UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

E.A.P. DE ODONTOLOGÍA

"ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE CUATRO SOLUCIONES DEL EXTRACTO DE PROPOLEO EN BACTERIAS ANAEROBIAS FRECUENTES EN NECROSIS PULPAR CON REACCION PERIAPICAL"

TESIS

para obtener el Título de

Cirujano Dentista

AUTOR

Miguel Angel Rodriguez Chavez

Lima – Perú

2007

A Dios por estar conmigo cada día de mi vida
Y ser mi maestro ante cualquier circunstancia.
A mi madre, padre y hermano por su cariño,
Apoyo incondicional y ser mi principal
Razón de vivir.

AGRADECIMIENTOS

- A mi asesora, la Mg. Doris Elizabeth Salcedo Moncada docente del Dpto. de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por sus conocimientos, apoyo, y gran colaboración. Sin ella no hubiera podido realizar este trabajo.

- A la Mg. Hilda Moromi Nakata docente del Dpto. de Microbiología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su apoyo para realizar los procedimientos y poder realizar la investigación en el laboratorio de Microbiologia.

- A Biol. Elva Martinez Cadillo docente del Dpto. de Microbiología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su valiosa colaboración y paciencia durante la siembra de bacterias y recolección de datos.

- Al Mg Julio Cesar Bracho Perez docente de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria de La Molina, por su gran ayuda en la preparación y obtención del extracto de propoleo.

- Al C.D. Jhonny Burga Sanchez docente del Departamento de Farmacología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su amabilidad y cooperación en la obtención de las soluciones.

- Al C.D. Victor Manuel Chumpitaz Cerrate docente del Departamento de Farmacología de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por el apoyo y consejos brindados para mejor desarrollo de la investigación.

- A la C.D. Teresa Evaristo Chiyong docente del Departamento de Biosocial de la Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos por su orientación en el análisis de los resultados.

- A la Sra Maximina Aguilar Aquino y la Srta Violeta Chavesta Velásquez que laboran en el laboratorio de Microbiología por su apoyo brindado para la siembra de bacterias y facilitaban los materiales para poder ejecutar nuestra investigación.

INDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCION……..……..…1

II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes……..…..…4

2.2 Bases teóricas…….10

Patología pulpar……..8

Medicación Intraconductos……..21

Propoleo……..26

2.3 Definición de términos……..38

2.4 Planteamiento del problema…….……40

2.4.1 Área problema……..……..…40

2.4.2 Delimitación del problema……...42

2.4.3 Formulación del problema…….……..43

2.5 Justificación…….……..43

2.6 Objetivos de la investigación……44

2.7 Hipótesis…….45

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Tipo de estudio…….46

3.2 Población y muestra……..…..……..……..46

3.3. Operacionalización de variables…….48

3.4 Materiales y método…….49

3.4.1. Procedimientos y técnicas…….…..…49

3.4.2. Recolección de datos……...52

IV. RESULTADOS……53

V. DISCUSION……69

VI. CONCLUSIONES……..….73

VII. RECOMENDACIONES……..……75

RESUMEN…….…..76

ABSTRACT…….77

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA……...78

ANEXOS 1

Lista de cuadros y gráficos ……..….90

ANEXO 2

Instrumento de recolección de datos……..…….92

FOTOGRAFIAS……..….93

RESUMEN

La necrosis pulpar con reacción periapical es una enfermedad polimicrobiana, cuyos agentes etiológicos mas importantes son las bacterianas anaerobias entre ellas los géneros: Porphyromona, Prevotella, Peptostreptococcus(anaerobias estrictas) y Actinomyces (anaerobias facultativa). Por otra parte el uso de medicación intraconductos se esta centrando al uso de un producto como el paramonoclorofenol cuyos efectos antibacterianos no son siempre exitosos, se ha comprobado su efecto citotoxico a nivel periapical. Hoy en día, tanto en medicina general como odontológica, se está investigando nuevas alternativas de tratamientos antimicrobianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que estos producen en algunos pacientes. El propoleo es un producto natural fabricado por la abeja Apis mellífera con variadas propiedades medicinales, entre ellas la antimicrobiana. En el siguiente estudio se determinó la actividad antibacteriana del cuatro soluciones de extracto de propóleo (50ug, 100ug, 200ug y 500ug) frente a cepas ATCCR de Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus, en comparación con la actividad antibacteriana del paramonoclorofenol alcanforado.

Se utilizó el medio de agar shadler en placas petri y el método por discos de papel según la tecnica de Kirby Bauer, en condiciones de anaerobiosis, por 24h y+ 48h de incubacion a 37º C. En la investigación se obtuvo que la solución de extracto de propoleo a 500ug tiene actividad antibacteriana similar a la del paramonoclorofenol alcanforado.

ABSTRACT

The necrosis to pulpar with periapical reaction is a polimicrobian disease, whose more important etiológics agents are the anaerobic bacterial among them the sorts: Porphyromona, Prevotella, Peptostreptococcus (anaerobic strict) and Actinomyces (anaerobic facultative). On the other hand the use of intraconducts medication is being centered to the use of a product as paramonoclorofenol whose antibacterial effects are not always successful because its cytotoxic effect has been verified at periapical level. Nowadays, as much in general medicine as dentistry, is being investigated new alternatives of antimicrobial treatments, given the continuous increase of the bacterial resistance to conventional antibiotics and by the adverse reactions that these produce in some patients. The propenny royal is a natural product made by the Apis mellífera bee with varied medicinal properties, among them the antimicrobial one. In the following study the antibacterial activity of the four solutions of extract of propenny royal (50ug, 100ug, 200ug and 500ug was determined) in front of stocks ATCCR of Porphyromona gingivalis, melanogenica Prevotella, Peptostreptococcus anarobius and Actinomyces odontolyticus, in comparison with the antibacterial activity of paramonoclorofenol alcanforado.

It was used means to agar to shadler in plate's petri and the method by paper discs according to the technique of Kirby Bauer, in conditions of anaerobiosis, for 24h and 48h of incubation to 37º C. In the investigation it was obtained that the solution of extract of propenny royal to 500ug has an antibacterial activity similar to the one of paramonoclorofenol alcanforado.

I. INTRODUCCION

En la actualidad, gran parte de los tratamientos que se realizan en la clínica son debidos a patologías que afectan a la pulpa y al periápice. La pulpa es un tejido ricamente vascularizado e inervado, delimitado por la dentina, con una circulación sanguínea terminal y con una zona de acceso circulatorio –periápice– de pequeño calibre. Todo ello, hace que la capacidad defensiva del tejido pulpar sea muy limitada ante las diversas agresiones que pueda sufrir.

El tejido pulpar también puede ser afectado por una infección retrógrada a partir de los canalículos secundarios, desde el ligamento periodontal o desde el ápice durante un proceso de periodontitis.

Conforme avanza la inflamación pulpar va aumentando la destrucción del tejido pulpar hasta que finalmente se necrosa. Las sustancias irritantes salen del conducto radicular hacia los tejidos perirradiculares iniciando lesiones diversas.

En los casos de necrosis pulpar y patología periapical la microflora bacteriana varia hacia el predominio de las bacterias anaerobias estrictas entre las cuales destacan los Géneros Porphyromona, Prevotella, Peptostreptococcus, Fusobacterium y anaerobias facultativas como el Lactobacillus, Actinomyces y Streptococcus.

En cuanto al tratamiento de esta patología pulpar, existen diversos antibióticos y productos que son mencionados en la literatura, pero en la aplicación clínica es

de poco uso debido a que su obtención es de alto costo o es no existe en el mercado peruano.

Uno de los productos de mayor utilización es el paramonoclorofenol alcanforado, debido a sus propiedades bactericidas, pero según estudios realizados en EEUU , también presenta cierto grado de toxicidad que pone en controversia su utilización.

En la actualidad se está investigando ampliamente el uso de nuevas alternativas a los antibióticos convencionales, las que incluyen sustancias químicas sintetizadas en laboratorios y productos que provienen de la naturaleza. Es así que etno-farmacólogos, botánicos, microbiólogos, y bioquímicos, están trabajando en la investigación de sustancias fitoquímicas para desarrollar tratamientos contra enfermedades infecciosas basados en productos naturales.

El uso y búsqueda de suplementos dietarios derivados de sustancias naturales ha sido acelerado en los últimos años. El 25 ‰ de estos son derivados de plantas, sin embargo, ninguno de ellos es usado actualmente como antimicrobiano.

Recientemente, se ha puesto especial atención a las indicaciones médicas de un producto natural, denominado propolis o propóleos, el que ha mostrado interesantes propiedades medicinales. Propoleo fue usado por la medicina antigua durante cientos de años. Es un compuesto natural elaborado por abejas productoras de miel (Apis mellifera) a partir de la resina y exudados de varias plantas. Las abejas recolectan el exudado vegetal y forman pequeños grumos con

sus mandíbulas, mezclando dicho exudado con cera y productos de las glándulas salivales de ellas mismas. El material resultante es usado para fortificar el panal, proveyendo protección frente a microorganismos, y como una sustancia para embalsamar el cuerpo de algún invasor, para que éste no se descomponga. Además, el propoleo presenta otras numerosas propiedades biológicas, entre las que se destaca su actividad antimicrobiana.

En el presente estudio se investigó la actividad antibacteriana un tipo de extracto de propoleo peruano comparándolo al paramonoclorofenol alcanforado (mayor uso en nuestro país) frente al crecimiento in vitro de cepas bacterianas de Porphyromonas gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus, bacterias anaerobias asociadas a necrosis pulpar y lesiones periapicales. En condiciones de anaerobiosis estricta.

II. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES

Shub et al (1978) preparó extractos de muestras de propolis recolectados en 18 regiones de la URSS. Estos extractos estaban diluidos en agar, en placas petri. Los placas fueron entonces inoculados con la bacteria Bacillus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Pseudomonas aeraginosa, y la Candida albicans, e incubados en 37 oC o 20-25 oC por 48h. Propolis en 125-500 ug/ml inhibió el crecimiento de S. auneus y B.Cereus, pero a las otras 2 bacterias las inhibio a concentraciones superiores de 1000 ug/ml. [1]

Kedzia, A (1986) determinó las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de extracto del etanol de propolis para 112 cepas de bacterias anaerobias. EEP demostró la efectividad máxima en contra de las cepas de Bacteroides y peptostreptococcus; De 37 cepas examinadas, 18 estaban inhibidos en 0.01-0.50 mg/ml . EEP fue ligeramente menos efectivo en contra de las cepas grampositivas de Propionibacterium, Arachinia y Eubacterium (MIC 0.50-1.00 mg/ml). [2]

Brook et al (1996) confirmó que las infecciones del sistema endodóntico eran causadas principalmente por anaerobios estrictos. Para el desarrollo de este estudio se analizó el contenido de secreción purulenta de cinco abscesos periapicales en el maxilar superior. En todos los casos los autores encontraron

anaerobios de los géneros: Prevotella, Porphyromona, Fusobacterium y Peptostreptococcus.[3]

Dalby (2000) evaluó la sensibilidad antibiótica de las bacterias más prevalentes en abscesos dentoalveolares agudos en 30 muestras de secreción purulenta, las cuales fueron cultivadas en condiciones aerobias y anaerobias. Se identificaron 56 cepas bacterianas, de las cuales, el 62.5% correspondió a anaerobios estrictos siendo los microorganismos más prevalentes Streptococcus(35%), Peptostreptococcus(25%), Fusobacterium(12.5%) y Porphyromonas (9%) [4]

Arroyo (2000) evaluó 30 muestras intraorales de pacientes atendidos en el Centro Medico Naval con el diagnóstico de absceso dentoalveolar agudo, realizándose la identificación microbiológica mediante el sistema Microscan. De un total de 56 especies bacterianas, el 62.5% estuvo representada por bacterias anaerobias estrictas y el 35.7% por bacterias anaerobias facultativas. [5]

Lana et al (2001), analizó 31 conductos radiculares con diagnóstico de necrosis pulpar, antes y después de su manipulación o preparación biomecánica. Los géneros aislados que presentaron mayor frecuencia fueron: Prevotella, Fusobacterium, Lactobacillus, Streptococcus, Clostridium y Peptostreptococcus. El 82% de los conductos evaluados mostraron infección polimicrobiana. Las bacterias anaerobias estrictas fueron recuperadas en el 80% de los casos; las bacterias anaerobias facultativas en el 51% y las especies microaerófilas en un 18.5% de los casos. [6]

Velikova et al (2001), mediante difusión en agar, evaluaron la actividad antimicrobiana y la composición química de propóleos proveniente de Turquía frente a Staphylococcus aureus y Eschericchia coli, obteniendo resultados positivos para S. aureus; para E. coli obtuvieron una menor inhibición de crecimiento. [7]

Gebara et al, 2002, analizaron un grupo de bacterias aerobias y anaerobias, entre ellas algunas bacterias periodontopatógenas como Actinobacillus actinomycetemcomitans, Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis y revotella intermedia, y además, levaduras como Cándida albicans. Para Actinobacillus actinomycetemcomitans ellos obtuvieron una CIM(concentración minima inhibitoria) de 1µg/ml; para Fusobacterium nucleatum, Porphyromonas gingivalis y Prevotella intermedia, obtuvieron valores de CIM(concentración minima inhibitoria) de 0,25µg/ml, y de 12µg/ml para Cándida albicans. [8]

Peters LB (2002) analizó 58 dientes con reabsorciones apicales, demostrando que todos los conductos radiculares estaban infectados y que las especies anaerobias estrictas representaban el 87% de la microbiota cultivable. Fueron prevalentes los géneros: Porphyromona gingivalis, Prevotella intermedia, Prevotella oralis, bifidobacterium y veillonella. [9]

Siquiera (2002) examinó 24 muestras de conductos radiculares de pulpas necróticas con lesión periapical y de pus de abscesos endodónticos, utilizando para este estudio la técnica de PCR. Las especies bacterianas mas

frecuentemente aisladas fueron: Streptococcus anginosus, Fusobacterium nucleatum, Bacteroides forsythus y Actinomyces israelí. [10]

Khemaleelakul (2002), analizó la composición de la flora microbiana en infecciones agudas en endodoncia y en abscesos/celulitis. Se aislaron un total de 127 especies diferentes de microorganismos, 80 de las cuales fueron anaerobios estrictos y microerófilos, mientras que 47 muestras fueron de microorganismos aerobios. Algunos de los géneros aislados fueron: Bacteroides, Eubacterium, Fusobacterium; Prevotella, Porphyromona, Actinomyces y Streptrococcus. [11]

Santos et al, 2002, Evaluaron in vitro la susceptibilidad de Prevotella Intermedia y Porphyromonas gingivalis frente a seis antimicrobianos prescritos en odontología en el Brasil, y el propoleo (pegamento de la abeja). Los agentes antimicrobianos probados eran tetraciclina, penicilina, clindamicina, eritromicina, metronidazol, meropenem y seis extractos etanólicos de los propolis (EEPs) del Brasil. Todas las cepas eran susceptibles a la penicilina, al eritromicina, al meropenem, al metronidazol y al 95% de ellos (n=19) a la tetraciclina. Treinta y seis por ciento (n=7) de los del P. intermedia probados eran resistentes al clindamicina. En cuanto a actividad de los propolis, todas las especies eran susceptibles y los valores inhibitorios mínimos de la concentración se extendieron a partir del 64 a 256 ug/ml. Cuando la concentración del propoleo era de 256 ug/ml, la muerte fue observada dentro de 3 h de incubación para los Porphyromonas gingivalis y dentro de 6 h para el Prevotella intermedia [12]

