógena.
- Posee un efecto estimulante sobre otras glándulas de secreción interna (timo, tiroides, páncreas, suprarrenal).
- Tienen efecto antibacteriano, antiviral, antiparasitario y coagulante.
- Los componentes con función de la vitamina P funcionan como sistema oxirreductor reversible, en sinergismo con el ácido ascórbico-dehidroascórbico.

La composición varía de acuerdo a la región geográfica (Parolia 2010).

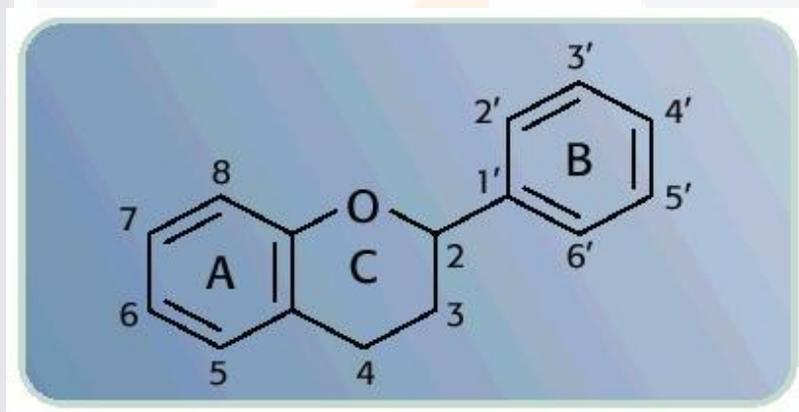


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides

Entre las propiedades benéficas reportadas del propóleo son:

- Bactericida: Sustancias producidas por microorganismos que suprimen selectivamente el crecimiento o destruyen a otros microorganismos en concentraciones muy bajas.
- Fungicida: Son fármacos que se indican para las micosis superficiales y sistémicas (Alves 2007).

- Antiviral: inhiben o inactivan al virus causando los mínimos efectos sobre el huésped.
- Antitumoral: Afectan a las células que se reproducen a mayor velocidad con independencia de si sean tumorales o no.
- Cicatrizante: regenera los tejidos cuando presentan una herida.
- Anti inflamatorio: inhiben la liberación de prostaglandinas.
- Analgésico: es el bloque de los impulsos nerviosos que afectan siempre a la conducción de los estímulos dolorosos mientras que las sensaciones de tacto o presión no quedan abolidas totalmente. (Fatih 2007)
- Antialérgico: inhibe la respuesta del organismo ante los antígenos.
- Epitelizante
- Anestésico: Son sustancias que bloquean la conducción nerviosa de manera específica, temporal, reversible, sin afectar la conciencia del paciente, ya que solo se aplica en determinada región. (Fausto 2010)
- Inmunoestimulante: estimula el sistema inmunitario.

USO CLÍNICO DEL PROPÓLEO EN HUMANOS

Es de suma importancia que para su utilización en seres humanos, su uso debe de realizarse con parámetros de vigilancia, principalmente en aquellos pacientes que presenten reacciones inmunoalérgicas a los productos de las abejas.

Entre las aplicaciones médicas que se han realizado con el propóleo, se han reportado en el tratamiento de infecciones en vías respiratorias altas, resfriado común, gripe, sinusitis, otitis, laringitis, bronquitis, asma bronquial, neumonía crónica y manejo de tuberculosis pulmonar. Además se ha utilizado como anti reumático, inhibidor de melanomas y carcinoma de células tumorales, regeneración tisular, actividad anti diabética, fotoinhibidor, etc. (Vidya 2011)

De igual manera en dermatología para el tratamiento de abscesos, forúnculos, grietas, verrugas, infección en la raíz de las uñas y otras afecciones de piel. Es también eficaz en otros problemas como conjuntivitis, infecciones y aftas bucales, etcétera. Gonzalo Muñoz Larriega en 1989 (Ardo 2005) señaló que las enfermedades

podales en ovinos pueden ser tratadas con solución de propóleo cada 30 días con excelentes resultados.

Hay muchas aplicaciones clínicas del propóleo en odontología. Para ejemplificar, algunas se refieren al alivio de ulceraciones y estomatitis, halitosis, refrescadores de aliento, bolsas periodontales, abscesos periodontales, enjuagues bucales, caries en raíz, dentina y área cervical. Es útil en el tratamiento de liquen plano, infecciones por *Cándida*, queilitis angular, xerostomía, trauma ortodóntico, úlceras, erupciones dentales, recubrimientos pulpares, restauraciones temporales, momificación de caries en dientes deciduos, cubrir alveolos después de la extracción, tratamiento de alveolo seco, anestésico tópico, pericoronitis, etc.

En estudios *In vitro*, el propóleo ha demostrado actividad contra bacterias y levaduras asociadas a la caries dental, gingivitis y enfermedad Periodontal. (Vidya 2011) El propóleo es activo frente a *S. aureus*, *Streptococcus*, bacilo ántrax, *Salmonella sp*, Estreptococos b-hemolítico, *S. epidermidis*, micobacterias, *Shigella*, *mirabilis* y *Serratia marcescens*. La actividad antibacteriana del propóleo es más notable sobre las bacterias gram positivas que sobre las gram negativas. Pero tanto con bacterias gram positivas como gram negativas, tiene una acción superior que los antibióticos cloranfenicol, eritromicina, estreptomina, penicilina, ceforán, tetraciclina, kanamicina, ampicilina y los antisépticos cetavión al 1%, tintura de trimerosal al .1%, cloruro de benzalconio a 1:1000 e hibitane a 1:1000, en estudios *in vitro* (Lucas 1998).

El propóleo como un agente antiinflamatorio inhibe la síntesis de prostaglandinas, además, ayuda al sistema inmune mediante la promoción de la actividad fagocítica, la estimulación de la inmunidad celular y aumentando los efectos de reparación. Adicionalmente, contiene elementos tales como hierro y zinc los cuales son importantes en la síntesis de colágena (Lucas 1998).

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL PROPÓLEO

En las zonas de clima templado (como el Edo. De Aguascalientes que cuenta con un clima semi-cálido y seco con lluvias escasas), se han estimado que 70%-95% de los insectos

polinizadores son himenópteros, género del que sobresalen las abejas solitarias, los abejorros y, sobre todo, las abejas de la miel.

De cada 100 insectos visitantes, entre 70 y 80 son abejas melíferas, proporción que ha venido en aumento hasta alcanzar 90% del total de insectos observados. Esto se debe principalmente a la desaparición de especies polinizadoras silvestres, como las avispas, los abejorros, etc. La disminución de estas especies y su aporte a la polinización, tiene su origen en la implementación de técnicas inadecuadas en los procesos de producción como la tala continua de bosques y el uso indiscriminado de insecticidas y abonos químicos, etc. (Díaz 2006).

La agricultura es la principal beneficiaria de los servicio polinizantes realizados por las abejas *Apis melífera*. Entre los cultivos que dependen de la polinización por insectos o que aumentan su producción cuando abundan las abejas en época de floración, están los frutícolas y los de semillero ya que el polen de estas plantas es demasiado pesado y pegajoso para ser dispersado por el viento, en contraste con el de los cereales y las herbáceas, que son polinizados por este medio.

Dentro de los insectos de fácil manejo que pueden ser llevados al cultivo para el expreso propósito de la polinización, se destaca la abeja melífera (*Apis melífera*) por su organización social y por contar con un mayor número de individuos por unidad espacio.

La utilización de la abeja como agente polinizador y su contribución al mejoramiento de las cosechas en los diferentes sistemas de producción agrícola ha representado grandes beneficios económicos, de tal manera que los en algunos países, los productos directos de la apicultura han pasado a segundo plano (Díaz 2006).

Las abejas elaboran diferentes productos y servicios que son útiles para su subsistencia y que además son usados por el hombre. Se resumen en el siguiente cuadro (Mendizábal 2005).

Productos y servicios	Utilización por las abejas	Utilización por el hombre
Abejas	Mantener la población	Comercializar reinas,

	necesaria.	paquetes de abejas, núcleos, colmenas.
Apitoxina	Veneno para defenderse	Uso medicinal
Cera	Construir panales	Construir panales artificiales, velas, compuestos en productos químicos para conservación, etc.
Jalea real	Alimento de las larvas y de la abeja reina.	Alimento tonificante
Miel	Alimento. También lo consumen para producir cera.	Alimento (puro o como ingrediente)
Polen	Alimento de crías y abejas	Alimento uso medicinal
Polinización	Mejora la propagación de esta esa especie vegetal	Incrementar la productividad agrícola
Propóleo	Cubrir rajaduras de la colmena. Cubrir superficies para evitar la contaminación.	Barnices, uso medicinal, bactericida, ingrediente de golosinas dietéticas, cremas y jabones.

OBTENCIÓN DEL PROPÓLEO.

El tiempo en el que se ha de castrar la colmena para la obtención del propóleo varía según el clima y la abundancia o escasez de flores que ofrezcan campiña; pero en todas ocasiones se debe siempre castrar por la mañana en verano, porque entonces las abejas están más dóciles, y la cera y la miel menos expuestas a derretirse: conviene elegir un día claro, a fin de que estando las abejas dispersas por el campo no se las incomode mucho mientras se

hace la castración. Se ha de saber distinguir las colmenas que contienen la miel de los que contienen la cría, para no destruir a esta, que regularmente está colocada hacia la parte anterior de la colmena. Se conocen las colmenas que tienen cría en que las cubiertas de las celdillas son convexas y algo oscuras, y las de las celdillas de la miel son llanas y más blancas.