Pinheiro et al (2003), estudió la microflora bacteriana asociada a fracasos en endodoncia en 30 conductos radiculares. Se aislaron un total de 55 especies bacterianas fueron aisladas pertenecientes a 29 géneros diferentes, de las cuales, el 58% estuvo representada por microorganismos anaerobios facultativos y el 42% por anaerobios estrictos, predominando las especies grampositivas (80%). Enterococcus faecalis fue la especie aislada con más frecuencia, seguido por Peptostreptococcus y Actinomyces. [13]

Gomes et al (2004) analizó 60 conductos radiculares, 41 conductos que presentaban necrosis pulpar y 19 que presentaban infección secundaria. Según este estudio, el 70% de la microflora bacteriana eran anaerobios estrictos y microaerófilos, siendo los mas frecuentes aislados: Peptostreptococcus(35%) , fusobacterium(35%), Prevotella(23.4%) y Porphyromona(11.7%) [14]

Fajuri et al (2004), estudió el efecto del propolis sobre diferentes microorganismo patógenos orales, entre los cuales incluyó Streptococcus mutans, Porphyromonas gingivalis, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus y Cándida albicans. Sus resultados mostraron inhibición de crecimiento de todos ellos, excepto de Porphyromonas gingivalis, fueron susceptibles al propóleos.[15]

Muñante (2005) en su estudio analizó las muestras provenientes de dientes unirradiculares con diagnóstico de necrosis pulpar séptica asintomatica abierta. Se aislaron un total de 29 cepas bacterianas, lográndose 11 géneros bacterianos, de los cuales 8 fueron anaerobios estrictos y 3 anaerobios facultativos. Los

géneros más frecuentemente aislados fueron Actinomyces, Fusobacterium, Prevotella, Bifidobacterium, veillonella y Lactobacillus [16]

Alfredo Mauricio Batista de Paula (2006) Mediante su estudio en difusión y dilución por agar determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias de la Prevotella intermedia (20-50 ug/ml), Porphyromona gingivalis (30-50 ug/ml), Fusobacterium nucleatum y Actinomyces. actinomicetecomitans (30-60 ug/ml) y para todas ellas la Concentración Mínima Bactericida fue de 200-400 ug/ml formando halos de inhibición de 14 a 17 mm de diámetro [17]

Koru O, Toksoy F y col (2007) realizaron un estudio: la actividad antimicrobiana de cinco muestras de los propolis, recogida a partir de cuatro diversas regiones en Turquía y del Brasil, contra nueve cepas anaerobias fue evaluada. Los extractos del etanol de los propolis (EEP) fueron preparados muestras y de los propolis determinaron concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) y las concentraciones bactericidas mínimas (MBC) de EEP en el crecimiento de los microorganismos de la prueba usando método de la dilusión del agar. Todas las cepas eran susceptibles y MIC los valores se extendieron a partir del 4 a 512mug/ml para la actividad de los propolis. Propolis de Kazan-Ankara demostró la mayoría de los valores eficaces MIC a los microorganismos estudiados. Los valores de MBC de las muestras de Kazan-Ankara EEP fueron extendidos a partir del 8 a 512mug/ml. La muerte fue observada dentro de 4h de la incubación para el anaerobius de Peptostreptococcus y los micros y lactobacillus acidophilus y naeslundii de los actinomicetos, mientras que 8h para los oralis de Prevotella y el melaninogenica de Prevotella y los gingivalis de Porphyromonas, 12h para el nucleatum de

Fusobacterium, 16h para el parvula de Veillonella. Fue demostrado que las muestras de los propolis eran más eficaces contra las bacterias anaerobias grampositivas que gramnegativas. [18]

2.2 BASES TEORICAS

PATOLOGIA PULPAR

La patologia pulpar es una reacción a las bacterias y los productos bacterianos. Esto puede ser una respuesta directa a la caries, la microfiltración de bacterias en torno a obturaciones y coronas, o la contaminación bacteriana después de traumatismo, sea físico o iatrogeno. La pulpa responde a estos estímulos mediante el proceso inflamatorio.

La reacción pulpar a la caries es progresiva. Al aumentar la profundidad de esta, se incrementa el grado de lesión. Sin embargo, la pulpa puede soportar una lesión cariosa muy profunda, pero no penetrante. [19]

PULPITIS

Factores irritantes (productos derivados de bacterias, elementos desintegrados de dentinas cariosas, o sustancias químicas de los elementos) penetran a través de los túbulos para establecer contacto y destruir los odontoblastos y las células subyacentes. El resultado final, sea inducido por irritación directa o por el sistema inmunitario, es la liberación de mediadores químicos que inician la inflamación. El resultado del proceso inflamatorio es un infiltrado de leucocitos en torno a vasos dilatados.[19]

Pulpitis reversible

Es un estado inflamatorio que se suscribe a la base de los túbulos afectados que se resuelve o disminuye al eliminar el factor irritante. No existe una penetración franca de bacterias en la pulpa.[19, 20]

Pulpitis irreversible

La pulpa se ha dañado más allá de cualquier reparación posible, y aun cuando se elimine el factor irritante, no cicatrizará. La pulpa degenerará poco a poco y ocasionará necrosis y destrucción reactiva.

Una exposición cariosa es cuando la dentina infectada y alterada establece contacto con los tejidos blandos pulpares. Esta penetración de la caries y productos de degradación, productos derivados de la saliva y sustancias químicas de alimentos ingeridos tengan acceso directo a la pulpa. Esta infección conduce al desarrollo de microabscesos. [19,20]

NECROSIS PULPAR

Conforme avanza la inflamación, el tejido sigue desintegrándose en el centro, para formar una región progresiva de necrosis por licuefacción. La falta de circulación colateral y la rigidez de las paredes de la dentina, hay un drenaje insuficiente de líquidos inflamatorios, esto ocasiona una alta presión en los tejidos, que da lugar a una destrucción progresiva e inadvertida, hasta que la pulpa se necrosa.[19, 20]

La región de necrosis contiene irritantes provenientes de la destrucción de los tejidos y los microorganismos, tanto anaerobios como aerobios.

Las bacterias penetran hasta los límites de la necrosis, pero no se observan en el tejido inflamado adyacente. Donde la necrosis por licuefacción hace contacto con la dentina, se pierde la predentina, tal vez por acción de la colagenasa. Puesto que esto permite la penetración de bacterias hacia los túbulos dentinarios.[20, 21]

Una pulpa necrótica en contacto directo con la microbiota bucal (conducto radicular expuesto) puede ser infectada por varias especies bacterianas. Varias bacterias anaerobias parecen favorecerse, especialmente cuando el aporte de líquidos tisulares llega a través del foramen apical o de los conductos accesorios.

Por tanto, los anaerobios van en aumento, incluso aunque muchos de ellos sean mucho más exigentes que los anaerobios facultativos.[20]

Los microorganismos llegan a la cámara pulpar por diferentes vias: por fractura del tejido dentario, como resultado de la evolución natural de la caries dental y por procedimientos odontológicos. Otras fuentes de infección son los túbulos dentinarios expuestos en la superficie de la raiz debido a fisuras en el cemento, caries radicular y/o enfermedad periodontal.[20]

El grupo Prevotella - Porfhyromona esta representado por varias especies y son los más frecuentes.[22]

En la siguiente tabla se muestra los microorganismos más comunes de la pulpa necrótica y procesos periapicales: [22]

Bacterias anaerobias	GENERO	ESPECIES COMUNES
ESTRICTAS	Porphyromonas	P.gingivalis, P. endodontalis
Bacilos gramnegativos	Prevotella	P.oralis, P. oris, P. buccae
		P. intermedia, P. melanigenica
	Mitsuokella	
	Fusobacterium	F.nucleatum, F. necrophorum
	Selenomas	S.. sputigena
	Treponema	
Bacilos grampositivos	Eubacterium	E. alactolyticum, E. lentum
Cocos grampositivos	Peptoestreptococcus	P. anarobius, P.micros, P.prevotii, P.asaccharolyticus, P. magnus
Cocos gramnegativos	Veillonella	V. parvula
FACULTATIVAS		
Cocos grampositivos	Streptococcus	S. mitis, S. anginosus, S.oralis, S.intermedius
Bacilos grampositivos	Enterococccus	E. faecalis, E. faecium
	Campylobacter	
	Actinomyces	A, israelí, A. naeslundi, A. odontolyticus

Microorganismos predominantes aislados de los conductos radiculares de 65 dientes con lesiones periapicales [20]:

Especies bacterianas	**Nº de cepas aisladas**
Especies de Eubacterium	59
Especies de Peptostreptococcus	54
Especies de Fusobacterium	50
Especies de Porphyromonas	32
Especies de Prevotella (pigmentadas)	30
Especies de Streptococcus	28
Especies de Lactobacillus	24
Especies de Wolinella	18
Especies de Prevotella	15
Especies de Actinomyces	14
Especies de propinobacterium	7
Capnocytophaga ochracea	7
Veilonella parvula	6
Selenomonas sputigena	6
Otras especies	3

LESIONES PERIRRADICULARES

La salida de las sustancias irritantes de los conductos radiculares infectados hacia los tejidos perirradiculares inicia las lesiones perirradiculares y es causa de su persistencia. Los principales factores irritantes de estos tejidos se dividen en biológicos (diversos microorganismos y virus), y no biológicos (mecánicos, térmicos o químicos). Las enfermedades perirradiculares de origen pulpar se clasifican en: [19,20]

A. Periodontitis apical aguda (sintomática)

Es una inflamación circunscrita del ligamento periodontal en la región apical. Las principales causas son irritantes que se difunden desde una pulpa inflamada o necrótica., la salida de irritantes como bacterias, toxinas bacterianas, medicamentos desinfectantes, residuos empujados hacia los tejidos periapicales o irritación física de los tejidos periodontales puede ocasionar periodontitis apical sintomática. [19,21]

La sensibilidad a la percusión es la principal característica clínica, el dolor varía desde la hipersensibilidad leve hasta el dolor intenso. La liberación de los mediadores de la inflamación ocasiona degradación del ligamento periodontal y resorción del hueso alveolar.[19]

B. Periodontitis apical crónica (asintomática)

Puede ir precedida de periodontitis apical sintomática o absceso apical. Sin embargo, la lesión a menudo s e desarrolla y crece sin signos y síntomas subjetivos. El tratamiento inadecuado de conductos radiculares también origina el

desarrollo de estas lesiones. En general, una pulpa necrótica gradualmente libera agentes nocivos de escasa patogenicidad o en concentraciones bajas que dan origen al desarrollo de una periodontitis apical asintomática. Por lo general se acompaña de una resorción ósea perirradicular que es visible en las radiografías.[19]

El paciente por lo general no refiere dolor importante, y las pruebas revelan dolor mínimo o nulo a la percusión. No obstante, si la periodontitis apical asintomática perfora la lámina cortical del hueso, la palpación de los tejidos superpuestos ocasionara malestar. El diente asociado tiene una pulpa necrótica y por tanto no responderá a estímulos eléctricos o térmicos.[20,21]

A la periodontitis apical crónica se le asocia a:

- **Granuloma perirradicular.** Desde el punto de vista histológico consta de predominantemente de tejido de inflamatorio de granulación con capilares pequeños, fibroblastos. Múltiples fibras de tejido conjuntivo. Este tejido reemplaza l ligamento periodontal. [19]

- **Quiste perirradicular:** histológicamente es una cavidad central, revestida de epitelio escamoso estratificado. La luz del quiste contiene un liquido pálido eosinófilo y en ocasiones algunos residuos celulares.[19]

C. ABSCESO APICAL

Es una concentración circunscrita de pus en una cavidad formada por la desintegración de los tejidos. Según el grado de formación y excreción de exudado, la intensidad del dolor y la presencia o ausencia de signos y síntomas generales, los abscesos pueden dividirse en: [19,20]

Absceso apical sintomático

Es un proceso inflamatorio en los tejidos perirradiculares de los dientes, que se acompaña de la formación de exudado dentro de la lesión. Una causa frecuente es una afluencia rápida de microorganismos, o sus productos, desde el sistema de conductos radiculares.

El paciente puede o no mostrar tumefacción que puede ser localizada o difusa. Al examen clínico el diente revela diversos grados de sensibilidad a la percusión y a la palpación. No existe reacción al frió, el calor o los estímulos eléctricos, ya que la pulpa del diente afectado esta necrosada.[19, 20]

La diseminación de la respuesta inflamatoria hacia el hueso esponjoso ocasiona resorción ósea apical. Debido a la presión causada por la acumulación de exudado dentro de los tejidos limitantes, el dolor es intenso. Con mayor frecuencia la tumefacción permanece localizada, aunque puede tornarse difusa y diseminarse de forma amplia (celulitis). [21]

El lugar del área de la tumefacción es determinado por la relación del ápice del diente afectado con las inserciones musculares. El proceso de supuración busca

líneas de menor resistencia, y con el tiempo perfora la placa cortical. Cuando llega a los tejidos blandos, la presión sobre el periostio se libera, y por lo general se reducen los síntomas.[19, 20]

Absceso apical asintomático

Esta relacionado con la salida gradual de irritantes del sistema de conductos radiculares hacia los tejidos perirradiculares, y la formación de un exudado. Se asocia con un trayecto fistuloso que drena en forma continua o intermitente. Esto se manifiesta como una estoma sobre la mucosa bucal o, en ocasiones, sobre la piel de la cara. El exudado también puede drenar a través del surco gingival del diente afectado, imitando una lesión periodontal con “bolsa”. [19, 21]

Si se obstruye el drenaje de la fístula, se producirá diversos grados de dolor. Al examen clínico se presentara sensibilidad a la percusión y a la palpación, dependiendo si la fístula esta abierta y drenando o cerrada.[19, 21]

Las pruebas de vitalidad son negativas, debido a que las pulpas están necrosadas. Al examen radiográfico revelará perdida ósea a nivel del ápice del diente afectado. Estos trayectos fistulosos, tengan o no revestimiento, se resuelven tras el tratamiento del conducto radicular, con el que se elimina la causa.[19, 20]

MEDICACION INTRACONDUCTOS

La medicación intraconductos se caracteriza por la colocación de un fármaco o solución en el interior de la cavidad pulpar entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico.[21]

La elección de una medicación intraconducto entre sesiones requiere de las mismas consideraciones que la aplicación de cualquier fármaco en otra región del organismo humano. Por lo tanto es necesario considerar: [21]

a) **Cantidad:** se debe precisar la cantidad y concentración del fármaco, para ejercer el efecto deseado sin lesionar los tejidos circundantes.

b) **Localización:** se debe tener en cuenta el mecanismo de acción de la sustancia para determinar la forma apropiada de su colocación.

c) **Tiempo de aplicación:** es preciso conocer el tiempo que la sustancia permanece activa. Cada uno tiene un tiempo de vida útil, después del cual su efecto se reduce o desaparece. Algunos medicamentos pierden sus propiedades en presencia de material orgánico como sangre, exudado o pus.

Chon y PittFord en 1996, han enumerado algunas posibles ventajas de la medicación temporal en el tratamiento de dientes infectados: [20]

1. Eliminación de las bacterias que pueden persistir en los conductos después de su preparación
2. Neutralización de los residuos tóxicos y antigénicos remanentes.
3. Reducción de la inflamación de los tejidos periapicales
4. Disminución de los exudados persistentes en la zona apical
5. Constitución de una barrera mecánica ante la posible filtración de la obturación temporal.

La medicación intraconductos con materiales poco irritantes puede estar indicada en el tratamiento de dientes infectados por algunos motivos: [20, 23]

A) La anatomía de los conductos radiculares es bastante compleja, existiendo zonas inaccesibles a la instrumentación y, posiblemente, a la irrigación.

B) En las periodontitis se producen reabsorciones del ápice, formándose cráteres en los que anidan bacterias que pueden permanecer inaccesibles al tratamiento. Lomca y cols en 1996 observaron al microscopio electrónico de barrido (MEB) la presencia de una placa bacteriana recubriendo el ápice en dientes con periodontitis apical.

C) Las bacterias más prevalentes, no siempre son las mismas. En los dientes infectados sin tratar, las bacterias mas frecuentes son las anaerobias estrictas. En cambio en dientes con tratamiento endodontico que ha fracasado, según Molander y cols en 1998, había mayor prevalencia de anaerobias facultativas.

D) La falta de medicación intraconducto disminuye el porcentaje de éxito en los dientes con conductos infectados. Sjogren y cols en 1997 instrumentaron e irrigaron los conductos radiculares de dientes con periodontitis apical; antes de obturar tomaron muestras de los mismos, pudiendo cultivar bacterias en aproximadamente la mitad de ellos.

   Y solo un 68% de los cultivos positivos tuvieron éxito clínico. Como el clínico no tiene la certeza de haber conseguido unos conductos libres de bacterias, en los casos de periodontitis creemos aconsejable una medicación intraconducto.

E) Aunque durante mucho tiempo se utilizaron antisépticos demasiado irritantes en el interior de los conductos. El hidróxido de calcio es el más tolerante con los tejidos vitales.

SUSTANCIAS UTILIZADAS COMO MEDICACION INTRACONDUCTOS[20, 24]

Se han utilizado gran diversidad de antisépticos y sustancias con acción antimicrobiana en el interior de conductos radiculares. Los antisépticos son medicamentos inespecíficos que actúan sobre todas las especies bacterianas por desnaturalización de las proteínas celulares. Todos ellos poseen, al mismo tiempo, una acción toxica inespecífica sobre las células vitales y una posible acción inmunógena.

COMPUESTOS FENÓLICOS

Son las más utilizadas en la medicación intraconductos. Poseen una acción antibacteriana variable en función de su composición química, ya que contiene fenol y algunos anillos de benceno, y otras sustancias. Son antisépticos potentes en contacto directo con las bacterias. Entre ellos tenemos a los siguientes[20]

El eugenol: presenta una actividad antiséptica ligera y según se cree sedativa. Además, posee una acción toxica celular, ocasiona necrosis histica y puede retardar la reparación apical por inhibir la adhesión de los macrófagos.

El paramonoclorofenol alcanforado: es el antiséptico intraconducto mas utilizado. Su acción antibacteriana deriva de los dos radicales libre que los componen, el fenol y el cloro. El alcanfor disminuye su efecto irritante histico. Presenta un notable efecto antibacteriano, con una toxicidad sobre los tejidos vitales, puede retardar la reparación apical. Su efecto desaparece en las primeras 24 horas cuando se coloca impregnado con un algodón en la cámara pulpar. Cuando se deposita en el interior de los conductos radiculares, su efecto no se limita a ellos sino que, a través del ápice, se ha demostrado su distribución sistémica, detectándose en sangre y orina, aunque no se conoce bien la repercusión de sus hallazgos .Su baja tensión superficial puede facilitar su difusión a través de los túbulos dentinarios y de los conductos secundarios.[20]

Su acción es básicamente por contacto y la neutralización de su efecto en presencia de materia orgánica [21]

ALDEHIDOS

El formaldehído, el paraformaldehido o trioximetileno, el formocresol y el glutaraldehido son potentes antibacterianos, pero pueden causar una necrosis de los tejidos periapicales sin ocasionar ningún alivio del dolor. Se utiliza en dientes temporales con pulpa expuesta.[21]

COMPUESTOS HALOGENADOS.

Los más usados son los que liberan cloro, un potente agente antibacteriano. El compuesto más universalmente utilizado en el interior de los conductos es el hipoclorito sódico, en soluciones del 1 al 5% como irrigante. La solución a usar se indica según la patología presente.[20, 21]

La solución yodurada de yodo-potasio posee un potente efecto antibacteriano, pudiéndose utilizar en casos refractarios al tratamiento. Sin embargo, es muy irritante y se debe utilizar con precaución en los dientes anteriores por el peligro de causar tinciones.

ANTIBIOTICOS

Desde los años 50" se han propuesto numerosas combinaciones de antibióticos para ser usadas como medicación temporal en los conductos radiculares: penicilina, bacitracina, estreptomicina, nistatina. Más recientemente se han propuesto algunas combinaciones con ciprofloxacino, metronidazol y amoxicilina, eficaces en estudios *in vitro.* A pesar de su eficacia los antibióticos pueden tener efectos adversos: posibilidad de provocar reacciones alérgicas en pacientes

sensibilizados, facilitar la aparición de cepas bacterianas resistentes, y de permitir el crecimiento de hongos.[20]

Para conseguir un postoperatorio libre de dolor se ha combinado los antibióticos con corticoides, ya que es posible que puede causar el retardo en la reparación apical, por eso solo se usaría por un breve tiempo.[20]

HIDROXIDO DE CALCIO [21]

Es un polvo de color blanco, con un pH alrededor de 12,5 insoluble en alcohol y escasamente soluble en agua. Cuando se pone en contacto con los tejidos del organismo, se solubiliza en ellos de forma lenta. Sus principales efectos son su actividad antibacteriana y capacidad para favorecer la aposición de tejidos calcificados.Para usarlo como medicación temporaria entre sesiones, se mezcla con un vehiculo, preferentemente acuoso o hidrofilico (agua estéril, solución fisiológica, propilenglicol, polietilenglicol, entre otros)

Al llegar al interior de los túbulos dentinarios, los iones hidroxilos modifican el pH de la dentina, lo que provoca la destrucción de la membrana celular de las bacterias y de su estructuras proteicas.[20, 21]

En estudios recientes se demostró que el hidróxido de calcio actúa sobre las endotoxinas bacterianas; hidroliza la porción lipidica del liposacárido bacteriano (LPS), presente en la pared celular de las bacterianas anaerobias gramnegativas, y neutraliza su acción estimulante sobre el proceso de reabsorción del tejido óseo. [21]

ANTIBACTERIANOS NATURALES

Simultáneamente al desarrollo tecnológico de la industria farmacéutica, se ha desplegado un gran interés de parte de los investigadores por estudiar sustancias naturales que posean algunas propiedades farmacológicas con efecto microbiano[24, 25]

Se debe destacar que los fármacos a base de derivados de productos naturales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos siempre están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, de forma tal que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados[26]

En Estados Unidos se calcula que entre un cuarto y la mitad de todos los productos farmacéuticos que se venden, tienen un origen natural o han sido obtenidos a partir de sustancias naturales, pero una escasa o nula cantidad son usadas como antimicrobianos, desde la aparición de los antibióticos convencionales en la década de 1950.[26]

Fitoterapia, nombre que se aplica al uso medicinal de derivados de plantas, nunca ha dejado de tener vigencia. En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintos derivados de plantas

PROPOLEO

El propolis o propóleos es un compuesto resinoso y pegajoso, elaborado por la abeja Apis mellífera, a partir de exudados vegetales y mezclado con sustancias salivales. La palabra propolis deriva del griego pro, para o en defensa, y polis, la ciudad, es decir, “defensa de la ciudad (o la colmena)” [27].

El propolis es un producto de composición compleja. Las abejas Apis mellífera lo obtienen por adición de cera y secreciones salivales al material resinoso, gomoso o balsámico que recolectan de yemas, brotes y heridas de diversas plantas. En la colmena, las abejas utilizan al propóleos con diversos fines tales como: cerrar grietas, reducir al mínimo las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan introducido en la colmena evitando su descomposición, consolidar componentes estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones [28].

Es larga la historia de la domesticación de las abejas por parte del hombre, quien se ha esmerado en la explotación de los productos fabricados por el insecto [29].

Es así que el uso del propóleos por parte del hombre data del año 300 a. de C., época en que ya era utilizado en la elaboración de remedios en la medicina tradicional. Sin embargo, es sólo en los últimos 50 años que se ha realizado la gran mayoría de los estudios tendientes a determinar la composición química, propiedades farmacológicas y en general, el uso farmacológico comercial de los preparados a base de propóleos [27].

Dentro de los productos apícolas, el propóleos se destaca por sus variadas y disímiles propiedades biológicas, lo que ha permitido que en los últimos años se haya incrementado su utilización en fitomedicina y en veterinaria. Es por lo tanto, una materia prima valiosa para la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos [28].

De acuerdo a numerosos estudios, se ha determinado que los constituyentes principales del propolis son las ceras, resinas, bálsamos, aceites esenciales y polen (además de impurezas mecánicas). La proporción de cada componente es variable y, depende tanto de la época de recolección como del origen vegetal de la resina, así como también de la raza de las abejas que lo produce [28].

a) Composición química y origen botánico

Marcucci [30], señala que los compuestos en el propóleos sin procesamiento se originan de tres fuentes: exudado de plantas colectados por las abejas, productos metabólicos secretados por el insecto y, materiales introducidos durante la elaboración del producto.

El estándar de calidad vigente para propolis es la identificación botánica y las pruebas cromatográficas que corroboran la procedencia del propóleos [29]. Una técnica muy útil e informativa para determinar el origen botánico del propóleos, consiste en el análisis microscópico de los granos de polen y de fragmentos de hojas u otros restos dejados por las abejas durante la recolección del exudado de planta, los cuales son frecuentes contaminantes [30]. La estructura de la exina,

cubierta externa del polen, es característica de la especie de planta que le da origen y sirve para realizar un análisis taxonómico [31].

El propóleo es una sustancia compleja, constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia, se caracteriza por tener un 55% de resinas y bálsamos aromáticos, 30% de ceras, 10% de aceites esenciales y 5% granos de polen [32,33]

Algunos autores plantean la existencia de alrededor de 18 componentes[34] y se señala que entre estos los principales son compuestos del tipo flavonoide, tales como, las flavonas, flavones y las flavononas. [35]

Se han reportado alrededor de 38 flavonas, 12 derivados del ácido benzoico, 14 derivados del alcohol cinamílico y el ácido cinámico, 12 componentes entre alcoholes, cetonas y fenoles, 7 terpenos, 11 esteroides, 7 azúcares y 2 aminoácidos[36]. Una de las propiedades más importante del propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides[33]. Los extractos de propóleo han sido evaluados sobre bacterias grampositivas y gramnegativas, encontrándose una mayor efectividad sobre las primeras [37]

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

pueden ser fuertemente relacionadas a los flavonoides, el principal compuesto fenólico del propolis [38]

Los flavonoides son pigmentos vegetales, sintetizados a partir del aminoácido fenilalanina, que generalmente exhiben brillantes colores como el de los pétalos de las flores. La mayoría de las veces emiten fluorescencia cuando son excitados por la luz UV, y se localizan en las células de las plantas verdes. Los flavonoides son usados por los botánicos para clasificación taxonómica. Ellos regulan el crecimiento de las plantas e influencian otras células biológicas de diversas maneras. Los flavonoides inhiben o destruyen muchas especies bacterianas, inhiben importantes enzimas virales, tales como la transcriptasa reversa y otras diversas proteasas, y además, destruyen algunos importantes protozoos [39].

Poseen actividad antialérgica, antiinflamatoria, antioxidante, atrapadora de radicales libres, antimutagénica y moduladora de actividad enzimática. Además, se puede decir que aportan grandes beneficios para la salud al actuar como agentes quimiopreventivos en cáncer y prevención de ataques al corazón. Su toxicidad a células animales es baja. Muchos profesionales están incrementando el uso de flavonoides puros para tratar muchas importantes enfermedades, debido a su comprobada habilidad de inhibir enzimas específicas, simular algunas hormonas y neurotransmisores, y eliminar radicales libres[40].

Se ha demostrado químicamente que los exudados de los árboles de tipo Poplar (Populus alba), son el principal recurso de propolis de zonas con clima mediterráneo como la zona norte de Europa, Sudamérica, y oeste de Asia

(China). Menos comúnmente, en otras partes del mundo, especies como Bétula, Ulmus, Pinus, Quercus, Sálix, y Acacia son utilizadas como recurso para el propolis [41].

Se ha demostrado además, que la composición química del género Poplar (Populus) incluye principalmente muchos tipos de flavonoides, flavonas y fenoles [42,43].

En Uruguay por ejemplo, se identificaron 18 tipos de flavonoides, 4 ácidos aromáticos carboxilados y 11 ésteres de ácidos fenólicos. Dos de los flavonoides no estaban registrados en la literatura, pinobanksina y 2 metil-2-butenil ferulato. Los demás componentes fueron similares a los encontrados en Europa y China, por lo que se ha sugerido que el propóleos Uruguayo tiene el mismo origen vegetal que estas regiones .Por otro lado, en China se identificaron también nuevos componentes, ferúlico y cafeico y ésteres [44].

A diferencia de los anteriores, en países con clima tropical como Brasil los principales componentes del propóleos son, terpenoides y prenilados, los cuales derivan de ácidos cumarínicos. Esta diferencia ha sido explicada por el diferente origen vegetal de este propolis, el cual, pertenece principalmente al género Baccharis spp [44,45].

En Chile, en la región de ToroBayo, Valdivia, fueron aislados cinco flavonoides: galangina, crisina, pinocembrina, 3-metil galangina y 7 metil galangina.

Casi todos ellos son característicos del género Populus, razón por la cual se estima que, en la recolección de propóleos, las abejas usan en proporción importante el exudado de las yemas de este género [46]

b) Características físico-químicas

El propolis es un material fuertemente adhesivo [47] .Chaillou et al [28], al analizar las propiedades físicas de una muestra de propolis de Argentina, determinaron lo siguiente:

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

2.- Punto de fusión: los valores encontrados para las diferentes regiones en estudio fluctuaron entre los 64℃ y 89.5℃ , con un promedio de 70℃.

3.- Impurezas mecánicas, ceras y resinas: el valor medio de impurezas mecánicas analizadas fue de 24,063%, contenido de cera promedio, de 30,048% y el porcentaje de resinas, 44,770%.

4.- Índices de oxidación, compuestos fenólicos y flavonoides: el rango de valores del índice de oxidación osciló entre los 4 y 18 segundos, el promedio fue de 9,8 segundos.

c) Actividad biológica

Las propiedades farmacológicas del propolis son bien conocidas y están bien documentadas. La literatura actual señala propiedades antibacterianas [48-55], fungicidas[56-57], antivirales[58], analgésicas[59], anti-inflamatorias[51,60,61], antiulcerosascicatrizantes [50,62], inmunoestimulantes [61], anticancerígeno [63], antioxidantes[64] y anticariogénicas[65,66,67].

Ensayos microbiológicos realizados con muestras de propóleos de diferentes sitios de la zona central de Chile, han mostrado una actividad heterogénea, y no se ha mostrado un patrón estable de actividad en las diferentes regiones geográficas, o durante las diferentes épocas del año. Sin duda, esto relata que la actividad del propóleos no solo está relacionada con el metabolismo de las especies botánicas, sino que también con su fenología, término que corresponde al estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico como la brotación, la maduración de los frutos y otros, mostrando que las propiedades específicas de los compuestos son incrementadas cuando el propolis de diferentes plantas es procesado en una fase específica de su desarrollo anual.

Por lo tanto, esto se relaciona con las preferencias de las abejas para la elaboración del propolis en una estación específica del año. Apis mellífera puede

detectar, seguramente cuáles son las plantas que se encuentran en un adecuado estado de desarrollo y, de esta manera, determinar cuál especie usar.

Varios componentes encontrados en el propóleos en otras partes del mundo, con ciertas propiedades protectoras, son volátiles, por lo que podrían ser detectados por las abejas a través de sus antenas o su sistema olfativo[68, 69,70].