Independientemente de que se raspen con una espátula las paredes interiores de la colmena, cuadros y demás lugares donde las abejas depositan el propóleo, se deberá prestar atención a lo siguiente:

- Se tomará una rejilla o malla plástica con agujeros de aproximadamente 1.5 – 3.0 mm, como las usadas para proteger de los insectos las puertas y ventanas.
- Se cortará la rejilla plástica del tamaño de la tapa de la colmena.
- Se levantará la tapa de la colmena y se colocará la rejilla sobre los cuadros de la última alza.
- Se colocará nuevamente la tapa y se esperará por lo menos dos meses para que las abejas propolizen los agujeros, se retirará la rejilla y se reemplazará por otra limpia
- Lo que queda después es congelar la rejilla, si es posible a -10 ó - 20° C, para desprender fácilmente el propóleo.

Si se va a extraer el propóleo usando rejillas de madera colocadas dentro de la colmena o sustituyendo alguna de las paredes se deberá tener muy presente las siguientes recomendaciones:

1. Efectúe la limpieza y raspado de los cuadros, rejillas y paredes interiores con motivo de desinfección.
2. La recolección se realiza muy fácilmente raspando los cuadros o paredes interiores de las colmenas. Es preferible efectuar la operación cuando el clima es cálido, mientras que cuando es caliente, el propóleo tiende a pegarse y aglomerarse.
3. Cuidado cuando raspe el propóleo de colmenas pintadas. La contaminación con pintura u hojuelas de pintura lo inutilizarán.
4. Debe extraerse antes de cualquier tratamiento con fumigantes.

5. El propóleo debe ser recogido eliminando las sustancias extrañas, tales como abejas muertas, partículas de cera, astillas de madera, larvas de polillas, etc.
6. No debe ser sometido al calor. Las valiosas propiedades del propóleo son destruidas por el calor, por lo que se debe extraer antes de aplicar algún tratamiento con calor o si se va a utilizar un extractor solar
7. El propóleo fresco y pegajoso no debe ser prensado o comprimido en forma de bolas.
8. No extraiga más de 10 a 20 g de propóleo de una misma colmena.
9. Si el colector o rejilla para propóleo va a ser colocado verticalmente en reemplazo de alguna de las paredes exteriores de la colmena, escoja preferentemente la pared norte para obtener mayor cantidad de propóleo.
10. Aumente el intercambio de aire en la colmena (Asís 2001).

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL PROPÓLEO

Sus características morfológicas varían atendiendo a las condiciones que rodean la colmena (clima, vegetación). Por ello, su color puede variar fácilmente desde el verde, verde-castaño, marón, amarillento hasta negro. Su densidad es superior a la de la cera de abeja, es insoluble en agua y parcialmente soluble en alcohol. A una temperatura aproximada de 15° C es un material muy duro y a temperaturas superiores se ablanda y se vuelve muy pegajoso, fundiéndose a 60-69° C (Arrate 2008).

Los análisis para determinar las propiedades fisicoquímicas son métodos correspondientes a los reportados en normas internacionales, las cuales se describen brevemente.

Cenizas: consiste en calcinar una porción de muestra en mufla a 500° C y llevar a un peso constante. La norma fija un contenido máximo del 5%.

Humedad: se determina mediante el método termogravimétrico, que consiste en secar una porción de muestra en estufa a $105 \pm 2^\circ$ C, y llevar a peso constante. La norma establece un contenido máximo del 10%.

Extractables en éter: se realiza por gravimetría del residuo obtenido mediante una extracción con éter de petróleo (40-60%) en un equipo Soxhlet, durante 8 h, posterior

destilación del solvente y secado del extracto en estufa a 105° C hasta peso constante. Se establece un contenido máximo del 40%.

Extractables en etanol: se determina por gravimetría de las resinas obtenidas mediante un extracción con alcohol etílico (96%), en un Soxhlet, a partir de un residuo sólido obtenido en el dedal después de determinar el material extractable con éter de petróleo. Posteriormente se destiló el alcohol a presión reducida y la resina obtenida se secó en estufa a 105° C; se llevó a peso constante. Se define un contenido mínimo del 30%.

Material insoluble: después de la extracción con etanol, el residuo remanente en el dedal se seca en una estufa a 40° C hasta peso constante. La norma plantea para este parámetro un máximo del 25%.

Puntos de fusión: se determina en un fusiómetro Fischer Scientific.

Índice de oxidación: se realiza de acuerdo a la metodología descrita por Salamanca et al. (Martínez 2012).

ALMACENAMIENTO DEL PROPÓLEO

Para que las propiedades del propóleo recogido no se pierdan o alteren, es recomendable acopiarlo en bolsas de plástico transparentes, hasta que se entregue para su utilización. Se debe tener la precaución de no almacenar grandes volúmenes, para evitar que se compacte desmereciendo significativamente la calidad del producto. Es prudente guardar estas bolsas dentro de cajas de cartón, madera o un recipiente apropiado que lo proteja de las altas temperaturas y en especial de la luz. Otra posibilidad sería conservarlo en frascos de vidrio de color ámbar.

En general, si el propóleo se va a almacenar por largo tiempo se debe conservar sometiéndolo a temperaturas que oscilen entre -10 a -20° C durante 48 hr. Se pueden utilizar refrigeradores de uso doméstico. Una vez retirado del mismo no debe dejarse en contacto con el aire ya que absorberá humedad (Rodríguez 2011).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo a los desalentadores resultados de diversos estudios epidemiológicos sobre prevalencia de caries realizados en años recientes en diversos países, se concluye que las técnicas de prevención utilizadas no están resultando efectivas por lo cual se estudian otras alternativas, entre ellas, la utilización de un producto natural como lo es el propóleo, que ha demostrado tener propiedades antimicrobianas. El propósito de este estudio es contribuir en esta área investigando el propóleo y sugiriéndolo en un enjuague bucal para disminuir la prevalencia de caries.

JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de caries dental debido a las altas cuentas de los *S. mutans* es una medida primordial de la salud bucal y un indicador de las perspectivas a largo plazo para una dentición natural y funcional. En el total de la población examinada en el año 2010 por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Patologías Bucales (SIVEPAB), la prevalencia de caries dental fue de 95.7%. Así mismo se estudió la prevalencia de caries en relación con la edad, encontrándose que en todos los grupos de edad ésta fue elevada superior al 89%. La prevalencia de caries dental en la población de 20 a 24 años fue de 89.5% y en los grupos de 45 a 74 años se detectaron las cifras más elevadas. La caries dental es la enfermedad más común y por lo tanto es un problema de salud pública.

Para controlar la cantidad de microorganismos en la cavidad bucal, incluidos los causantes de la caries dental, se utilizan enjuagues a base de clorhexidina por ser efectivos contra una amplia variedad de bacterias encontradas en la cavidad bucal, incluso a bajas concentraciones. Sin embargo, se sabe que tienen efectos secundarios, como la moderada citotoxicidad a los fibroblastos gingivales, por lo que el presente estudio pretende demostrar las bondades, entre ellas, el costo beneficio de los enjuagues a base de propóleo como una alternativa para el control del microorganismo *S. mutans* en la cavidad bucal.

Por muchos años, la apicultura fue un importante recurso económico de la ciudad de Aguascalientes. En el mes de julio del año 2012, se registró una baja de hasta 75% de los

apicultores, quedando tan solo 180 empadronados oficiales que mantienen vigente la actividad. Con este estudio, pretendemos retomar una parte de esta ciencia, ya que consideramos de suma importancia explotar los beneficios de uno de los 7 productos de las abejas, y con esto, tratar de remediar algunos problemas de salud bucal en pacientes que viven en la misma ciudad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es efectivo un enjuague bucal preparado a base de extracto de propóleo al 30% en la disminución de las cuentas microbianas de *S. mutans* en saliva de un paciente infantil?

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de un enjuague a base de propóleo en los *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las UFC/ml de saliva de *S. mutans* en un grupo de pacientes infantiles antes y después del uso del enjuague a base de propóleo al 30%
- Determinar las UFC/ml de saliva de *S. mutans* en pacientes infantiles después del uso del enjuague de clorhexidina al 0.12% como un grupo de control.
- Determinar el grado de susceptibilidad a caries en relación a las UFC/ml de saliva de *S. mutans* en pacientes infantiles antes y después del uso del enjuague a base de propóleo al 30% y en un grupo control.
- Analizar la diferencia entre las cuentas de *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles antes y después del uso del enjuague.

HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

El enjuague bucal a base de propóleo al 30% es efectivo en la disminución de las cuentas de *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles.

HIPÓTESIS NULA

El enjuague bucal a base de propóleo al 30% no es efectivo en la disminución de las cuentas de *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles.

VARIABLE DE ESTUDIO INDEPENDIENTE

- Enjuague bucal a base de propóleo.

Definición.

El enjuague bucal es una solución que suele usarse para mantener la higiene bucal, después del cepillado de dientes, para eliminar las bacterias y microorganismos causantes de caries y eliminar la halitosis.

VARIABLES DE ESTUDIO DEPENDIENTES

- Efecto del enjuague bucal a base de propóleo sobre las cuentas de las UFC de *S. mutans*.
- Susceptibilidad a caries

Definición.

Las UFC (unidades formadoras de colonias), es un término que se emplea para estimar el número de bacterias o levaduras mediante recuento de colonias sobre un medio sólido.

La susceptibilidad a la caries es la capacidad de un órgano dentario de recibir el efecto o acción de esta enfermedad.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Experimental in vivo

METODOLOGÍA

Población de estudio:

- 41 pacientes

Criterios de inclusión:

- Pacientes infantiles de entre 12 y 15 años
- Pacientes sanos y que no se encuentren en tratamiento antibiótico
- Pacientes que no presenten enfermedad periodontal
- Pacientes que no usen ningún enjuague bucal o al menos 12 hr antes de iniciar el estudio
- Pacientes con altos conteos de *S. mutans*

Criterios de exclusión:

- Pacientes jóvenes mayores de 15 años
- Pacientes infantiles menores de 12 años
- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento antibiótico
- Pacientes que presenten enfermedad periodontal
- Pacientes que usaron algún otro enjuague bucal 12 hr previas al inicio del estudio

Criterios de eliminación:

- Pacientes que no terminaron el estudio
- Pacientes que adjuntamente usaron otro tipo de enjuague
- Pacientes que decidieron retirarse del estudio
- Pacientes con bajos conteos de *S. mutans*

MATERIALES Y MÉTODOS

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PROPÓLEO

Se diluyeron 27 ml de agua destilada en 73 ml de alcohol al 96% hasta lograr una concentración de alcohol al 70% no desnaturalizado. En seguida se pesaron 30 grs. de propóleo (Fig. 2) los cuales se mezclaron con el alcohol y se dejaron reposar por 24 hrs. Después se filtró la solución usando un filtro Whatman 41 para la obtención de la tintura (Fig. 2.1) que posteriormente se diluyó en agua destilada en proporción de 1:5.

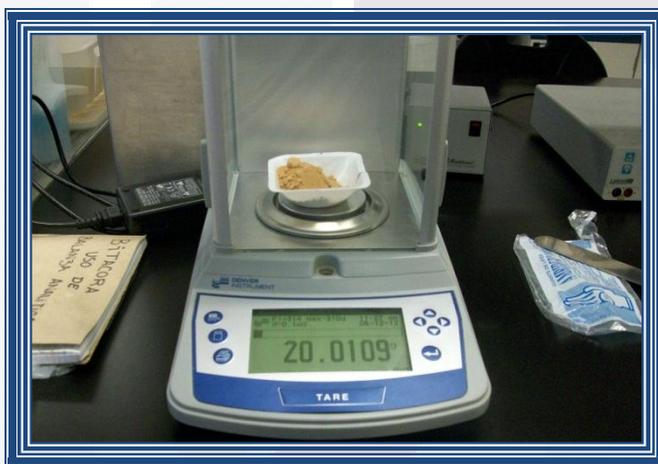


Figura 2. Peso del propóleo en la balanza analítica



Figura 2.1 Filtrado de la solución con filtro Whatman 41

Papel filtro Whatman Grado 41

Papel de filtro sin cenizas, de máxima rapidez. Adecuado para procedimientos analíticos con precipitados gelatinosos. También se puede utilizar para análisis de la contaminación del aire en grandes volúmenes (Fig. 3).

Retención de partículas : 20 – 25 μm

Velocidad de filtración (Herzberg): 54 s

Peso: 85 g/m²

Grosor: 0.22 mm

Cenizas: 0.010%

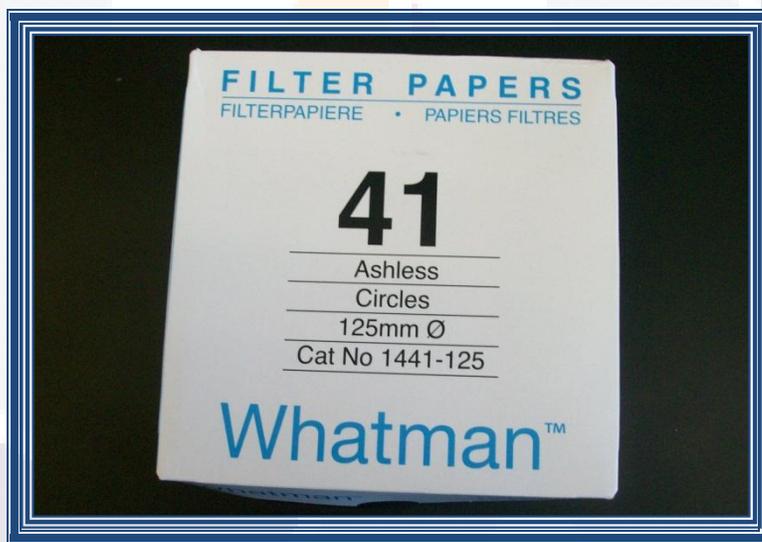


Figura 3. Filtro Whatman 41

PREPARACION DEL AGAR MITIS SALIVARIUS ADICIONADO CON BACITRACINA

Para la preparación del agar se llevó a cabo la siguiente secuencia:

Con la ayuda de un matraz se midieron 1000 ml de agua destilada a la que se le agregaron 90 gr del polvo agar Mitis Salivarius agitándolo constantemente hasta lograr la dilución del polvo, enseguida se le adicionaron 100 grs de sacarosa y se llevó la mezcla a ebullición por un minuto para lograr la absoluta dilución de los ingredientes. Una vez que se logró la dilución, se esterilizó por 15 minutos a 15 libras de presión (Fig. 4) y se dejó enfriar a no menos de 55°C con la ayuda de baño maría. Una vez que la preparación alcanzó los 55°C se procedió a agregarle la Bacitracina en cantidades de 1ml a una concentración de 0.2 u/ml, así como 1ml de Telurito de Sodio al 1% y después de agitarla se vació el agar en las cajas de Petri estériles, todo esto se llevó a cabo en la zona de seguridad (Fig. 4.1).



Figura 4. Esterilización del agar por autoclave

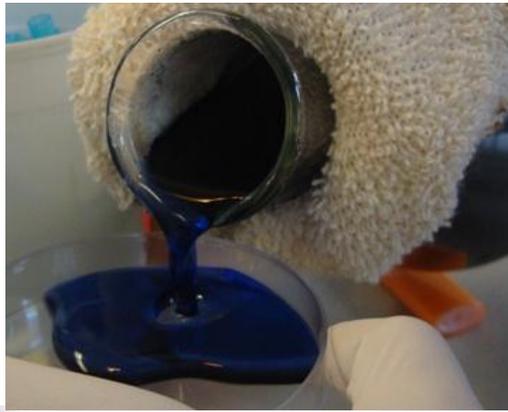


Figura 4.1 Colocación del agar en placas

EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA SOLUCIÓN DE PROPÓLEO

Previo consentimiento informado (anexo A) y habiendo informado de las características del estudio, muestreo, riesgos y mitigaciones, se recolectó un muestra de saliva de cada uno de los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

Las muestras de saliva fueron recolectadas durante la mañana encontrándose el paciente en ayuno mínimo de 2 horas y sin haber realizado ningún procedimiento de higiene bucal en este periodo previo a la muestra. Los pacientes fueron sentados en una unidad dental, fueron interrogados y se obtuvieron los datos incluidos en la hoja de recolección de datos (anexo B), fueron revisados clínicamente considerando los siguientes aspectos:

- No presentar enfermedad periodontal
- No presentar signos de otra enfermedad de los tejidos blandos

Para obtener las muestras de saliva se le proporcionó al paciente un cuadro de parafina masticable y se le pidió que recolectara saliva durante un periodo de 1 min la cual fue depositada en un frasco estéril rotulado previamente que le fue proporcionado para este fin. Las muestras de saliva fueron inmediatamente trasportadas al laboratorio para su procesamiento.

Una vez recolectados los datos y realizadas las revisiones clínicas se le explicó al paciente detalladamente el procedimiento que debería seguir para realizar el enjuague proporcionado para su evaluación. Este procedimiento consistía en lo siguiente:

- Realizar el enjuague bucal con la sustancia por un minuto

- Recolectar saliva una hora después del enjuague y depositarlo en el frasco estéril proporcionado.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS DE SALIVA

Las muestras de saliva fueron transportadas al laboratorio de microbiología de la Facultad de Estomatología de la UASLP en un periodo no superior a una hora. Antes de su procesamiento, las muestras fueron mantenidas en una hielera con bolsas térmicas a una temperatura de entre 1 a 4° C (Fig. 5)

Cada muestra de saliva se agitó con Vortex durante 30 segundos y utilizando 1 ml de saliva se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} (Fig. 5.1).



Figura 5. Frasco recolector de saliva



Figura 5.1 Diluciones seriadas de la saliva en solución salina isotónica.