Las actividades biológicas de algunos de los más importantes componentes del propóleos son:

- **Pinocembrina:** actividad antibacteriana, fungicida, y utilidad como anestésico local [68]

- **Acacetina:** propiedades antiinflamatorias [69]. Además, recientemente se ha visto que es un poderoso inhibidor de enzimas presentes en el Citocromo P450 (pertenecientes a la familia de las enzimas denominadas CYP1), que estarían involucradas en el metabolismo de los hidrocarburos policíclicos aromáticos y hormonas. Por ello se especula que estas enzimas tendrían un rol importante en la aparición de algunos tipos de cáncer, más aún, que han sido detectadas en algunas muestras de tejidos cancerígenos[70].

- **Conferido**: promisorio agente anticarcinogénico al inducir directamente quinona reductasa y otras enzimas protectoras, sin promover la activación de otros carcinógenos [71].

- **Galangina:** es uno de los flavonoides que con mayor frecuencia se han encontrado en propóleos, presenta actividad antimutagénica, antioxidante, secuestrador de radicales libres y modulador de actividad de enzimas metabólicas, pero se le destaca principalmente por su capacidad antigenotóxica como un potente agente quimioprotector frente al cáncer. Además posee actividad antibacteriana [71]

Actividad biocida

En general, las propiedades antimicrobianas del propóleos han sido investigadas en los últimos años, sin embargo, es difícil comparar los resultados de diferentes estudios, debido tanto a las diferentes composiciones del propolis como a los diferentes métodos utilizados para su estudio.

En particular, la actividad biocida del propóleos estudiada frente a bacterias de interés en medicina, ha mostrado resultados alentadores in vitro e in vivo, ya que inhibió el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias, tanto Gram positivo como Gram negativo. Sin embargo, se ha señalado que el efecto del propolis en contra de bacterias Gram positivo y levaduras, es mayor que sobre bacterias Gram negativo [51, 53,55]

Se ha determinado [49], que propóleos cuyo origen botánico es género Populus, y que contienen principalmente fenoles, flavonas y flavonoides en importante proporción (mayoritariamente pinocembrina y galangina), poseen una mayor actividad antimicrobiana que aquellos de origen botánico mixto que contienen derivados de ácidos diperténicos, ácidos grasos hidroxilados o cinamil cinamato.

En Brasil se realizó un estudio para investigar la actividad antibacteriana de propolis sobre diferentes bacterias orales como Streptococcus mutans, Streeptococcus sanguis y Actinomyces naeslundi. En todas las especies estudiadas se obtuvo inhibición de crecimiento [51].

Estudios de susceptibilidad de bacterias cariogénicas frente a propolis, realizados tanto en Chile como en el extranjero, mostraron inhibición de crecimiento de Streptococcus mutans con valores variables de CIM[50, 52,72]

d) Mecanismo de acción

El mecanismo de acción antimicrobiano del propolis es complejo y no está completamente entendido. De acuerdo a Amoros et al [64] y Bonhevi et al [69], la actividad en contra de los microorganismos está más relacionada al efecto sinérgico de los flavonoides (y otros fenoles), que a la acción de cada uno de ellos por separado. Estos descubrimientos están de acuerdo con lo que estudió Takaisikikuni y Schilcher [70], quienes observaron que la acción antibacteriana utilizaba varios mecanismos, tales como la formación de complejos streptocócicos pseudomulticelulares, desorganización del citoplasma, de la membrana plasmática, y de la pared celular, bacteriolisis parcial, e inhibición de la síntesis de proteínas. Además se observó una inhibición de la división celular en presencia de propolis, y este hecho sugirió que el propóleos podría actuar inhibiendo la replicación del DNA a través de la RNA polimerasa e, indirectamente, afectando la división celular.

e) Uso del propoleo en Odontología

Existen estudios [71-73], que dan cuenta de las propiedades de inhibitorias del ácido cafeico y el fenil éster de ácido cafeico (derivados del propolis) sobre algunos componentes involucrados en respuestas inflamatorias periodontales, como las MMPs (matrix metalloproteinase), las que participan además, en procesos tumorales. Aunque no existen estudios que relacionen directamente la inhibición que ejercería el propolis sobre las MMPs que se liberan en el periodonto, sí existen estudios analizando las interacciones que se producen entre estos dos elementos (propóleos y MMPs) en otras patologías del organismo como algunos tipos de cáncer [74]. Tae-Wook Chung et[73] al determine que uno de los componentes del propolis, el ácido cafeico y su fenil éster de ácido cafeico (derivado del ácido cafeico), es capaz de inhibir tanto la expresión del gen de la MMP-9 como la actividad catalítica de su enzima.

En un trabajo realizado por Al-Shaher et al [75] para investigar agentes antimicrobianos alternativos para conductos endodónticos, comparó la tolerancia de propolis e hidróxido de calcio in vitro sobre fibroblastos del ligamento periodontal y de la pulpa dental, logrando toxicidades diez veces menores para propóleos, con un 75% mas de viabilidad celular, en comparación con hidróxido de calcio.

En Cuba se utilizó una pasta dental a base de propóleos, con la cual se realizaron ensayos en un grupo de niños, analizándose la variación en el índice de COPD. Se logró una disminución significativa en el índice de caries [75].

Rosalen et al [61], observaron que la aplicación de extracto de propolis en molares de ratas redujo la severidad de lesiones cariosas. Ikeno et al [62], demostró que al incluir un extracto etanólico de propóleos, proveniente de China, en agua, a una concentración de 1mg/ml, la incidencia de caries disminuyó de 62,2% a 56,2%.

En un estudio clínico que se realizó para investigar el efecto del propolis en la reducción de placa bacteriana, el cual se realizó durante 3 días, el índice de placa se redujo en un 44,7% aproximadamente después del tratamiento, comparado con el placebo. Además, el colutorio redujo la concentración de polisacáridos insolubles en la placa en un 61,7% comparado con el placebo [75]

Se ha determinado además, que el propóleo es capaz de inhibir in vitro la enzima glucosiltransferasa. Esta enzima es producida por el Streptococcus mutans y constituye un factor de virulencia asociado con caries dental. Glucosiltransferasa cataliza la formación de glucanos solubles e insolubles a partir de sacarosa, y contribuye significativamente a la formación de la matriz de polisacáridos de la placa dental [76].

f) Reacciones adversas

Las reacciones adversas a la aplicación local de propolis son escasas y se refieren generalmente a reacciones alérgicas de hipersensibilidad de tipo dermatitis de contacto [77]. Se han descrito hasta la fecha un total de 250 casos de alergias por dermatitis de contacto al propóleos. Los reportes generalmente se describen con dermatitis en las zonas palmares y dedos, correspondiente a la manipulación de partes de la colmena que contienen propolis, o bien, se han visto

reacciones alérgicas en la mucosa oral, mucositis orales agudas con ulceraciones, debido a la ingesta de grageas o gotas de propolis [78].

El principal agente sensibilizante descubierto en la composición de propolis corresponde a 3-metil-2-butenil cafeato y feniletil cafeato. Posiblemente existan otros alergenos no descubierto a la fecha [77].

2.3 DEFINICION DE TERMINOS

Antibacteriano: Relativo a una sustancia que destruye bacterias o inhibe su crecimiento o reproducción.

Antimicrobiano: Sustancia que impide el desarrollo de los microbios: bacterias hongos protozoos y virus.

Anaerobia: Organismo que se desarrollan en condiciones donde existe una mínima o nula cantidad de oxigeno

Bacteria: Microorganismos unicelulares sin núcleo diferenciado, que presentan variedades morfologicas: esfericos(cocos), alargados (bacilos), espirales(espiroquetas) o en forma de coma (vibrios). Generalmente poseen una pared celular.

Bactericida: Que destruye o lisa las bacterias.

Facultativo: Organismos que subsisten en condiciones aerobias (con oxigeno) o anaerobias (sin oxigeno)

Fármaco: Cualquier sustancia biológicamente activa, capaz de modificar el metabolismo de las celulas sobre las que hace efecto. Este concepto de fármaco incluye las drogas, neurotransmisores, hormonas, venenos etc.

Medicamento: Es un fármaco integrado en una forma farmacéutica y destinado a su utilización en las personas o en los animales, dotado de propiedades para prevenir, diagnosticar, tratar, aliviar o curar enfermedades o dolencias o para afectar a funciones corporales o al estado mental, todo ello por la vía de administración adecuada, y con la dosificación de fármaco prevista. Los medicamentos contienen los principios activos que se llaman fármacos.

Necrosis: Es la muerte patológica de un conjunto de células o de cualquier tejido del organismo, provocada por un agente nocivo que ha provocado una lesión tan grave que no se puede reparar o curar.

Extracto: Sustancia que se extrae de otra.

Prevalente: Sobresalir. Tener alguna superioridad.

Inhibición: Que disminuye el crecimiento o desarrollo.

2.4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.4.1 AREA PROBLEMA

El tejido pulpar reacciona ante diversos irritantes externos, principalmente bacterianos, desencadenando un proceso inflamatorio, como cualquier otro tejido conjuntivo del organismo.[19]

En función de la intensidad y duración de los irritantes, y de la resistencia del huésped, la patología pulpar puede variar desde una inflamación temporal o pulpitis reversible hasta una inflamación grave y progresiva o pulpitis irreversible, que evolucionara hacia la necrosis pulpar. Las toxinas bacterianas e incluso las bacterias llegan a la zona de los tejidos periapicales provocando diversas patologías como: periodontitis apical, abscesos,etc [20]

En la practica odontológica se presenta con frecuencia patologías pulpares, destacando entre ellas la necrosis pulpar, cuyo tratamiento endodóntico es más complejo, y el principal objetivo es la eliminación de bacterias que están produciendo dichas patologías . La microflora de la necrosis pulpar y patología periapical es de naturaleza mixta, con predominancia de las bacterias anaerobias estrictas. [20]

La medicación intraconductos es utilizada como control de la inflamación en casos de pulpas vitales contaminadas, y como auxiliar valioso en la desinfección de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles como las ramificaciones del conducto principal y la zona del periapice.[21]

En caso de necrosis pulpar con reacción periapical la medicación es utilizada con la finalidad de combatir el proceso infeccioso producto de la proliferación bacteriana. Luego de la instrumentación e irrigación de los conductos, aun persisten algunas bacterias, por lo cual se coloca una medicación intraconductos para eliminarlas y a la vez desaparecer la secreción purulenta e inflamación, antes de proceder a obturar para que exista un éxito en el tratamiento.

La selección de la medicación intraconducto va a depender de la situación clínica. Estos no son inocuos, y muchos de ellos pueden ocasionar también irritación o destrucción de los tejidos vivos periapicales.[20]

La importancia en la actualidad de la Medicina Natural se evidencia por el alto consumo de los productos recomendados por esta alternativa para el manejo de las enfermedades. En los Estados Unidos un estudio mostró un aumento significativo de los tratamientos médicos alternativos, pasando de un 33.8% en 1990 a un 42.1% en 1997. El aumento más dramático en ese mismo país se dio con el uso de las hierbas medicinales, cuya utilización pasó de 2.5% en 1990 a un 12.1% en 1997, un aumento de un 38%. Otro dato encontrado revela que dentro del 44% de los adultos que reportó el uso regular de medicamentos prescritos por el médico, se encontró que el 18.4% también utilizaba, al menos, un producto de la medicina herbaria.

En Inglaterra, un sondeo efectuado por una organización de 28.000 consumidores descubrió que 80 personas de cada 100 habían recurrido a alguna forma de medicina complementaria.

En nuestro país también la medicina natural con el uso de plantas medicinales esta aumentando cada vez, debido a que los medicamentos en su mayoría tienen efectos secundarios que en algunos casos son nocivos.

El uso de sustancias naturales también ha ingresado en el área de Odontología, como por ejemplo el propóleo son utilizados en algunas áreas como periodoncia, cariologia, prevención, y en algunos casos cirugía maxilofacial en diversos paises como: Cuba, Africa, Chile y China. Teniendo poca investigación en otras áreas.

2.4.2 DELIMITACION DEL PROBLEMA

Uno de los patologías pulpares más es la necrosis pulpar con reaccion periapical que se produce por un crecimiento abundante de bacterias **anaerobias estrictas** entre ellas: Bacilos Gramnegativos: Porphyromonas, Prevotella, Mitsuokella, Fusobacterium, Selenomonas, Treponema. Bacilos Grampositivos: Eubacterium. Cocos grampositivos: Peptoestreptococcus. Cocos gramnegativos: Veillonella. Y algunas bacterias **anaerobias facultativas**: cocos grampositivos: Actinomyces, Lactobacilos Streptoccoccus, Enterococcus, Campylobacter. [22]

En la práctica profesional se utiliza con más frecuencia como medicación intraconducto el paramonoclorofenol alcanforado. Pero el paramonoclorofenol el cual presenta un notable efecto antibacteriano puede causar una toxicidad sobre los tejidos vitales. Su aplicación puede retardar la reparación apical [21]. Cuando se deposita en el interior de los conductos radiculares, su efecto no se limita a ellos

sino que, a través del ápice, se ha demostrado su distribución sistémica, detectándose en sangre y orina.

Por tal razón se están empleando extractos naturales como el propóleo que han demostrado tener una gran actividad antimicrobiana utilizada en otras áreas médicas y sobre bacterias orales de otras especialidades como cirugía maxilofacial y periodoncia e incluso propiedades antiinflamatorias y reparación tisular.

2.4.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿A que concentración la solución del extracto de propoleo tiene actividad antibacteriana similar al paramonoclorofenol alcanforado sobre las bacterianas anaerobias más frecuentes en la necrosis pulpar con reacción periapical?

2.5 JUSTIFICACION

Procesos crónicos como abscesos y necrosis pulpares sin y con reacción periapical son frecuentes en la consulta profesional. Las bacterias anaerobias estrictas son las causantes de las patologías crónicas de la pulpa.

Según la literatura y estudios realizados anteriormente en los casos de necrosis pulpar existe un predominio de bacterias anaerobias estrictas entre ellas: la Phorphyromona, Prevotella, Peptostreptococos, Fusobacterium , Veillonella, y bacterias anaerobias facultativas como: Streptococos, Lactobacilos y Actinomyces.

La medicación intraconductos en procesos necróticos es fundamental para la eliminación de la carga bacteriana dentro del conducto y a nivel del periapice. Y estos a la vez no deben producir daño a los tejidos periapicales.

Existen soluciones naturales son utilizadas en otras áreas de la medicina como tratamiento, y en otras áreas odontológicas como: cirugía maxilofacial, periodoncia, etc. Y actualmente existen nuevos estudios sobre estudios el extracto propoleo que se están utilizando en muchos países como medicamento intraconducto. Estas soluciones, según los investigadores, poseen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y regenerativas.

2.6 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración del extracto de propoleo que tiene similar actividad antibacteriana que el paramonoclorofenol alcanforado sobre las bacterianas anaerobias más frecuentes en la necrosis pulpar con reacción periapical.

2.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo a 50ug /10ul sobre las bacterias anaerobias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical.

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo a 100ug/10ul sobre las bacterias anaerobias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical.

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo a 200ug/10ul sobre las bacterias anaerobias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical.

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo a 500ug/10ul sobre las bacterias anaerobias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical.

- Determinar la actividad antibacteriana de 10ul de paramonoclorofenol alcanforado sobre las bacterias anaerobias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical.

- Comparar las actividades antibacterianas de las soluciones del extracto de propoleo en comparación con el paramonoclorofenol alcanforado.

2.7 HIPOTESIS

Hipótesis de investigación

A mayor concentración de la solución del extracto de propoleo mayor similitud en actividad antibacteriana del paramonoclorofenol alcanforado.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio es experimental, in Vitro, longitudinal, y prospectivo.

Es experimental: porque el investigador manipula las condiciones de la investigación, y compara los resultados con otro grupo llamado control.

In Vitro: Porque el estudio se realizara en unos medios cultivos que servirán para el desarrollo de las bacterias, y se manejara todo en un laboratorio.