DILUCIONES SERIADAS DE LAS MUESTRAS DE SALIVA

1. Se colocaron 900 μl de solución salina isotónica estéril en cada tubo Ependorf (Fig. 6).
2. Se colocaron 4 tubos Ependorf en hilera por cada muestra. El primer tubo contenía 1ml de saliva.
3. Se colocaron 100 μl del tubo # 0 en el tubo #1 que contenía la solución isotónica estéril. Se agitó en el Vortex y se colocaron 100 μl del tubo #1 en el tubo #2, se agitó la solución y se colocaron 100 μl de la solución 2 en el tubo #3; se agitó la solución.



Figura 6 Diluciones salivales

SEMBRADO EN PLACA POR EXTENSIÓN

Fueron sembrados 100 μL de saliva y 100 μL de cada dilución y por el método de extensión en placa o césped en Agar Mitis Salivarius adicionado con Bacitracina 0.2 UI/ml y Telurito de Sodio al 1% (Fig. 7).

Una vez sembradas las placas fueron incubadas en una cámara de anaerobiosis o jarra Gaspack a 36° C en un ambiente micro-aerofílico de 5% de CO² durante un periodo de 48 hrs (Fig. 7.1).

Se contaron las colonias de *S. mutans* en cada una de las placas y se calculó la relación de estas por mililitro de saliva en cada una de las muestras, tanto las obtenidas antes y después del uso del enjuague (Fig. 7.2).



Figura 7. Método de sembrado por extensión en placa o césped.



Figura 7.1 Siembra en placas e incubación en anaerobiosis

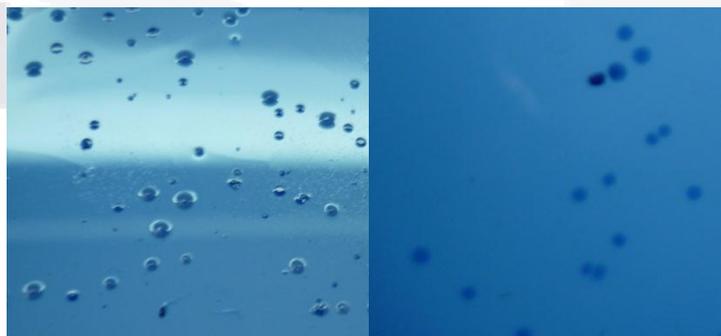


Figura 7.2 Conteo de colonias

Para determinar las UFC/ml en saliva se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{(\text{No de colonias}) * (\text{Factor de dilución –inverso-})}{\text{Inóculo en ml}} = \text{UFC/ml de saliva}$$

La clasificación propuesta de riesgo de caries en relación al conteo de *S. mutans* en saliva fue la siguiente:

Clase	Conteo de <i>S. mutans</i> en saliva	Riesgo a caries
4	≥ 1,000,000 UFC/ml de saliva	Alto
3	≥ 500,000 < 1,000,000 UFC/ml de saliva	Moderado – Alto
2	≥ 100,000 < 500,000 UFC/ml de saliva	Moderado - Bajo
1	< 100,000 UFC/ml de saliva	Bajo Riesgo

CONSIDERACIONES ÉTICAS

La presente investigación se realizó in vivo, en pacientes que acudieron a la Facultad de Estomatología. De acuerdo a los lineamientos establecidos por la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial de 1964 para la investigación médica en seres humanos y sus revisiones de 1974, 1983, 1996, 2000, 2002, 2004 y 2008.

Además se tomaron también en cuenta los lineamientos legales establecidos por la Ley General de Salud en los artículos 89 párrafo I y 90 fracción III, 96 fracción II, III, y V, 98, 100 y 101 párrafo I del reglamento de la Ley General de Salud en materia de prestación de servicios de atención médica, artículos 7, 8, 9 y fracción II, 17 y 29.

De acuerdo a estos lineamientos antes mencionados, se obtuvo el consentimiento informado de los participantes por medio de un documento escrito, en el cual se especificó el objetivo de la investigación, tiempo de duración, métodos utilizados, así como los riesgos y efectos secundarios de los medicamentos utilizados, además, se aseguró la

confidencialidad y anonimato de los datos. Los participantes que aceptaron participar en el estudio lo hicieron de forma voluntaria y sabiendo que se podrían retirar cuando ellos lo decidieran sin recibir sanción alguna.

RESULTADOS

En el presente estudio, el enjuague a base de propóleo demostró disminuir las cuentas in situ de uno de los microorganismos más importantes causantes de la caries dental, que es, el *S. mutans*. De los 41 pacientes muestreados, seis fueron eliminados de acuerdo a los criterios de eliminación, veinticinco pacientes usaron el enjuague a base de propóleo y 10 pacientes usaron el enjuague a base de clorhexidina. Como se observa en la Tabla 1, en los pacientes que realizaron el enjuague a base de propóleo (B1 – B25) se mostró una disminución en el riesgo de caries en todos los casos (Tabla 2). Sin embargo, la disminución en los conteos de *S. mutans* en los pacientes que realizaron el enjuague con clorhexidina que son identificados de B26 – B35, fue significativamente mayor.

Análisis de los grupos

Grupo de estudio pre-tratamiento	UFC/ml	Riesgo de caries	Grupo de estudio pos-tratamiento	UFC/ml	Riesgo de caries
A1	8000	1	B1	2000	1
A2	100,000	3	B2	34,000	1
A3	16,000	1	B3	2000	1
A4	1,000,000	4	B4	120,500	2
A5	2000	1	B5	0	1
A6	260,000	2	B6	152,000	2
A7	1,060,000	4	B7	150,000	2
A8	666,000	3	B8	274,000	2
A9	496,000	2	B9	14,000	1
A10	343,200	2	B10	514,000	3
A11	1,060,000	4	B11	126,000	2

A12	966,000	3	B12	370,000	2
A13	120,000	2	B13	424,000	2
A14	109,900	2	B14	40,000	1
A15	800,000	3	B15	560,000	3
A16	160,000	2	B16	14,000	1
A17	1,280,000	4	B17	1,200,000	4
A18	32,000	1	B18	18,000	1
A19	372,000	2	B19	14,000	1
A20	624,000	3	B20	282,000	2
A21	600,000	3	B21	40,000	1
A22	59,600	1	B22	64,000	1
A23	19,200	1	B23	0	1
A24	24,000	1	B24	20,000	1
A25	24,000	1	B25	4000	1
A26	40,000	1	B26	1300	1
A27	20,000	1	B27	0	1
A28	218,000	2	B28	0	1
A29	500,000	3	B29	0	1
A30	408,000	2	B30	0	1
A31	194,000	2	B31	2000	1
A32	800,000	3	B32	0	1
A33	12,000	1	B33	0	1
A34	224,000	2	B34	0	1
A35	202,900	2	B35	0	1

Tabla 1. En los pacientes que realizaron el enjuague a base de propóleo, se disminuyó el riesgo de caries en todos los casos.

Riesgo de caries

GRUPO DE ESTUDIO			% válido
CONTROL	Válidos	Bajo riesgo	31.4
		Riesgo moderado-bajo	34.3
		Riesgo moderado-alto	22.9
		Alto riesgo	11.4
		Total	100
PROPOLEO	Válidos	Bajo riesgo	56
		Riesgo moderado-bajo	32
		Riesgo moderado-alto	8
		Alto riesgo	4
		Total	100
CLORHEXIDINA	Válidos	Bajo riesgo	100

Tabla 2. El uso del enjuague de propóleo disminuyó el riesgo de caries.

De acuerdo a la estadística descriptiva, la media encontrada para el grupo propóleo fue de 221,000.00 con un valor mínimo de 0 y un máximo de 1,200.000 y cuando la media del grupo clorhexidina fue de 330.00 con un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 2000, como se muestra en la Tabla 3.

Estadística descriptiva

GRUPO DE ESTUDIO		N	Mínimo	Máximo	Media
CONTROL	UFC/ML DE SALIVA	35	2000	1280000	366308.57
	N válido (según lista)	35			
PROPOLEO	UFC/ML DE SALIVA	25	0	1200000	221000

	N válido (según lista)	25			
CLORHEXIDINA	UFC/ML DE SALIVA	10	0	2000	330
	N válido (según lista)	10			

Tabla 3. Según las UFC/ml de saliva, el enjuague a base de propóleo mostró una media de 221.000, después de su uso.

Las Tablas de Contingencia (Tabla 4) se utilizaron para analizar la relación que existe entre los grupos y características específicas, en este caso grupos control, propóleo y clorhexidina; relacionándolos con riesgo de caries bajo, moderado-bajo, moderado –alto y alto. A estas tablas también se les conoce como tablas de independencia ya que si el valor de P es menor que .05 significa que existe una relación entre los grupos de estudio y las características específicas. En caso de que el valor de P sea mayor significa que los grupos de estudio y las características específicas son independientes unas de otras.

Tabla de contingencia entre los grupos de estudio (control, propóleo y clorhexidina) y el grado de riesgo de caries.

		RIESGO DE CARIES				Total
		Bajo riesgo	Riesgo Moderado-Bajo	Riesgo Moderado-Alto	Alto Riesgo	
GRUPO DE ESTUDIO	CONTROL	11	12	8	4	35
	PROPOLEO	14	8	2	1	25
	CLORHEXIDINA	10	0	0	0	10
Total		31	17	10	5	70

Tabla 4. Se muestra la relación entre cada uno de los grupos de estudio con el riesgo de caries

Los análisis de la tabla de Chi Cuadrado muestran que el valor de P es menor que .05 lo cual significa que existe una relación entre los tres grupos de estudio y los cuatro tipos de riesgo de caries.

Pruebas de chi-cuadrado de la tabla 4

	Valor	gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	15.413a	6	0.017
Razón de verosimilitudes	19.396	6	0.004
Asociación lineal por lineal	11.219	1	0.001
N de casos válidos	70		

Tabla 5. Los valores de P son mayores a .05 lo que indica que las características específicas son independientes.

Las Tablas de Contingencia (Tabla 6) se utilizaron para analizar la relación que existe entre los grupos control y propóleo relacionándolos con riesgo de caries bajo, moderado-bajo, moderado –alto y alto.

Tabla de Contingencia entre los grupos de estudio (control y propóleo) y el riesgo de caries

		GRUPO DE ESTUDIO		Total
		CONTROL	PROPÓLEO	
RIESGO DE CARIES	Bajo riesgo	11	14	25
	Riesgo moderado-bajo	12	8	20
	Riesgo moderado-	8	2	10

	alto			
	Alto riesgo	4	1	5
Total		35	25	60

Tabla 6. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo propóleo con los grupos de riesgo de caries

Los análisis de la prueba de Chi Cuadrada de la tabla 6 (Tabla 7), muestran que el valor de P es mayor que .05 lo cual significa que no existe una relación entre el grupo control y propóleo, en relación con el grado de riesgo de caries.

Prueba de Chi Cuadrada de la tabla 6

	Valor	gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3.207 ^a	3	0.361
Razón de verosimilitudes	3.249	3	0.355
Asociación lineal por lineal	2.749	1	0.097
N de casos válidos	53		

Tabla 7. No existe relación entre los grupos propóleo y control y el riesgo de caries

Las Tablas de Contingencia (Tabla 8) se utilizaron para analizar la relación que existe entre los grupos control y clorhexidina relacionándolos con riesgo de caries bajo, moderado-bajo, moderado –alto y alto.

Tabla de contingencia entre los grupos de estudio (control y clorhexidina) y el riesgo de caries

		CONTROL	CLORHEXIDINA	Total
RIESGO DE	Bajo riesgo	11	10	21
	Riesgo moderado-	12	0	12

CARIES	bajo			
	Riesgo moderado- alto	8	0	8
	Alto riesgo	4	0	4
Total		35	10	45

Tabla 8. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo clorhexidina y el riesgo de caries.

Los análisis de esta prueba (tabla 9) muestran que el valor de P es menor que .05 lo cual significa que existe una relación entre el grupo control y el grupo clorhexidina, en relación con el grado de riesgo de caries. Lo cual significa que los pacientes del grupo tratados con clorhexidina tienen un grado bajo de riesgo de caries y los pacientes del grupo control se pueden encontrar en categorías diferentes del riesgo de caries.

Prueba de Chi Cuadrada de la tabla 8.

	Valor	gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14.694a	3	0.002
Razón de verosimilitudes	18.609	3	0
Asociación lineal por lineal	10.057	1	0.002
N de casos válidos	45		

Tabla 9. Si existe relación entre los grupos de estudio y el riesgo de caries

Las Tablas de Contingencia (Tabla 10) se utilizaron para analizar la relación que existe entre los grupos propóleo y clorhexidina relacionándolos con riesgo de caries bajo, moderado-bajo, moderado –alto y alto.

Tabla de contingencia entre los grupos de estudio (propóleo y clorhexidina) y el grado de riesgo de caries.

		GRUPO DE ESTUDIO		Total
		PROPÓLEO	CLORHEXIDINA	
RIESGO DE CARIES	Bajo riesgo	14	10	24
	Riesgo moderado-bajo	8	0	8
	Riesgo moderado-alto	2	0	2
	Alto riesgo	1	0	1
Total		25	10	35

Tabla 10. Se muestra la relación entre el grupo control y el grupo clorhexidina y el riesgo de caries

Los análisis de la prueba Chi Cuadrada (Tabla 11) muestran que el valor de P es mayor que .05 lo cual significa que no existe una relación entre el grupo propóleo y clorhexidina, en relación con el grado de riesgo de caries. Lo cual significa que los pacientes del grupo tratados con clorhexidina tienen un grado bajo de riesgo de caries y los pacientes del grupo tratados con propóleo se pueden encontrar aproximadamente el 50% en las categorías de bajo riesgo y riesgo moderado-bajo del grado de riesgo de caries.

Pruebas de chi-cuadrado de la tabla 10

	Valor	gl	Sig. Asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6.222a	3	0.101
Razon de verosimilitudes	8.772	3	0.032
Asociación lineal por lineal	4.576	1	0.032
N de casos válidos	28		

Tabla 11. No existe relación entre los grupos propóleo y clorhexidina y el grupo de riesgo de caries

La prueba ANOVA se utiliza para comparar promedios entre grupos y diferentes variables (Tabla 12). Cuando el valor de P es menor que .05 significa que hay que rechazar la hipótesis nula (los promedios entre los grupos son iguales). Lo cual indica que los promedios entre los grupos son diferentes, y para saber dónde se encuentran estas diferencias se aplicó la prueba de Tukey (Tabla 13).

Cuando el valor de P en cada una de las comparaciones es menor que .05, nos indicó que hay una diferencia significativa entre los grupos. Existe una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo de clorhexidina. Entre las otras combinaciones de grupos no hay una diferencia significativa (Tabla 14).

Los resultados de esta prueba indican que no hay diferencias entre el grupo de propóleo y clorhexidina, lo cual es importante porque podemos decir que el enjuague a base de propóleo puede ser una alternativa como tratamiento antibacterial en algunos problemas bucales ya que se comportó de manera similar al del estándar de oro que es el enjuague a base de clorhexidina.

ANOVA de un factor

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	1.094E+12	2	5.47E+11	5.08	0.009
Intra-grupos	6.463E+12	60	1.08E+11		
Total	7.558E+12	62			

Tabla 12. Los promedios de los grupos son diferentes

Prueba de HSD de Tukey

(I) GRUPO DE ESTUDIO	(J) GRUPO DE ESTUDIO	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
CONTROL	PROPOLEO	-83465.71	374082.86

	CLORHEXIDINA	83157.49	648799.65
PROPOLEO	CONTROL	-374082.86	83465.71
	CLORHEXIDINA	-90417.32	531757.32
CLORHEXIDINA	CONTROL	-648799.65	-83157.49
	PROPÓLEO	-531757.32	90417.32

Tabla 13. Los promedios de los grupos control y clorhexidina son diferentes.

Pruebas post hoc. Comparaciones múltiples.

(I) GRUPO DE ESTUDIO	(J) GRUPO DE ESTUDIO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
CONTROL	PROPÓLEO	145308.571	95195.041	0.286
	CLORHEXIDINA	365978.571	117684.401	0.008
PROPOLEO	CONTROL	-145308.571	95195.041	0.286
	CLORHEXIDINA	220670	129446.236	0.212
CLORHEXIDINA	CONTROL	-365978.571	117684.401	0.008
	PROPÓLEO	-220670	129446.236	0.212

Tabla 14. Los resultados de P menores a .05 indican que si existe diferencia significativa entre los grupos control y clorhexidina

DISCUSIÓN

Este estudio ha reportado la potencial aplicación del propóleo en el control de la caries dental, especialmente ahora que este producto ya se ha incorporado a diversos productos domésticos para el cuidado bucal. El mecanismo de la acción antimicrobiana del propóleo es controversial y no es del todo clara. La actividad biológica del propóleo puede variar de acuerdo a su composición y parece ser multidireccional, envuelve varios mecanismos tales como la desorganización de la membrana citoplasmática y la pared celular; bacteriolisis parcial; formación de colonias pseudo-multicelulares y la inhibición de la síntesis de proteínas. Es conocido que el efecto de sinergismo de la mayoría de los componentes del

propóleo como los flavonoides (galangina, pinocebrina y quercetina) y el ácido cinámico probablemente influyen la pared celular, resultando en efectos funcionales y estructurales.

La variación en cuanto a la composición del propóleo puede ser una limitación en cuanto al control de calidad y el efecto. Así que un análisis del propóleo de cada región es esencial. Elbaz y col. en el año 2012 compararon el efecto antibacterial del propóleo procedente de Egipto y el de Nueva Zelanda sobre *S. mutans* y *Lactobacillus* spp en saliva y encontraron que el propóleo procedente de Nueva Zelanda tuvo una mejor actividad antimicrobiana.

La actividad antimicrobiana del propóleo es ampliamente documentada, algunos autores encontraron muestras de propóleo con actividad antimicrobiana solamente contra gram positivos y algunos hongos. Ozan y col. demostraron su efecto contra gram positivos y negativos pero muy bajo efecto sobre *Cándida albicans*. En este estudio, los resultados mostraron que el enjuague a base de propóleo tiene actividad antimicrobiana sobre los conteos de *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles.

El propóleo es relativamente no tóxico y algunos estudios han demostrado que la dosis segura en humanos es de 1.4 mg/kg por día o aproximadamente 70 mg diariamente.

El desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de la caries dental es fundamental ya que la administración antimicrobiana oral o sistémica han traídos grandes problemas como la resistencia de algunos microorganismos.

Los nuevos enjuagues antimicrobianos no han demostrado la misma efectividad contra los microorganismos orales como lo hace la clorhexidina, sin embargo, han sido menos tóxicos sobre los fibroblastos orales.

El problema principal asociado a las preparaciones a base de propóleo es su composición química heterogénea, ya que su composición varía de acuerdo a la región de origen, la vegetación y a las técnicas de obtención. Los nuevos estudios requieren resolver estos problemas.

CONCLUSIONES

Basados en nuestro estudio, concluimos que el enjuague a base de propóleo mostró disminución en los conteos de *S. mutans* en saliva de pacientes infantiles. Los resultados mostraron que el efecto antimicrobiano del enjuague a base de propóleo es tan efectivo como la clorhexidina sobre el conteo de *S. mutans* de saliva de pacientes jóvenes en relación con el riesgo de caries.

GLOSARIO

Propóleo: es una sustancia que obtienen las abejas de las yemas de los árboles y que luego procesan en la colmena, convirtiéndola en un potente antibiótico con el que cubren las paredes de la colmena, con el fin de combatir las bacterias, virus y hongos que puedan afectarla.

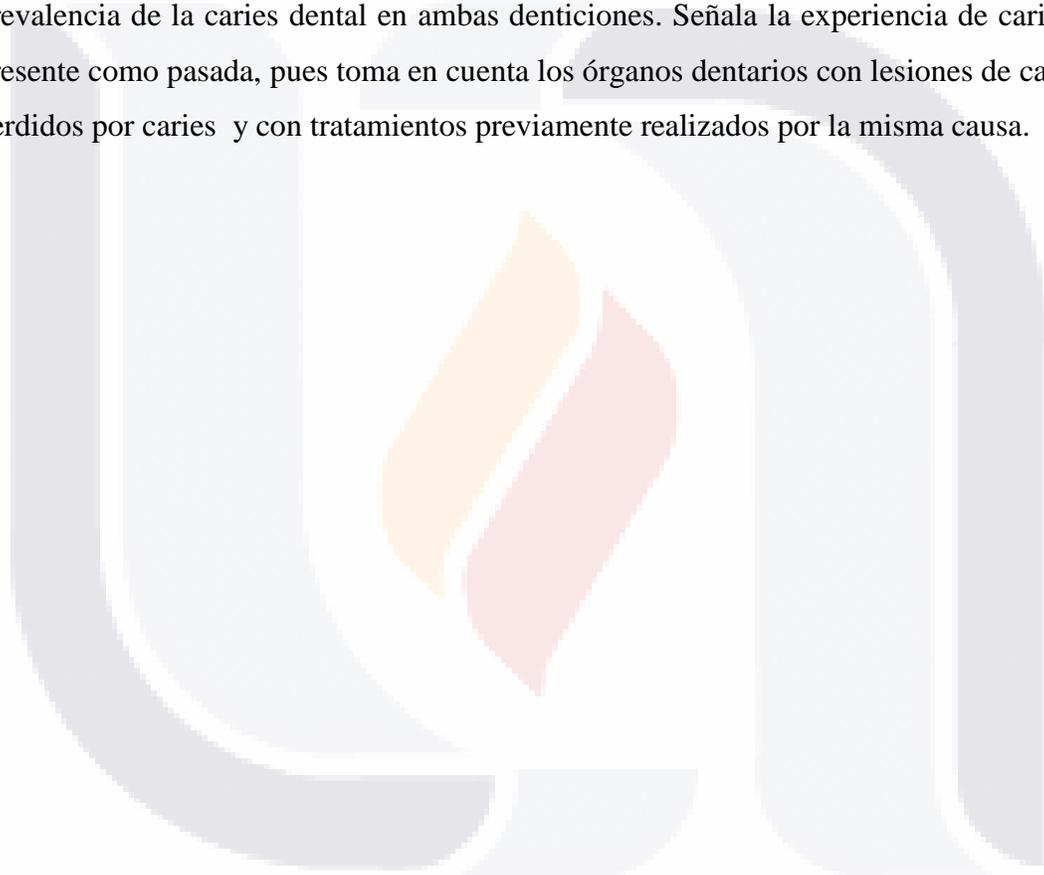
Clorhexidina: es una sustancia antiséptica de acción bactericida y fungicida. Perteneció al grupo de las biguanidas y se utiliza ampliamente en odontología en concentraciones de 0,2%, 0,12% y 0,10 % en presentaciones para el uso como enjuague bucal.

Caries: es una enfermedad multifactorial que se caracteriza por la destrucción de los tejidos del diente como consecuencia de la desmineralización provocada por los ácidos que genera la placa bacteriana. Las bacterias fabrican ese ácido a partir de los restos de alimentos de la dieta que se les quedan expuestos.

Bacteria: constituye un dominio grande (o reino) de los microorganismos procariotas. Típicamente con algunos micrómetros de longitud, las bacterias tienen una amplia gama de formas, que van desde esferas a las barras y espirales. Las bacterias fueron las primeras formas de vida en aparecer en la Tierra, y están presentes en la mayoría de los hábitats del planeta.

Flavonoides: son compuestos, generalmente amarillos, que se encuentran en los jugos celulares y en los pétalos de las flores de algunas plantas en forma de glucósidos de diversos azúcares y cuyos aglucones son derivados del núcleo fundamental de la fenilbenzopirona. Son grupos fenólicos.

Índice CPO-D y ceo: índice utilizado en Odontología que se realiza para cuantificar la prevalencia de la caries dental en ambas denticiones. Señala la experiencia de caries tanto presente como pasada, pues toma en cuenta los órganos dentarios con lesiones de caries, los perdidos por caries y con tratamientos previamente realizados por la misma causa.



REFERENCIAS

- Alalusua S. Transmission of mutans streptococci. Proc Finn Dent Soc 1991; 87 (4) 443-7.
- Almeida-Filho N. For a general theory of health: preliminary epistemological and anthropological notes. Cad. Saude Publica 2001;17 (4) 753-70.
- Alves de Carvalho S, Guedes G, Mendes F. Effect of a propolis extract on streptococcus mutans counts in vivo. J Appl Oral Sci 2007; 15 (3) 420-423.
- Anderson M, Bales D, Omnell K. Modern management of dental caries: The cutting edge is not the dental bur. J. Am. Dent. Assoc 1993; (124) 37-44.
- Anirban C. Mini S. Nidhi S. Abhishek K. To evaluate the antigingivitis and antiplaque effect of an Azadirachta indica (neem) mouthrinse on plaque induced gingivitis: a double-blind, randomized, controlled trial. J Indian Soc. Periodontol 2011; 15 (4) 398-401.
- Asís M.: Apiterapia para todos. Como usar los siete productos de la colmena para curar a una comunidad. 2ed. La Habana, Editorial Científico-Técnica 1993.
- Rodriguez E. Bacteriología General: Principios y prácticas de laboratorio 2005
- Bentley C, Crawford J, Broderius C. Analytical and physiological variability of salivary microbial counts. J. Dent. Res 1988; (67) 1409-1413.
- Berkowitz RJ. Mutans streptococci: acquisition and transmission. Pediatr Dent 2006; (2) 106-9.
- Betty A. Forbes Diagnóstico Microbiológico.. 12 edición Ed. Panamericana
- Birkhed D, Edwardsson S, Anderson H. Comparison among a dip-slide test (Dentocult), plate count, and Snyder test for estimating number of lactobacilli in human saliva; J. Dent. Res 1981; (60) 1832-1841.
- Caufield PW, Cutter GR, Dasanayake AP. Initial acquisition of mutans streptococci by infants: evidence for a discrete window of infectivity. J Dent Res 1993; (72) 3-45.
- Diario Oficial de la Federación 2007.

- Dodwad V, Kukreja BJ. Propolis mouthwash: A new beginning. J Indian Soc. Periodontol. 2011; (15)121-5.
- Dzedzic A, Kubina R, Wojtyczka R, Kabala A, Tanasiewicz M, Morawiec T. The antibacterial effect of ethanol extract of Polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. Evid Based Complement Alternat Med. 2013; 681-891
- El Hidrocálido. Periódico oficial. Aguascalientes. 11 de julio de 2012
- Eley B. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque- a review. Br Dent J. 1999; (6) 286- 296.
- Elmer Koneman Diagnostico microbiológico: Texto y atlas en color.. Ed. Panamericana.
- El-Nadeef I, Bratthall D. Intraindividual variations in counts of mutans streptococci measured by "strip mutans" method. Scand. J. Dent. Res 1991; (99) 8-12.
- Evelyn Rodríguez Cavallini. Bacteriología General: Principios y prácticas de laboratorio.
- Filoche SK, Soma K, Sissons CH. Antimicrobial effects of essential oils in combination with chlorhexidine digluconate. Oral Microbiol Immunol. 2005; (20) 221–225.
- Frazao P. Epidemiology of dental caries: when structure and context matter. Braz Oral Res. 2012; (1) 108-114.
- Freire J, Sato M. Conservación de Cultivos de Rizobios. Revista Latinoamericana de Microbiología. 1999; (41) 35-41.
- Gold O, Jordan H, Van Houte J. A selective medium for Streptococcus mutans; Archs. Oral Biol 1973; (18) 1357-1364
- Gomez Y, Vilvey L, Sánchez L, Díaz L. El uso del propóleos al 5% en el tratamiento de la alveolitis. Gaceta Médica Espirituana. 2008; (1) 10
- Holbrook WP. Bacteriological tests as an aid in the management of dental caries in Iceland. World J Microbiol Biotechnol 1992; (1) 60-4.
- Holbrook WP. Dental caries and cariogenic factors in preschool urban Icelandic children. Caries Res 1993; (27) 431-47.