Longitudinal: las variables de estudio serán observadas a lo largo de un tiempo determinado.

Prospectivo: Porque los datos serán registrados conforme la ocurrencia de los hechos.

3.2 POBLACION Y MUESTRA

3.2.1 UNIVERSO:

Las bacterias que se encuentran presentes en casos de necrosis pulpar con proceso periapical.

3.2.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Porque la literatura refiere mayor predominio de bacterias anaerobias estrictas en caso de necrosis con reacción periapical, se usarán 3 géneros diferentes de bacterias anaerobias estrictas, siendo las más frecuentes: Prevotella, Porphyromona, Peptostreptococos y 1 bacteria facultativa: Actinomyces.

3.2.3. CRITERIOS DE INCLUSION

- Bacterias anaerobias estrictas y facultativa más frecuentes
- Bacterias que no han tenido contacto con ningún tipo de medicamento o solución antimicrobiana.

3.2.4 TIPO DE MUESTREO

El método de selección será un muestreo no probabilístico.

3.2.5 UNIDAD DE ANALISIS

Cepas de bacterias anaerobias estrictas (cepas ATCC ^{R}) identificadas por genero y especie adquiridos de los Laboratorios “MICROBIOLOGIC”, las cuales son:

- Prevotella melanigenica
- Porphyromona gingivalis
- Peptostreptococcus anarobius
- Actinomyces odontolyticus

3.3. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION	INDICADOR	ESCALA
Diferentes concentraciones del extracto de Propoleo (variable independiente)	**Cantidad del extracto de propoleo en unidad de volumen determinada.**	• Solución de 50ug/10ul • Solución de 100ug/10ul • Solución de 200ug/10ul • Solución de 500ug/10ul	• 50 • 100 • 200 • 500
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA (variable dependiente)	**Capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de:** Porphyromonas gingivalis Prevotella melanogenica Peptostreptococos anaerobius Actinomyces odontolyticus Bacterias más frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical	Halo de inhibición del crecimiento bacteriano medido en mm de diámetro de las soluciones del extracto de propoleo respecto al halo de inhibición del paramonoclorofenol alcanforado en las mismas condiciones.	• Menor 18mm • Igual 18mm • Mayor 18 mm

3.4 MATERIALES Y METODO

3.4.1. PROCEDIMIENTOS Y TECNICAS

3.4.1.1 OBTENCION DE LA MUESTRA

Se usaron 4 cepas de bacterias anaerobias más frecuentes previamente identificadas por género y especie de los laboratorios MICROBIOLOGIC, las cuales fueron importadas a través de una Casa Comercial “GENLAB”, y los género y especie son según la literatura y trabajos anteriores:

- Prevotella melanigenica (anaerobias estricta)
- Porphyromona gingivalis (anaerobia estricta)
- Peptostreptococcuss anarobius (anaerobia estricta)
- Actinomyces odontolyticus (anaerobia facultativa)

3.4.1.2 PREPARACION DE LAS SOLUCIONES

El extracto fue elaborado por el laboratorio NATURAL BEE HEALTH INDUSTRY S.R.L. dirigido por el Magíster en Ciencias JULIO CESAR BRACHO PEREZ que labora en la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA MOLINA Facultad de Ciencias. Es un producto ya estandarizado y elaborado bajo las normas adecuadas.

OBTENCION DEL EXTRACTO DE PROPOLEO:

1. Cosecha del propoleo en apiarios de Lambayeque (las colmenas son de las abejas del genero y especie Apis Mellifera)
2. Almacenado del propoleo en bolsas atóxicas transparentes (que se usan para conservar alimentos.
3. Se coloca de manera conjunta en bolsas oscuras alejado de la luz (los principios activos del propoleo se oxidan en presencia de la luz)
4. Se transporta hacia el laboratorio
5. En el laboratorio se eliminan las impurezas burdas (alas, patas y cuerpos de abejas, porciones de cera, etc)
6. Se congela la masa de propoleo a temperatura de -20 A -40 ºC por 48 horas.
7. Se procede a pulverizar la masa de propoleo (uso de mortero o sistema mecánico)
8. Extracción con solución hidroalcoholica: 70% de etanol (al 96% consumible) Y 30% de agua bidestilada. (se coloca 20 g de propoleo en 100 ml de la solución hidroalcoholica)
9. Proceso de maceración por 15 días
10. Se procede a la filtración del extracto
11. Se estandariza (cada envase contenga el 5% de los principios activos del propoleo que son los aceites esenciales, resinas, bálsamos.
12. Envase en frascos color ámbar
13. Conservación en lugar seco y fresco alejado de la luz

Se obtiene un extracto de propoleo al 5% (concentración 50mg/ml)

A partir de alli elaboraremos las soluciones diluyendo 1 ml del extracto principal en agua bidestilada hasta obtener:

- Solución de extracto de propoleo a 50ug en 10ul
- Solución de extracto de propoleo a 100ug en 10ul
- Solución de extracto de propoleo a 200ug en 10ul
- Solución de extracto de propoleo a 500ug en 10ul (extracto principal)

Paramonoclorofenol alcanforado (se utilizó el de mayor venta comercial y el más utilizado) de los laboratorios FARMADINAMICA.

Soluciones control:

- etanol (70%) + agua bidestilada(30%) (control negativo)

3.4 .1.3 PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

- Una vez adquirida las cepas puras, fueron retiradas del recipiente en el que esta conservada para sembrarla en una placa Agar Schadler suplementado con sangre de cordero para microorganismos anaerobios. Este paso se realizó en un tiempo no mayor de 5 minutos, para cada una de los 4 géneros de bacterias que utilizamos. Luego se coloco en una jarra de anaerobiosis hasta la reactivación de la cepa que fueron 7 días.
- Una vez reactivada la cepa , se diluyo cada cepa en un tubo de ensayo con 2 ml de agua bidestilada hasta obtener una dilucion de Mc Farland 0.5
- Se prepararon las soluciones experimentales y los controles en 6 tubos de ensayo.

- Se procedió a realizar la siembra de las bacterias en las placas petri que contienen el agar schadler, mediante un hisopo(el cual se pasaba de manera uniforme sobre la placa)
- Luego colocamos los discos de papel en las placas de agar a una distancia no menor de 15 mm entre si y a 1.5 cm del borde de la placa.
- Aplicamos las soluciones, una en cada disco, mediante una micropipeta de 10 ul.
- La siembra de las soluciones se realizó por cada género de bacteria y por triplicado.
- Se realiza el transporte inmediato de las placas hacia la jarra de anaerobiosis (se utilizo las bolsas de anaerobiosis de la marca "ANAEROCULT" de laboratorios MERCK) por un periodo de 24horas : PEPTOSTREPTOCOCCUS, ACTINOMYCES y 72 horas para PREVOTELLA Y PORPHYROMONA, esperando la formación de halo de inhibición alrededor de los discos.
- En cada uno de los agares con diferentes tipos de bacterias., e incubamos en condiciones de anaerobiosis a 37 ºC por 24h y 72 h

3.4.2. RECOLECCION DE DATOS

Se hicieron las mediciones de los halos con una regla, sobre la superficie de la placa Petri y con luz refleja.

Se llenaron los datos en unas fichas (ver anexos).

IV. RESULTADOS

CUADRO 1. PRESENCIA DE HALO DE INHIBICION SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS

SOLUCIONES	Halo de Inhibición					
	Placa 1		Placa 2		Placa 3	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PROPOLEO 50ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 100ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 200ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 500ug/10ul	X		X		X	
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	X		X		X	
ETANOL + AGUA (control negativo)		X		X		X

CUADRO 2. DIAMETROS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS

Soluciones	HALOS DE INHIBICION(mm)		
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
ETANOL + AGUA	6	6	6
PROPOLEO 50ug	8	8	8
PROPOLEO 100ug	9	9	10
PROPOLEO 200ug	12	12	11
PROPOLEO 500ug	20	21	18
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18	17	20

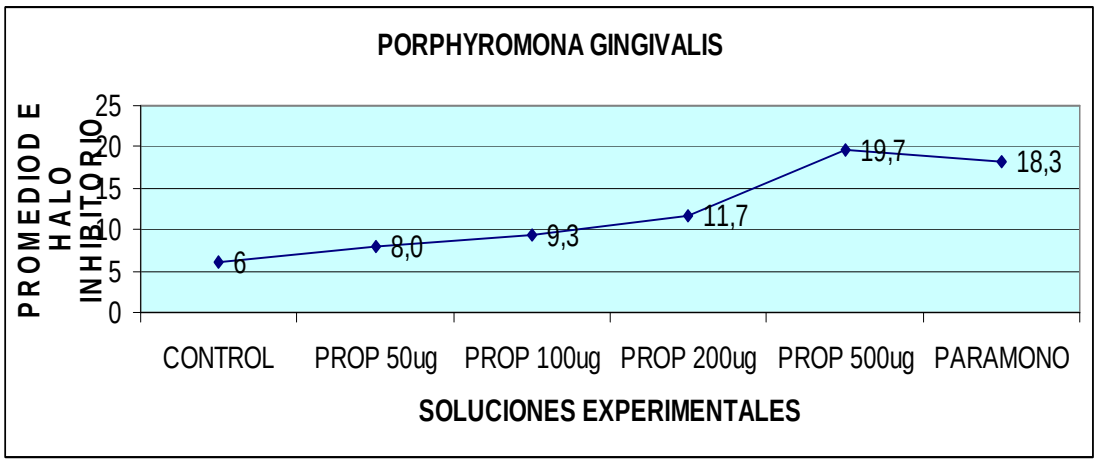
Podemos observar que los halos inhibitorios que se formaron en las placas de Porphyromona gingivalis, utilizando el extracto de propoleo a 500ug /10uL son mayores que las otras soluciones inclusive mayor que el paramonoclororfenol.

Cuanto mayor es la concentración del extracto de propoleo en las soluciones mayor es el diámetro de halo inhibitorio

CUADRO 3. ANALISIS ESTADISTICOS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS

Soluciones	MEDIA	MEDIANA	MODA	DESVST	VARIANZA
ETANOL + AGUA	6	6	6	0,00	0,00
PROPOLEO 50ug	8,0	8	8	0,00	0,00
PROPOLEO 100ug	9,3	9	9	0,58	0,33
PROPOLEO 200ug	11,7	12	12	0,58	0,33
PROPOLEO 500ug	19,7	20	#N/A	1,53	2,33
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18,3	18	#N/A	1,53	2,33

GRAFICO 1. PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION DE LAS SOLUCIONES EXPERIMENTALES SOBRE PORPHYROMONA GINGIVALIS



El extracto de propoleo de 500 ug para Porphyromona gingivalis tuvo mayor diámetro de halo inhibitorio, incluso que el paramonoclorofenol. Se realizo **la prueba anova one way** con cada una de las 4 soluciones comparandolas con

el paramonoclorofenol alcanforado y el grupo control negativo **obteniéndose un valor p < 0.05 (estadisticamente significativo)**

La prueba t student en Porphyromona gingivalis dieron como resultado que el propoleo 50ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,007) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Porphyromona gingivalis dieron como resultado que el propoleo 100ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,004) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

Las pruebas t student en Porphyromona gingivalis dieron como resultado que el propoleo 200ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,031) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Porphyromona gingivalis dieron como resultado que el propoleo 500ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,529) >0.05 estadísticamente no significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores similares y, por lo tanto, tienen actividad antibacteriana es similar.

CUADRO 4. PRESENCIA DE HALO DE INHIBICION SOBRE PREVOTELLA MELANINOGENICA

SOLUCIONES	Halo de Inhibición					
	Placa 1		Placa 2		Placa 3	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PROPOLEO 50ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 100ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 200ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 500ug/10ul	X		X		X	
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	X		X		X	
ETANOL + AGUA (control negativo)		X		X		X

CUADRO 5. DIAMETROS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PREVOTELLA MELANOGENICA

Soluciones	Halos de inhibición(mm)		
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
ETANOL + AGUA	6	6	6
PROPOLEO 50ug	7	7,5	8,5
PROPOLEO 100ug	8,5	9	10
PROPOLEO 200ug	11	12	13
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18	20	20

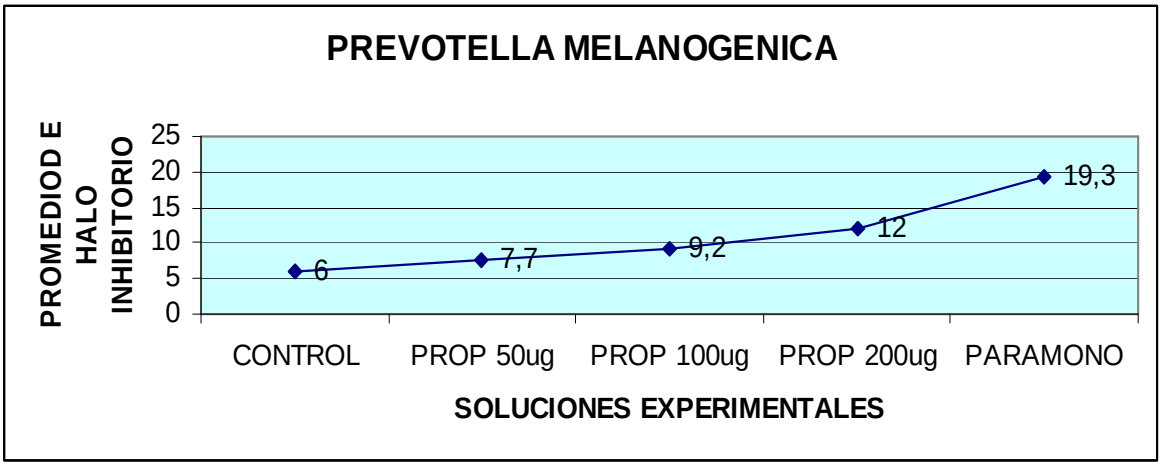
Podemos observar que los halos inhibitorios que se formaron en las placas de Prevotella melanogenica , utilizando el extracto de propoleo a 200ug /10uL son mayores que las otras soluciones pero menor que el paramonoclororfenol.

Cuanto mayor es la concentración del extracto de propoleo en las soluciones mayor es el diámetro de halo inhibitorio.

CUADRO 6. ANALISIS ESTADISTICOS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PREVOTELLA MELANOGENICA

Soluciones	MEDIA	MEDIANA	MODA	DESVST	VARIANZA
ETANOL + AGUA	6	6	6	0,00	0,00
PROPOLEO 50ug	7,7	7,5	#N/A	0,76	0,58
PROPOLEO 100ug	9,2	9	#N/A	0,76	0,58
PROPOLEO 200ug	12	12	#N/A	1	1
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	19,3	20	20	1,15	1,33

GRAFICO 2. PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION DE LAS SOLUCIONES EXPERIMENTALES SOBRE PREVOTELLA MELANOGENICA



El extracto de propoleo de 200 ug en Prevotella melanogenica tuvo mayor diámetro de halo inhibitorio que las otras soluciones del extracto, pero fue menor

que el paramonoclorofenol. Se realizo **la prueba anova one way** con cada una de las 4 soluciones comparandolas con el paramonoclorofenol alcanforado y el grupo control negativo **obteniéndose un valor p < 0.05 (estadisticamente significativo)**

La prueba t student en Prevotella melanogenica dieron como resultado que el propoleo 50ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,001) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Prevotella melanogenica dieron como resultado que el propoleo 100ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,002) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

Las pruebas t student en Prevotella melanogenica dieron como resultado que el propoleo 200ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,002) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

CUADRO 7. PRESENCIA DE HALO DE INHIBICION SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS

SOLUCIONES	Halo de Inhibición					
	Placa 1		Placa 2		Placa 3	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PROPOLEO 50ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 100ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 200ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 500ug/10ul	X		X		X	
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	X		X		X	
ETANOL + AGUA		X		X		X

CUADRO 8. DIAMETROS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS

Soluciones	Halos de inhibición (mm)		
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
ETANOL + AGUA	6	6	6
PROPOLEO 50ug	6	6	6
PROPOLEO 100ug	7,5	7,5	7,5
PROPOLEO 200ug	9,5	9	9
PROPOLEO 500ug	17	14	17
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	19	18	17

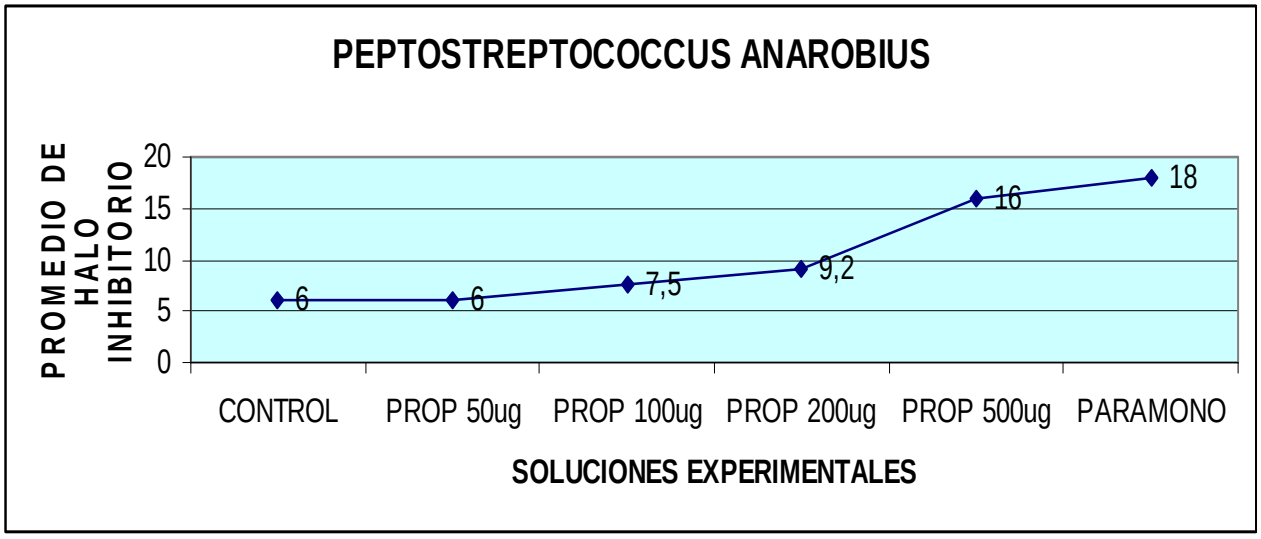
Podemos observar que los halos inhibitorios que se formaron en las placas de Peptostreptococcus anarobius, utilizando el extracto de propoleo a 500ug /10uL son mayores que las otras soluciones pero con medidas cercanas al paramonoclororfenol. El extracto de propoleo a 50ug/10ul formo halos inhibitorios del tamaño del disco de papel.

Cuanto mayor es la concentración del extracto de propoleo en las soluciones mayor es el diámetro de halo inhibitorio.

CUADRO 9. ANALISIS ESTADISTICOS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS

Soluciones	MEDIA	MEDIANA	MODA	DESVST	VARIANZA
ETANOL + AGUA	6	6	6	0,00	0,00
PROPOLEO 50ug	6	6	6	0,00	0,00
PROPOLEO 100ug	7,5	7,5	7,5	0,00	0,00
PROPOLEO 200ug	9,2	9	9	0,29	0,08
PROPOLEO 500ug	16	17	17	1,73	3
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18	18	#N/A	1,00	1,00

GRAFICO 3. PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION DE LAS SOLUCIONES EXPERIMENTALES SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS



El extracto de propoleo de 500 ug/uL en Peptostreptococcus anarobius tuvo mayor diámetro de halo inhibitorio que las otras soluciones del extracto, pero menor que el paramonoclorofenol. Se realizo **la prueba anova one way** con cada

una de las 4 soluciones comparandolas con el paramonoclorofenol alcanforado y el grupo control negativo **obteniéndose un valor p < 0.05 (estadisticamente significativo)**

La prueba t student en Peptostreptococcus anarobius dieron como resultado que el propoleo 50ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,002) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Peptostreptococcus anarobius dieron como resultado que el propoleo 100ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,003) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

Las pruebas t student en Peptostreptococcus anarobius dieron como resultado que el propoleo 200ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,002) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Peptostreptococcus anarobius dieron como resultado que el propoleo 500ug -- paramonoclorofenol dio un **valor p (0,225) >0.05 estadísticamente no significativo**. Esto quiere decir que los promedios tienen valores similares y, por lo tanto, tienen actividad antibacteriana es similar.

CUADRO 10. PRESENCIA DE HALO DE INHIBICION SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS

SOLUCIONES	Halo de Inhibición					
	Placa 1		Placa 2		Placa 3	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO
PROPOLEO 50ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 100ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 200ug/10ul	X		X		X	
PROPOLEO 500ug/10ul	X		X		X	
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	X		X		X	
ETANOL + AGUA		X		X		X

CUADRO 11. DIAMETROS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS

Soluciones	Halos de inhibición (mm)		
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
ETANOL + AGUA	6	6	6
PROPOLEO 50ug	7	7	7
PROPOLEO 100ug	8,5	7,5	8,5
PROPOLEO 200ug	10	10	10
PROPOLEO 500ug	16	15,5	16
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18	17	20

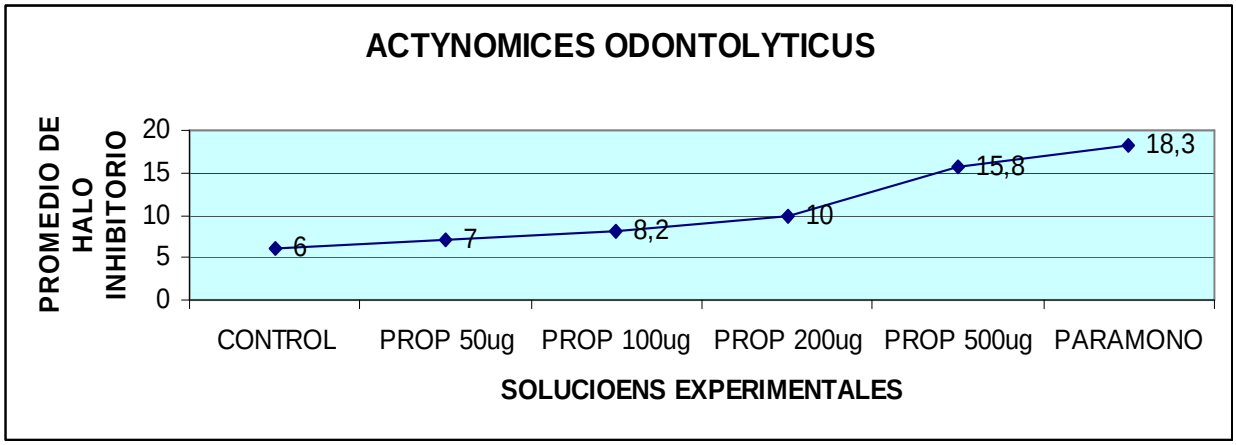
Podemos observar que los halos inhibitorios que se formaron en las placas de Peptostreptococcus anarobius, utilizando el extracto de propoleo a 500ug /10uL son mayores que las otras soluciones pero con medidas cercanas al paramonoclororfenol.

Cuanto mayor es la concentración del extracto de propoleo en las soluciones mayor es el diámetro de halo inhibitorio.

CUADRO 12. ANALISIS ESTADISTICOS DEL HALO DE INHIBICION SOBRE PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS

Soluciones	MEDIA	MEDIANA	MODA	DESVST	VARIANZA
ETANOL + AGUA	6	6	6	0,00	0,00
PROPOLEO 50ug	7	7	7	0,00	0,00
PROPOLEO 100ug	8,2	8,5	8,5	0,58	0,33
PROPOLEO 200ug	10	10	10	0,00	0,00
PROPOLEO 500ug	15,8	16	16	0,29	0,08
PARAMONOCLOROFENOL ALCANFORADO	18,3	18	#N/A	1,53	2,33

GRAFICO 4. PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICION DE LAS SOLUCIONES EXPERIMENTALES SOBRE ACTYNOMICES ODONTOLYTICUS



El extracto de propoleo de 500 ug/10uL en Actinomyces odontolyticus tuvo mayor diámetro de halo inhibitorio que las otras soluciones del extracto, pero menor que el paramonoclorofenol. Se realizo **la prueba anova one way** con cada una de las 4 soluciones comparandolas con el paramonoclorofenol alcanforado y el grupo

control (control negativo. Etanol + agua bidestilada) **obteniéndose un valor p < 0.05 (estadisticamente significativo)**

La prueba t student en Actinomyces odontolyticus dieron como resultado que el propoleo 50ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,006) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

La prueba t student en Actinomyces odontolyticus dieron como resultado que el propoleo 100ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,004) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

Las pruebas t student en Actinomyces odontolyticus dieron como resultado que el propoleo 200ug -- paramonoclorofenol alcanforado dio un **valor p (0,011) < 0.05 estadísticamente significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores diferentes y, por lo tanto, no tienen actividad antibacteriana similar.

Las pruebas t en Actinomyces odontolyticus dieron como resultado que el propoleo 500ug -- paramonoclorofenol dio un **valor p (0,082) >0.05 estadísticamente no significativo.** Esto quiere decir que los promedios tienen valores similares y, por lo tanto, tienen actividad antibacteriana es similar

V. DISCUSION

En la presente investigación utilizamos la solución de extracto de propoleo de 50 ug , 100 ug, 200 ug y 500ug sobre bacterias anaerobias como Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica ,Peptostreptococcus anaerobius y Actinomyces odontolyticus, obteniendo formación de halos inhibitorios , esto concuerda con Kedzia[2] que en 1986 determinó las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de extracto del etanol de propolis en contra de las cepas de Bacteroides y Peptostreptococcus eran inhibidos en 0.01-0.50 mg/ml (10ug - 500ug / ml). Encontrandose nuestras soluciones del extracto de propoleo dentro del rango estudiado por Kedzia.

En esta investigación obtuvimos que al aplicar la soluciones del extracto de propoleo de 50ug/10uL sobre Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus se formaron halos inhibitorios mínimos (6-8mm) teniendo en cuenta el tamaño del disco (6mm) , y comparándola con las otras soluciones cuyos diámetros fueron mayores. Con esto determinamos que la solución de extracto de propoleo a 50 ug posee actividad inhibitoria mínima. Siendo coincidente con en el estudio realizado por por Kedzia[2], A que en 1986 determino las concentraciones inhibitorias mínimas (MIC) de extracto del etanol de propolis en contra de las cepas de Bacteroides y peptostreptococcus eran inhibidos apartir de 10 ug/ ml. Además también coincide con el estudio realizado por Alfredo Mauricio Batista de Paula (2006)[17] que determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) del extracto de propoleo de la Prevotella intermedia (20-50 ug/ml), Porphyromona gingivalis (30-

50 ug/ml). Y Santos et al (2002)[12], evaluaron la susceptibilidad de Prevotella intermedia y Porphyromonas gingivalis frente al propolis, obteniendo valores de CIM entre 64µg/ml y 256µg/ml.

Además en el estudio de Gebara at al ,2002 [8,] determinaron que la concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto de propoleo, para la Porphyromona gingivalis y Prevotella intermedia, estaban en entre 0.25ug/ml. Siendo este valor menor a la de nuestra concentración de extracto de propoleo de 50ug/10uL.

Con esta investigación podemos demostrar que el extracto de propoleo que se obtiene de las colmenas de la abeja Apiss Mellifera en Peru, tiene una rango de inhibición similar a los extractos de propoleos de otro países como presenta como Brasil [8,17], Turquia [18] ,etc.

En los estudios realizados por Alfredo Mauricio Batista de Paula (2006)[17] Mediante su estudio en difusión y dilución por agar determinaron el Concentración Mínima Bactericida (MBC) del extracto de propoleo fue de 200-400 ug/ml formando halos de inhibición de 14 a 17 mm de diámetro. En la presente investigación el extracto de propoleo a 200-500 ug formaron halos inhibitorios entre 9 y 19 mm de diámetro Determinando así que la actividad antibacteriana a estas concentraciones es mayor.

Todas las bacterias fueron susceptibles a las concentraciones de 50, 100, 200 y 500 ug lo que es comparable con el estudio realizado por Koru O, Toksoy F y col (2007)[18] en cepas anaerobias de los géneros: Peptostreptococcus, Lactobacillus,

Porphyromona, Fusobacterium, Actinomyces, Prevotella, Veillonella. Todas las cepas eran susceptibles y MIC los valores se extendieron a partir del 4 a 512mug/ml para la actividad de los propolis.. Los valores de Concentración Mínima Bactericida del extracto de propoleo de Kazan-Ankara fueron extendidos a partir del 8 a 512mug/ml.

La Porphyromona gingivalis es la bacteria que presentó el promedio de halo de inhibición de mayor tamaño 19.7mm con la solución de extracto de propoleo a 500 ug/10uL, incluso mayor que el diámetro de halo formado por el paramonoclororfenol de 18.3mm. Según los estudios realizados por Alfredo Mauricio Batista de Paula (2006)[17] y Santos et al (2002)[12] que trabajaron con Prevotella intermedia y Porphyromona gingivalis, obteniendo inhibición de dichas bacterias al ser aplicadas el extracto de propoleo a diversas concentraciones incluso en un rango de 20ug a 276 ug/ml. Con esto Podemos determinar que la Porphyromona gingivalis es una de las bacterias que presenta mayor sensibilidad a la actividad antibacteriana del extracto de propoleo. Siendo la Porphyromona una de las bacterias anaerobias estrictas de mayor prevalencia en patologías pulpar (como necrosis) y patologías periapicales.

Además Fajuri et al[15] en el 2004 estudió el efecto del propolis sobre diferentes microorganismo patógenos orales, entre los cuales incluyó Streptococcus mutans, Porphyromonas gingivalis, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus y Cándida albicans. Sus resultados mostraron inhibición de crecimiento de todos ellos, excepto de Porphyromonas gingivalis, fueron susceptibles al propóleos. Lo cual es contradictorio con el resultado e nuestra investigación donde la

Porphyromona gingivalis fue la más susceptible por presentar mayor promedio de halo inhibitorio.

En el estudio realizado por Koru O, Toksoy F y col (2007)[18] en cepas anaerobias de los géneros: Peptostreptococcus, Lactobacillus, Porphyromona, Fusobacterium, Actinomyces, Prevotella, Veillonella. Fue demostrado que las muestras de los propolis eran más eficaces contra las bacterias anaerobias grampositivas que las gramnegativas. Lo cual es contradictorio con nuestra investigación donde la bacteria gramnegativa, Porphyromona gingivalis, fue la que presenta el mayor promedio de halo inhibitorio (19.7mm).

En nuestro investigación se estudio a la Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus, se determinó, que cuanto mayor es la concentración del extracto de propoleo mayor es el promedio del halo inhibitorio: El extracto de propoleo a 50ug/10uL (6 - 8 mm), el extracto de propoleo a 100 ug/10uL (7.5 y 9.3 mm), el extracto de propoleo a 200 ug/10uL (9.2 y 11.7 mm) y el extracto de propoleo a 500ug (15.8 y 19.5 mm).

VI. CONCLUSIONES

- El extracto de propoleo a 50ug/10uL presenta una menor actividad antibacteriana en comparación con las demás soluciones con promedios de halo de inhibición entre de 6 - 8 mm. Siendo el promedio menor para Peptostreptococcus anarobius y el mayor promedio en Porphyromona gingivalis.