- Hossainian N, Slot D, Afennich F, Van der Weijden G. The effects of hydrogen peroxide mouthwashes on the prevention of plaque and gingival inflammation: a systematic review. *J. Dent Hyg.* 2011; (3) 171-181.
- Irigoyen M, Mejía A, Zepeda M, Betancourt A, Lezana M, Alvaréz C. Dental caries in Mexico schoolchildren: A comparison of 1988-1989 and 1998-2001 surveys. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012; (5) 825-832.
- Jensen B, Bratthall D. A new method for estimation of mutans streptococci in human saliva; *J. Dent. Res* 1989; (68) 468-472.
- Jordan H, Laraway R, Snirch R, Marmel M. A simplified diagnostic system for cultural detection and enumeration of *Streptococcus mutans*; *J. Dent. Res.* 1987, (66) 57-61
- Kneist R, Laurisch L, Heinrich-Weltzien R, Stösser L. A modified mitis salivarius medium for a caries diagnostic test. *J. Dent. Res* 1998; (77) 970 (Abstr. 2712).
- Kohler B, Pettersson BM, Brathall D. *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and the development of caries. *Scand J Dent Res* 1981; (89) 19-25.
- Kutsh K, Young D. New directions in the etiology of dental caries disease. *Cda Journal.* 2011; (8) 716-721.
- Larmas. A new dip-slide technique for counting of salivary lactobacilli; *Proc. Finn. Dent. Soc.* 1975; (71) 31-35
- Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *J Dent Res* 1979; (12) 2404-12.
- Lucas VS, Roberts GJ, Mouth care and skin care in palliative medicine. Chlorhexidine mouth washes are important in mouth care. *BMJ* 1998; (18) 1241-1248
- Malhotra R. Grover V. Kapoor A. Saxena D. Comparison of the effectiveness of a commercially available herbal mouthrinse with chlorhexidine gluconate at the clinical and patient level. *J Indian Soc Periodontol* 2011; (4) 349-352.
- Malhotra N. Raob S. Acharyac S. Vasudev B. Comparative In Vitro Evaluation of Efficacy of Mouthrinses against *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* and *Candida albicans* *Oral Health Prev Dent* 2011; (3) 261-268

- Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo
- Medina CE, Maupomé G, Avila L, Políticas de salud bucal en México: disminuir las principales enfermedades. Una descripción. Rev Biomed. México 2006; (17) 269-286.
- Mendoza N, Farmacología Médica. Ed. Panamericana, 1ª. Edición.
- Moen B. Bureau of Economic Research and Statistics: survey of needs for dental care. II. Dental needs according to age and sex of patients. J Am Dent Assoc. 1953; (2):200–211.
- Montandon A. Zuza E. Toledo BE. Prevalence and Reasons for Tooth Loss in a Sample from a Dental Clinic in Brazil. Int J Dent. 2012; 2012: 719750
- Muñoz G. Prevención de enfermedades podales con propóleo en ovinos. Apiacta. Rumanía. 1989
- Murray M, Worthington H, Blinkhorn A. A study to investigate the effect of a propolis containing mouthrinse on the inhibition of the novo plaque formation. J. Clin. Periodontol 1997;(11) 796-8
- Murray. Microbiología Médica. Murray. Ed. Elseveir Mosby.
- Negroni M. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2009 Ed. Panamericana 2ª. Edición.
- Özan F, Sümer Z, Polat Z, Er K, Ozan U, Deger O. Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. Eur J Dent. 2007; (1) 195-201
- Parolia A, Kundabala M, Rao. N, A comparative histological análisis of human pulp following direct pulp capping with Propolis, mineral trioxide aggregate and dycal. Aust Dent J 2010; (55) 59-64.
- Petersson HG, Bratthall D. The caries decline: a review of reviews. Eur J Oral Sci. 1996;(4):436-43

- Prathibha A, Ullal A, Mythili R. Effect of Manuka honey, cholhexidinegluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque. *Contemp Clin Dent* 2010; (4): 214-217.
- Prats G. *Microbiología Clínica*. Ed. Panamericana
- Romero C. *Microbiología y Parasitología Humana*.. Ed. Panamericana 3ª. Ed. 2007
- Russell AD, Day MJ. Antibacterial activity of chlorhexidine. *J Hosp Infect* 1993; (4) 229-238
- Russell MW, Childers NK, Michalek SM, Smith DJ, Taubman MA. A caries vaccine? The state of the science of immunization against dental caries. *Caries Res* 2004; (38) 230-235.
- Sandra Gutiérrez. *Fundamentos de Ciencias básicas aplicadas a la odontología*.. Pontificia Universidad Javeriana
- Santos A, Rodrigues A. Saúde bucal no Brasil: muito além do céu da boca. *Interface* 2010; (32) 229-231
- Scannapieco F. Yu J. Raghavendran K. Vacanti A. Owens S. Wood K. Mylotte J. A randomized trial of chlorhexidinegluconate on oral bacterial pathogens in mechanically ventilated patients. 2009; (4):1-12
- Schmidt H. Hampel CM. Schmidt G. Rless E. Rodel C. Double blind trial of the effect of a propolis containing mouthwash on inflamed and healthy gingiva. *Stomatol DDR* 1980; 30 (7) 491-497
- Sheiham, A. Oral health, general health and quality of life. *Bull World Health Organ*. 2005; (9) 644
- SIVEPAB 2010
- Togelius J, Kristoffersson K, Anderson H, Bratthall D. Streptococcus mutans in saliva: Intra-individual variations and relation to the number of colonized sites; *Acta Odontol. Scand* 1984 (42) 157-163
- Tripathi. *Farmacología en Odontología*. Fundamentos. Ed. Panamericana 1ª. Edición.
- *Vademecum* 2007

- Velasco A, San Román L, Serrano J. Farmacología Fundamental. Ed. Mc. Graw Hill-Interamericana . 1ª. Edición.
- Zickert I, Emilson CG, Krasse B. Streptococcus mutans, lactobacilli and dental health in 13- to14-year-old Swedish children. Community Dent Oral Epidemiol 1982; (2) 77-81.



ANEXO A

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE
INVESTIGACIÓN MÉDICA
TÍTULO DEL PROTOCOLO: EFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE
PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE
PACIENTES INFANTILES**

INVESTIGADOR PRINCIPAL: M.E. GABRIELA CABRERA RUEDA

SEDE DONDE SE REALIZARÁ EL ESTUDIO: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
SAN LUIS POTOSÍ

NOMBRE DEL PACIENTE:

A USTED SE LE ESTÁ INVITANDO A PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA. ANTES DE DECIDIR SI PARTICIPA O NO, DEBE CONOCER Y COMPRENDER CADA UNO DE LOS SIGUIENTES APARTADOS. ESTE PROCESO SE CONOCE COMO CONSENTIMIENTO INFORMADO. SIÉNTASE CON ABSOLUTA LIBERTAD PARA PREGUNTAR SOBRE CUALQUIER ASPECTO QUE LE AYUDE A ACLARAR SUS DUDAS AL RESPECTO.

UNA VEZ QUE HAYA COMPRENDIDO EL ESTUDIO Y SI USTED DESEA PARTICIPAR, ENTONCES SE LE PEDIRÁ QUE FIRME ESTA FORMA DE CONSENTIMIENTO, DE LA CUAL SE LE ENTREGARÁ UNA COPIA FIRMADA Y FECHADA.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

DEMOSTRAR LAS PROPIEDADES BACTERICIDAS DEL ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO DEL ESTADO DE AGUASCALIENTES POR MEDIO DE LA DISMINUCIÓN DE LA BACTERIA *S. MUTANS*

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

A USTED SE LE ESTÁ INVITANDO A PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN QUE TIENE COMO OBJETIVOS:

PROBAR QUE EL ENJUAGUE QUE SE ELABORO A BASE DE PROPÓLEO ES EFICIENTE EN LA DISMINUCIÓN DE LA BACTERIA *S. MUTANS*

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

EN ESTUDIOS REALIZADOS ANTERIORMENTE POR OTROS INVESTIGADORES SE HA OBSERVADO QUE LOA ENJUAGUES BUCALES COMERCIALES IRRITAN LA MUCOSA O PROVOCAN CAMBIOS EN LOS TEJIDOS. CON ESTE ESTUDIO SE PRETENDE DEMOSTRAR LAS BONDADES DE UN ENJUAGUE BUCAL A BASE DE UN PRODUCTO NATURAL A UN BAJO COSTO.