- El extracto de propoleo a 100 ug/10uL presenta actividad antibacteriana con promedios de halo de inhibición entre 7.5 y 9.3 mm. Siendo el promedio menor para Peptostreptococcus anarobius y el mayor promedio en Porphyromona gingivalis.

- El extracto de propoleo a 200 ug/10uL presenta actividad antibacteriana con promedios de halo de inhibición entre 9.2 y 11.7 mm. Siendo el promedio menor para Peptostreptococcus anarobius y Prevotellla melanogenica , y el mayor promedio en Porphyromona gingivalis.

- El extracto de propoleo a 500ug presenta actividad antibacteriana con promedios de halo de inhibición entre 15.8 y 19.5 mm. Siendo el promedio menor para Actinomyces odontolyticus y el mayor promedio en Porphyromona gingivalis.

- El paramonoclorofenol alcanforado presenta actividad antibacteriana con promedio de halos de inhibición entre 18 y 19.3 mm siendo el promedio

menor para Peptostreptococcus anarobius y el promedio mayor para Prevotella Melanogenica.

- Al comparar los promedios de halos inhibitorios de cada una de las soluciones del extracto de propoleo (50ug/10uL, 100ug/10uL, 200ug/10uL y 500ug/10uL) con el paramonoclorofenol alcanforado (con los resultados de cada bacteria) mediante la prueba T de student se concluyó:

  a) Las soluciones del extracto de propoleo a 50ug/10uL, 100ug/10uL y 200ug/10uL comparadas con el paramonoclorofenol alcanforado en Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces Odontolyticus, nos da un **valor p < 0.05**, **esto es significante,** es decir que entre los promedios de las soluciones del extracto de propoleo con el paramonoclorofenol existe gran diferencia significativa. Las soluciones de 50ug, 100ug y 200 ug tienen actividad antibacteriana diferentes y menores que el paramonoclorofenol alcanforado.

  b) Las soluciones del extracto de propoleo a 500ug/10uL comparadas con el paramonoclorofenol alcanforado en Porphyromona gingivalis, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus, nos da un **valor p > 0.05**, **esto es no significante,** es decir que entre los promedios de las soluciones del extracto de propoleo a 500ug con el paramonoclorofenol no existe diferencia significativa. Por lo tanto sus valores se asemejan y tienen actividad antibacteriana similar.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con soluciones de extracto de propoleo a mayores concentraciones de 500ug/10uL.

- Realizar estudios para determinar las Concentraciones Minimas Inhibitorias (MIC) y Concentraciones Minimas Bactericidas (MBC) del extracto de propoleo peruano.

- Realizar estudios para evaluar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo utilizando otros medios de cultivo bacteriano como diluciones en caldo y poder observar el grado de turbidez del crecimiento bacteriano según Mc Farland o utilizar espectofotometria.

- Realizar estudios para determinar la actividad antibacteriana del extracto de propoleo en otras bacterias anaerobias e inclusive en bacterias aerobias. presentes en patología pulpar y patología periapical.

- El propoleo también posee efecto antiinflamatorio y cicatrizante, podría ser una alternativa antimicrobiana y se recomienda realizar estudios clínicos en pacientes con patologia pulpar y periapical, inclusive en casos de retratamientos evaluando parámetros clínicos como microbiológicos.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Shub, T.A.; Kagramanova, K.A.; Voropaeva, S.D.; Kivman, G. YA. (1981): Effect of propolis on strains of staphylococcus anveus resistant to antibiotics. Antibiotik 26 (4) 268-271.

2. Kedzia, A. (1986): Effect of ethauol extract of propolis (EEP) on anaerobic bacteria.Herba polonica 32 (1) 53-58.

3. Brook I, Frazier E.H., Gher Jr. Microbiology of periapical abcesses and associated maxillary sinusitis. J. Periodontol. 1996, 67:608-610

4. Dalby Morla Paola. Sensibilidad antibiotica de bacterias mas frecuentes en abscesos dentoalveolares agudos. Tesis para obtar el titulo de Cirujano-Dentista.UNMSM Lima-Peru 2000

5. Arroyo Micalay, L. Determinación de las bacterias más frecuentes en abscesos dentoalveolares agudos. Tesis para obtar el grado de Cirujano-dentista.UNMSM, Lima-Peru 2000

6. Lana M.A. Ribeiro Sobrinho A.P., Stehling R., Garcia G. D., Silva B. K., Hamdan L. S., Nicolli J.R., Carvalho M.A.R. and Farias L.D.M. Microorganisms isolated Itom root Canals presenting necrotic pulp and their drugs susceptibility in Vitro.Oral Microbiology Inmunology. 2001, 16: 100-105

7. Velikova M, Bakova V, Sorkun K, Popova S, Kujumgiev A. (2001) Chemical composition and biological activity of propolis from Turkish and Bulgarian origin. Mellifera 1(1): 57-59

8. Gebara E, Lima L, Mayer M. (2002). Propolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. Braz J Microbiol 33(4): 365-369

9. Peters LB, Wesselink Pr, Van Wikelhoff AJ. Combinations of bacterial species in endodontic infections.Int. Endodon. Journal 2002, 35: 698-702

10. Siqueira J.F. Jr,Rocas I.N. MOraes S.R., Santos K.R. Direct amplification of rRNE genes sequences for identification of selected pathogens in root canal infections. Int.Endod.Journal 2002. 35: 345-351

11. Khemaleelakul S., Baumgartner C. Identification of bacteria in acute endodontic infections and their antimicrobial susceptibility.Oral surgery,Oral Med, Oral Patho.2002, 94: 6

12. Santos F, Bastos E, Rodriguez P, Uzeda M, Carvalho M, Farias L, Moreira E, (2002). Susceptibility of Prevottella inteermedia/Prevotella nigrescens (and Porphyromona gingivalis) to Propolis (Bee Glue) and other Antimicrobial Agents. Anaerobe 8(1): 9-15

13. Pinheiro.E.T., Gomes B.P. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility.Oral microbiology and Inmunology.

14. Gomes B.P.F.A., Pinheiro E.T., Gade-Neto C.R., Sousa E.L.R., Feltas C.C. R., Zaia A.A., Teixeira F. B. and Souza Filho F. Microbiological examination of infected dental root canals.Oral Microbiology Inmunology. 2004, 19: 71-76

15. Fajuri M, Huerta J, Silva N. (2004). Eficacia del propóleo chileno como antimicrobiano contra microorganismos de interés en Odontología. Trabajo de Investigación para optar al título de cirujano dentista. Facultad de Odontología, Universidad de Chile

16. Muñante Cardenas J.L. Identificaron de microorganismos anaerobios estrictos y facultativos frecuentes en necrosis pulpares . Tesis para obtar el titulo de Cirujano-Dentista. UNMSM Lima-Peru 2005

17. Alfredo Mauricio Batista de Paula1, Rafael Tomaz Gomes1, Warner Kwasnicka Santiago, Ricardo Souza Dias2, Maria Esperanza Cortés, Vagner Rodrigues Santos. **"**SUSCEPTIBILITY OF ORAL PATHOGENIC BACTERIA AND FUNGI TO BRAZILIAN GREEN PROPOLIS EXTRACT". Laboratory of Microbiology and Biomaterials, Dentistry School, Universidade Federal de Minas Gerais; 2Food Microbiology Laboratory - Fundação Ezequiel Dias (FUNED) - Belo Horizonte, Brazil. ***Pharmacologyonline*** 3: 467-473 (2006)

18. Koru O, Toksoy F, Acikel CH, Tunca YM, Baysallar M, Uskudar Guclu A, Akca E, Ozkok Tuylu A, Sorkun K, Tanyuksel M, Salih B "Actividad antimicrobiana in vitro de las muestras de los propolis de diversos orígenes geográficos contra ciertos patógeno orales" Departamento de la microbiología, división de la

parasitología médica, escuela médica militar de la academia de Gulhane de la medicina, 06018 Ankara, Turquía.Anaerobe 7 Mar 2007.

19. Jhon I. Ingle, Leifk Bakland. “ENDODONCIA”. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana .5ª edicion. 2004.

20. Carlos Canalda Sahli, Esteban Brau Aguade “ENDODONCIA, técnicas clinicas y bases cientificas” Editorial Masonas, 2001 Barcelona, España.

21. Jose Soares, Fernando Goldberg “ENDODONCIA, técnica y fundamentos” Editorial Medica Panamericana 2003, Argentina

22. LIEBANA UREÑA, José. Microbiología Oral. Editorial Mc. Graw Hill. Primera Edición. Madrid. España. 1995.

23. Rodríguez C. (2000). Eficacia antimicrobiana de solucies irrigadotas de canais radiculares. Dissertacao apresentada ao Programa de Maestrado en Medicina Tropical de Universidad Federal de Goais. pp 27

24. Treating Livestock with Medical Plant: Beneficial or Toxic
http://www.guiaverde.com/arboles/caripapaya.htm

25. Bavestrello P. Introducción a la Fitoterapia. Universidad Católica de Chile.

26.Murphy M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical. Microbiology Reviews 12(4): 564-582

27. Ghisalberti EL. (1979). Propolis a Review. Bee Word 60: 59-84

28.Chaillou LL (2004). Estudio del Propóleos de Santiago del Estero. Argentina. Cienc Tecnol Aliment Campinas 24(1): 011-015

29.Marcucci MC (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie 26: 83-89

30.Montenegro G, Timmermann BN, Peña RC, Mujica A & Avila G (2000). Pollen grains and vegetative structures in propolis as indicators of potencial reactions in Chilean plants. Phyton (International Journal of Experimental Botany) 66: 15

31.Ricciardelli d´Albore. (1979). L´origine geographique de la propolis. Apidologie 10: 241-267

32. Grange, J.M.; Davey, R.W. 1990. Antibacterial properties of propolis*. J. of the Royal Society of Medicine*. 83(3):2-6.

33. Asís, M. 1989 Los productos de la colmena .- Centro de información y documentación, Agropecuario. Cap. 4. Vedado, La Habana, Cuba,. p 45 – 52.

34. Propravko, S. A. 1975. Composición química del propóleo, su origen y problemas de uniformación. Apimondia: Bucarest.. p. 19-22.

35. Burdock L. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. Food Chemical Toxicolol 36: 347-363

36. Walker, P.; Crane, E. 1987.Constituents of propolis Apidologie 18 (4):327-334.

37. Akopyan, Z.M.; Shakaryan, G.A. and Danielyan, S.G. 1970. Sensitivity of microorganism to propolis in some districts of the Armenian S.S.R. Biol. Zh. Armeniya, 23(9): 70-74

38. Brushi ML, Franco SL, Gremiao MP (2003). Application of an HPLC Method for Analysis of Propolis Extract. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies 26(14): 2399-2409

39. Havsteen B. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacology & Therapeutics 96(2-3) 67-202

40. Konig B. (1985). Plant sources of propolis. Bee world 66(136): 136-139

41. Greenaway W, English S, Wollenweber E, Whatley FR (1989). Series of novel flavanones identified by gas chromatography-mass spectrometry in bud exudates of Populus fremontii and Populus maximowiczii. J Chromatogr 481: 352-357

42.- Kumazawa S, Katsumi H, Katsuko K, Ishii T, Hamasaka T, Nakayama T, (2002). Studies of the constituents of Uruguayan Propolis. J Agric Food Chem 50: 477-4782

43.Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. Phytomedicine 12(3) 221-228

44.Marcucci MC, Bankova V. (1999) Chemical composition, plant origin and biological activity of Brasilian propolis. Current Top Phytochem 2: 115-123

45.Bohlman F, Kramp W, Grenz M, Robinson H, King R (1981). Diterpenes from Baccharis species. Phytochemistry 20: 1907-1913

46.Alarcón R, Nuñez J. (1989). Estudios Químico de propóleos. Tesis de Grado de Pedagogía en Biología, Facultad de Química y Ciencias Naturales, Universidad Austral de Chile

47.Muñoz O, Peña R, Ureta E, Montenegro G, Caldwell C, Timmermann B. (2001). Phenolic Compounds of Propolis from Central Chilean Matorral. Z Naturforsch 56(3-4): 273-7

48.Valcic S, Montenegro G, Mujica AM, Avila G, Franzblau S, Singh MP, Maiese WM & Timmermeann BN. (1999). Phytochemical, morphological, and biological investigations of propolis from central Chile. Z Naturforsch 54: 406-416

49. Montenegro G, Peña RC, Avila G & Timmermann BN. (2001). Botanical origin and seasonal production of propolis in hives of Central Chile. Bolm Bot Univ Sao Paulo 19: 1–6

50. Gebara E, Zardetto C, Mayer M. (1996). In Vitro" study of the antimicrobial activity of natural substances against S. mutans and S, sobrinus. Rev Odontol Univ Sao Paulo 10: 251-256

51. Quintana J, Rodríguez O, Díaz M, López M. (1997). Empleo de la tintura de propóleos al 5% en la cura de heridas sépticas faciales. Rev Cubana Estomatol 34(1): 25-27

52. Park YK. (1998). Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. Curr Microbiol 36: 24-28

53. Drago L, Mombelli B, Vecchi E, Fascina M, Tocalli M, Gismondo M. (2000). In vitro antomicrobial activity of propolis dry extract. J Chemoterapy 12: 390-395

54. Sawaya A, Palma A, Caetano F, Marcucci M, Da Silva I, Araujo C, Shimizu M. (2002). Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of candida. Letters in applied Microbiology 35: 203-207

55.Amoros M, Lurton E, Boustic J, Sauvager F, Cormier M. (1994). Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-enyl caffeate. J Nat Prod 57: 644-647

56.De Campo R, Paulino N, Da Silva C, Scremin A, Calixto J. (1998). Antihyperalgesic Effect of an Ethanolic Extract of Propolis in Mice and Rats. J Pharm Pharmacol 50: 1187-1193

57.Khayyal MT, el-Ghazaly MA, el-Khatib AS. (1993). Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. Drugs Exp Clin Res 19(5): 197-203

58.Ivanovska N, Dimov V, Bankova V, Popov S. (1995). Inmunomodulatory action of propolis. VI. Influence of a water soluble derivative on complement activity in vivo. J Ethnopharmacol 47: 145-147

59. Kiderman A, Torten R, Furst A, Reinus K. (2001). Bi-lateral eosinophilic ulcers in an infant treated with propolis. Journal of Dermatological Treatment 12: 29-31 76.- Heo MY, Sohin J & Au W. (2001). Anti-genotoxity of galangin as a cancer chemopreventive agent candidate. Mutat Res 488: 135-150

60.Matsushige K, Basnet P, Hase K, Kadota S, Tanaka K, Namba T. (1996). Propolis protects pancreatic beta-cells against the toxicity of streptozotocin (STZ). Phytomedicine 3: 203-209

61.Rosalen PL, Koo H, Cury JA, Park YK. (1998). Efeito da propólis em rato de ssalivado dessalivado. 15a Reunião Anual da SBPqO Res., A-074, 30

62.Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. (1991). Effects of propolis on dental caries in rats. Caries Res 25: 347-351

63.Gispert E, Cantillo E, Rivero A, Padrón M. (2000). Actividad anticaries de una crema dental con propóleos. Rev Cubana Estomatol 37(3): 166-170

64.Walker P & Crane (1987). Constituents of propolis. Apidologie 18(4): 327-334 82.- Greenaway W, Scaysbrook T & Fr Whatley (1991). Identification by gas chromatography-mass spectroscopy of 150 compounds in propolis. Zeitschrift fur Naturforschung 46c: 111-121