ESTE ESTUDIO PERMITIRÁ QUE EN UN FUTURO OTROS PACIENTES PUEDAN BENEFICIARSE DEL CONOCIMIENTO OBTENIDO.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

SE LE APLICARÁ UNA PRUEBA DE SENSIBILIDAD AL PROPÓLEO LA CUAL CONSISTE EN UNA PUNCIÓN INTRADÉRMICA EN LA PARTE INTERNA DEL ANTEBRAZO DERECHO. POSTERIORMENTE SE VALORARÁ SI SE PRODUCE UNA REACCIÓN QUE SE MANIFESTARÍA POR LA PRESENCIA DE UNA

PEQUEÑA INFLAMACIÓN Y EDEMA. EN ESTE CASO, SE SUSPENDERÁ EL RESTO DEL ESTUDIO. DE NO SER ASÍ, SE LE PEDIRÁ UNA MUESTRA DE SALIVA Y SE LE INSTRUIRÁ PARA QUE USE EL ENJUAGUE CON LA SUSTANCIA QUE SE LE ENTREGARÁ. SE LE SOLICITARÁ NUEVAMENTE UNA NUEVA MUESTRA DE SALIVA 20 MINUTOS DESPUES.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

RIESGOS IMPREDECIBLES

EN CASO DE QUE USTED DESARROLLE ALGÚN EFECTO ADVERSO SECUNDARIO O REQUIERA OTRO TIPO DE ATENCIÓN, ÉSTA SE LE BRINDARÁ EN LOS TÉRMINOS QUE SIEMPRE SE LE HA OFRECIDO.

6. ACLARACIONES

SU DECISIÓN DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO ES COMPLETAMENTE VOLUNTARIA.

NO HABRÁ NINGUNA CONSECUENCIA DESFAVORABLE PARA USTED, EN CASO DE NO ACEPTAR LA INVITACIÓN.

SI DECIDE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO PUEDE RETIRARSE EN EL MOMENTO QUE LO DESEE, -AUN CUANDO EL INVESTIGADOR RESPONSABLE NO SE LO SOLICITE-, PUDIENDO INFORMAR O NO, LAS RAZONES DE SU DECISIÓN, LA CUAL SERÁ RESPETADA EN SU INTEGRIDAD.

NO TENDRÁ QUE HACER GASTO ALGUNO DURANTE EL ESTUDIO.

NO RECIBIRÁ PAGO POR SU PARTICIPACIÓN.

EN EL TRANCURSO DEL ESTUDIO USTED PODRÁ SOLICITAR INFORMACIÓN ACTUALIZADA SOBRE EL MISMO, AL INVESTIGADOR RESPONSABLE.

LA INFORMACIÓN OBTENIDA EN ESTE ESTUDIO, UTILIZADA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CADA PACIENTE, SERÁ MANTENIDA CON ESTRICTA CONFIDENCIALIDAD POR EL GRUPO DE INVESTIGADORES.

SI CONSIDERA QUE NO HAY DUDAS NI PREGUNTAS ACERCA DE SU PARTICIPACIÓN, PUEDE, SI ASÍ LO DESEA, FIRMAR LA CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO QUE FORMA PARTE DE ESTE DOCUMENTO.

7. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

YO, _____ HE LEÍDO Y COMPRENDIDO LA INFORMACIÓN ANTERIOR Y MIS PREGUNTAS HAN SIDO RESPONDIDAS DE MANERA SATISFACTORIA. HE SIDO INFORMADO Y ENTIENDO QUE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL ESTUDIO PUEDEN SER PUBLICADOS O DIFUNDIDOS CON FINES CIENTÍFICOS. CONVENDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN. RECIBIRÉ UNA COPIA FIRMADA Y FECHADA DE ESTA FORMA DE CONSENTIMIENTO.

FIRMA DEL PARTICIPANTE O DEL PADRE O TUTOR FECHA

TESTIGO 1 FECHA

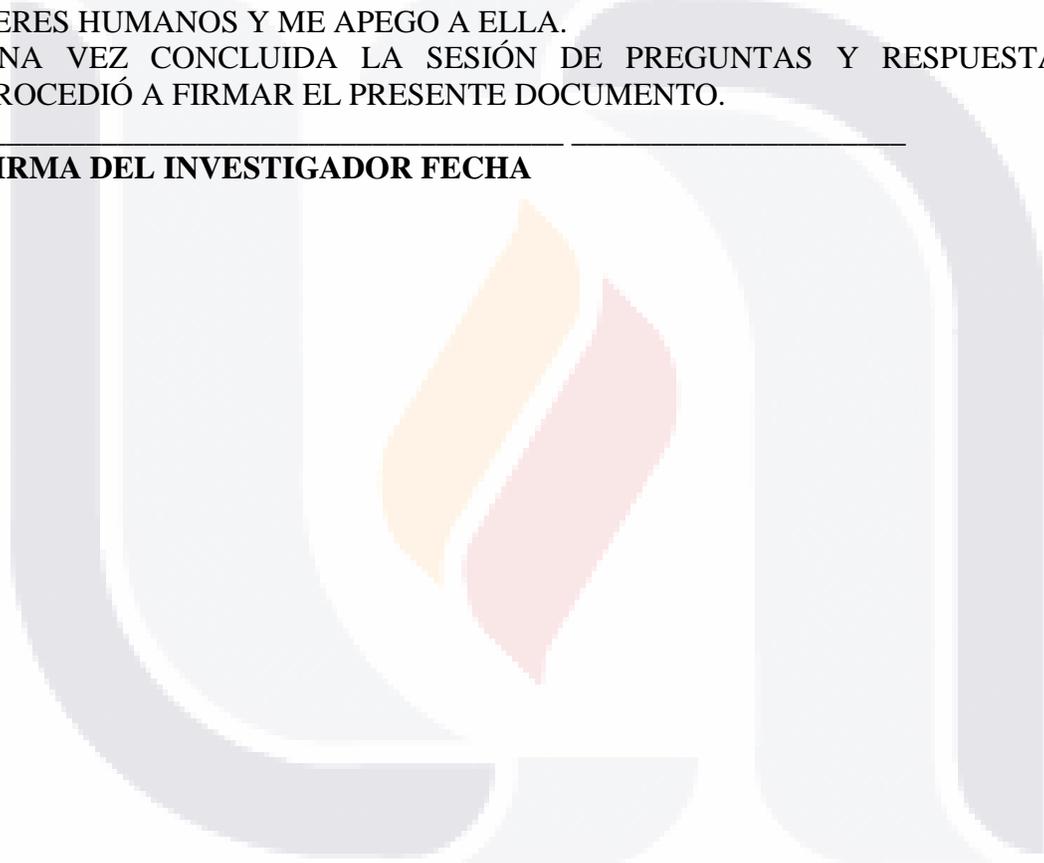
TESTIGO 2 FECHA

ESTA PARTE DEBE SER COMPLETADA POR EL INVESTIGADOR (O SU REPRESENTANTE):

HE EXPLICADO AL SR(A). _____ LA NATURALEZA Y LOS PROPÓSITOS DE LA INVESTIGACIÓN; LE HE EXPLICADO ACERCA DE LOS RIESGOS Y BENEFICIOS QUE IMPLICA SU PARTICIPACIÓN. HE CONTESTADO A LAS PREGUNTAS EN LA MEDIDA DE LO POSIBLE Y HE PREGUNTADO SI TIENE ALGUNA DUDA. ACEPTO QUE HE LEÍDO Y CONOZCO LA NORMATIVIDAD CORRESPONDIENTE PARA REALIZAR INVESTIGACIÓN CON SERES HUMANOS Y ME APEGO A ELLA.

UNA VEZ CONCLUIDA LA SESIÓN DE PREGUNTAS Y RESPUESTAS, SE PROCEDIÓ A FIRMAR EL PRESENTE DOCUMENTO.

FIRMA DEL INVESTIGADOR FECHA



ANEXO B

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
 FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
 POSGRADO DE ESTOMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

Hoja de Recolección de Datos

Fecha _____

**EFFECTO DE UN ENJUAGUE A BASE DE PROPÓLEO SOBRE LOS CONTEOS
 DE *Streptococcus mutans* EN SALIVA DE PACIENTES INFANTILES**

Nombre del paciente

 Apellido Paterno Apellido Materno Nombre

Edad: _____ Sexo: _____

Teléfono de casa _____ Fecha de nacimiento _____

Escolaridad _____

Nombre completo del padre o tutor: _____

-Encierre Sí o No en un círculo (si su respuesta es sí, especifique).

¿Tomó algún medicamento en los últimos 7 días? Sí No

 ¿Ha tomado antibiótico en los últimos 7 días? Sí No

 ¿Padece alguna enfermedad grave? Sí No

 ¿Ha sido sometido a algún tipo de intervención quirúrgica seria? Sí No

 ¿Ha tenido algún accidente importante? Sí No

 ¿Ha sido hospitalizado? Sí No

 ¿Es alérgico a algún medicamento en particular? Sí No

 ¿Es alérgico a algún alimento? Sí No

Otra alergia: (especifique) _____

ANTECEDENTES ODONTOLÓGICOS

Fecha de su última consulta _____

¿Alguna vez ha experimentado una reacción alérgica a algún tipo de tratamiento dental?

¿Recibió aplicación tópica de flúor en los últimos 7 días?

¿Utilizó algún enjuague bucal en los últimos 7 días?