65.García Viguera C, Ferreres F & Tomás-Barberán F. (1993) Study of Canadian propolis by GC/MS and HPLC. Zeitschrift fur Naturforschung 48c: 731-735 84.- Bankova V, Christov R, Popov S, Pureb O & Bocari G. (1994). Volatile constituents of propolis. Zeitschrift fur Naturforschung 49c: 6-10

66.Bankova V, Popov SS & Mareko NL. (1983). A study on flavonoids of propolis. J Nat Prod 46: 471-474

67.Doodstar H, Burke MD & Mayer RT. (2000). Bioflavonoids: selective substrates and inhibitors for cytocromes P450 CYP1 and CYPB1. Toxicology 144: 31-38 87.-

68. Fajuri M, Huerta J, Silva N. (2004). Eficacia del propóleo chileno como antimicrobiano contra microorganismos de interés en Odontología. Trabajo de Investigación para optar al título de cirujano dentista. Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

69. Bonhevi JS, Coll F, Jorda R. (1994). The composition, activecomponents and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. J Am Oil Chem Soc 71: 529-532

70. Takaisikikuni N, Schilcher H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mecchanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. Planta Med 60: 222-227

71. Jin UH, Chung TW, Kang SK, Suh SJ, Kim JK, Chung KH, Gu YH, Suzuki I, Kim CH. (2005). Caffeic acid phenyl ester in propolis is a strong inhibitor of matrix metalloproteinase-9 and invasion inhibitor: isolation and identification. Clin Chim Acta 362(1-2): 57-64

72. Hwang HJ, Park HJ, Chung HJ, Min HY, Park EJ, Hong JY, Lee S.K. (2005). Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on cancer cell metastasis mediated by the down-regulation of matrix metalloproteinase expression in human HT1080 fibrosarcoma cells. J Nutr Biochem Oct. 5

73. Tae-Wook C, Sung-Kwon M, Young-Chae C, Jeong-Heon K, Young-Choon L, Gun C, Soo-Hyun K, Jong-Guk K. (2004). Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete

regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism. The FASEB Journal 18: 1670- 1681

74. Liao H, Chen Y, Liu J, Hsu M, Shieh H, Liao HJ, Shieh C, Shiao M, Chen Y. (2003). Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on angiogenesis, tumor invasion, and metastasis. J Agric Food Chemistry 51(27): 7907-12

75. Al-Shaner A, Wallace J, Agarwal S, Bretz W, Bagh D, (2004). Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. Journal of Endodontics 30(5): 359-361

76. Koo H. (2002). Effect of a moutrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccaride formation. Caries Res 36(6): 445-449

77. Fernandez SG, Aleman E, Fiqueroa B, Fagoaga E, Rivera J, Purroy A. (2004). Direct and airborne contact dermatitis from propolis in beekeepers. Contact Dermatitis 50: 320-321

78. Gulbahar O, Ozturk G, Erdem N, Kazandi A, Kokuludag A. (2005). Psoriasiform contact dermatitis due to propolis in a beekeeper. Annals of Allergy, Asthma and Immunology 94(4): 509-511

ANEXOS

INDICE DE TABLAS Y GRAFICOS

CUADROS

CUADRO 1. Presencia de halo de inhibición sobre Porphyromona gingivalis……..…53

CUADRO 2. Diámetros del halo de inhibición sobre Porphyromona gingivalis……..54

CUADRO 3. Análisis estadísticos del halo de inhibición sobre porphyromona gingivalis……55

CUADRO 4. Presencia de halo de inhibición sobre Prevotella Melaninogenica……..57

CUADRO 5. Diámetros del halo de inhibición sobre Prevotella melanogenica……..58

CUADRO 6. Análisis estadísticos del halo de inhibición sobre Prevotella melanogenica……59

CUADRO 7. Presencia de halo de inhibición sobre Peptostreptococcus anarobius……61

CUADRO 8. Diámetros del halo de inhibición sobre Peptostreptococcus anarobius……62

CUADRO 9. Análisis estadísticos del halo de inhibición sobre Peptostreptococcus anarobius……..63

CUADROS 10. Presencia de halo de inhibición sobre Actinomyces odontolyticus……..65

CUADROS 11. Diámetros del halo de inhibición sobre Actinomyces odontolyticus……66

CUADROS 12. Analisis estadísticos del halo de inhibición sobre Actinomyces odontolyticus ……67

GRAFICOS

Grafico 1. Promedio del halo de inhibición de las soluciones experimentales sobre Porphyromona gingivalis……..55

Grafico 2. Promedio del halo de inhibición de las soluciones experimentales sobre Prevotella melanogenica……59

Grafico 3. Promedio del halo de inhibición de las soluciones experimentales sobre Peptostreptococcus anarobius……63

Grafico 4. Promedio del halo de inhibición de las soluciones experimentales sobre Actynomices odontolyticus……..67

TABLA DE RECOLECCION DE DATOS

Bacteria: Fecha:	Diámetro del halo (incluido el disco) mm		
	Placa 1	Placa 2	Placa 3
Etanol + agua bidestilada			
Propoleo 50 ug			
Propoleo 100 ug			
Propoleo 200 ug			
Propoleo 500 ug			
Paramonoclorofenol alcanforado			

FOTOGRAFIAS



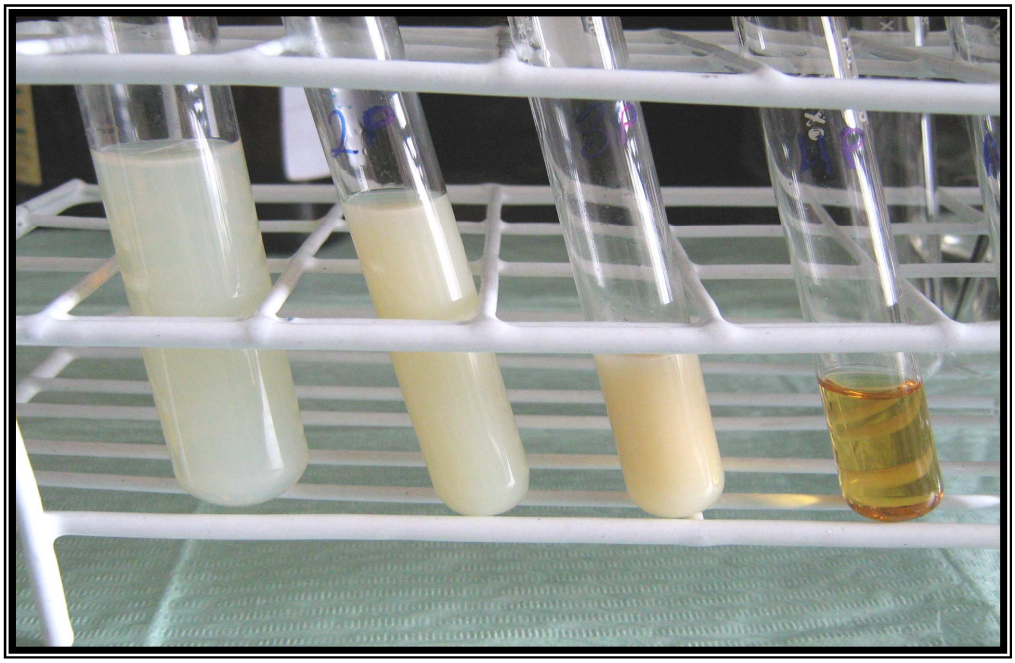
1. Dispensador de Cepas ATCC^{R} : Porphyromona gingivalis, Prevotella melanogenica, Peptostreptococcus anarobius y Actinomyces odontolyticus



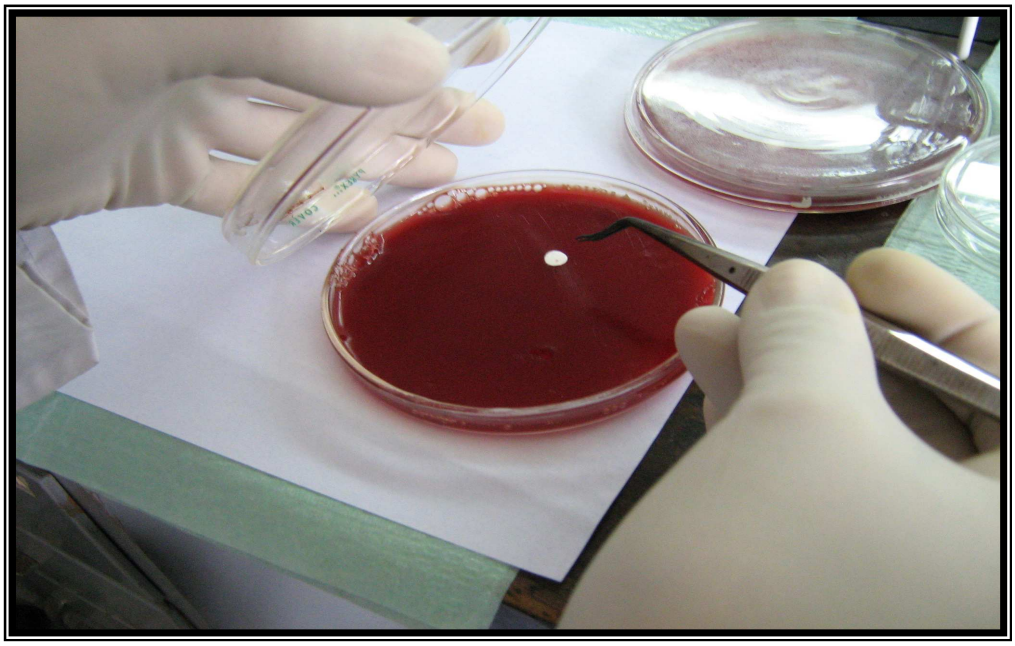
2. Etanol, paramonoclorofenol alcanforado y el extracto de propoleo(50mg/ml)



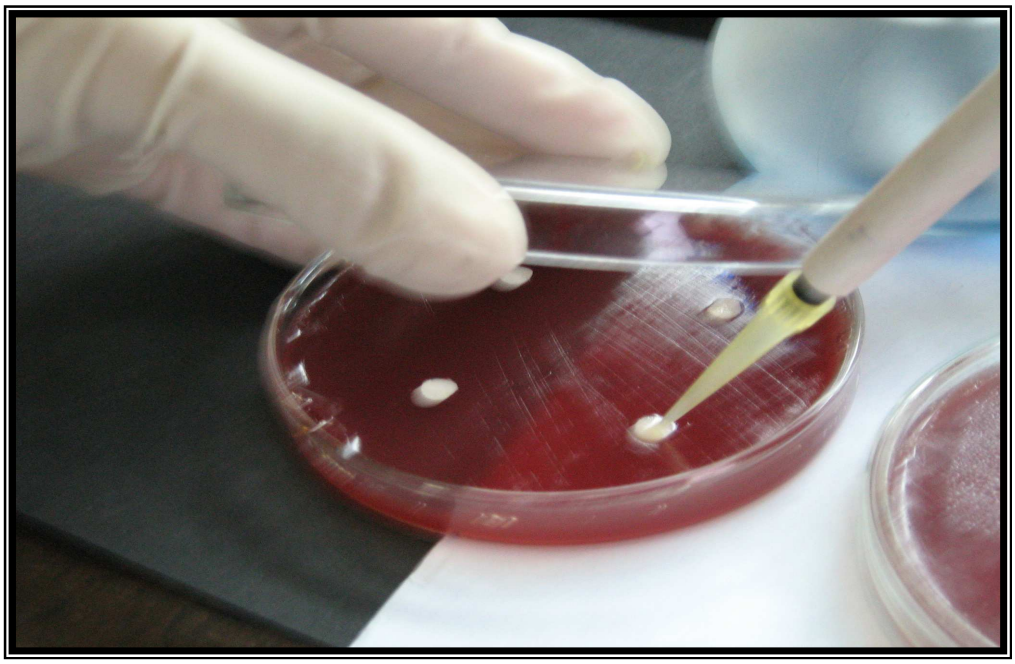
3. Preparando las soluciones del extracto de propoleo agregando agua bidestilada



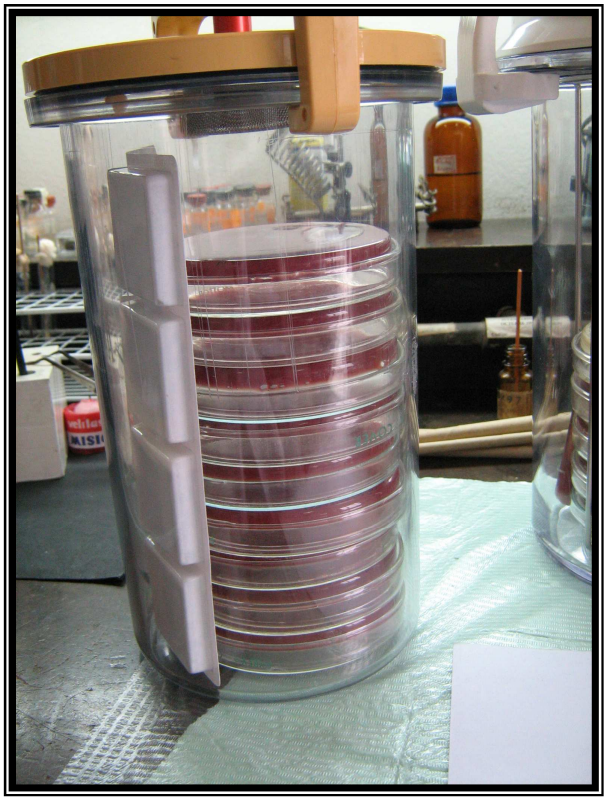
4. Soluciones del extracto de propoleo de 50ug/10ul, 100ug/10ul, 200ug/10ul y 500ug/10ul (izquierda a derecha)



5. Se coloca el disco de papel con una pinza



6. Aplicamos las soluciones con una micropipeta (10uL)

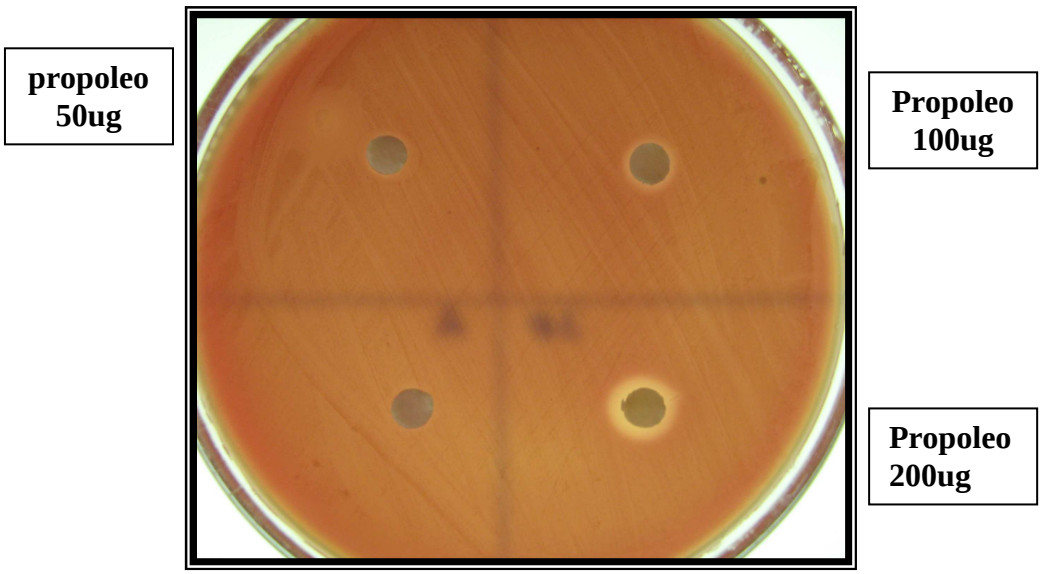


7. Jarra de anaerobiosis

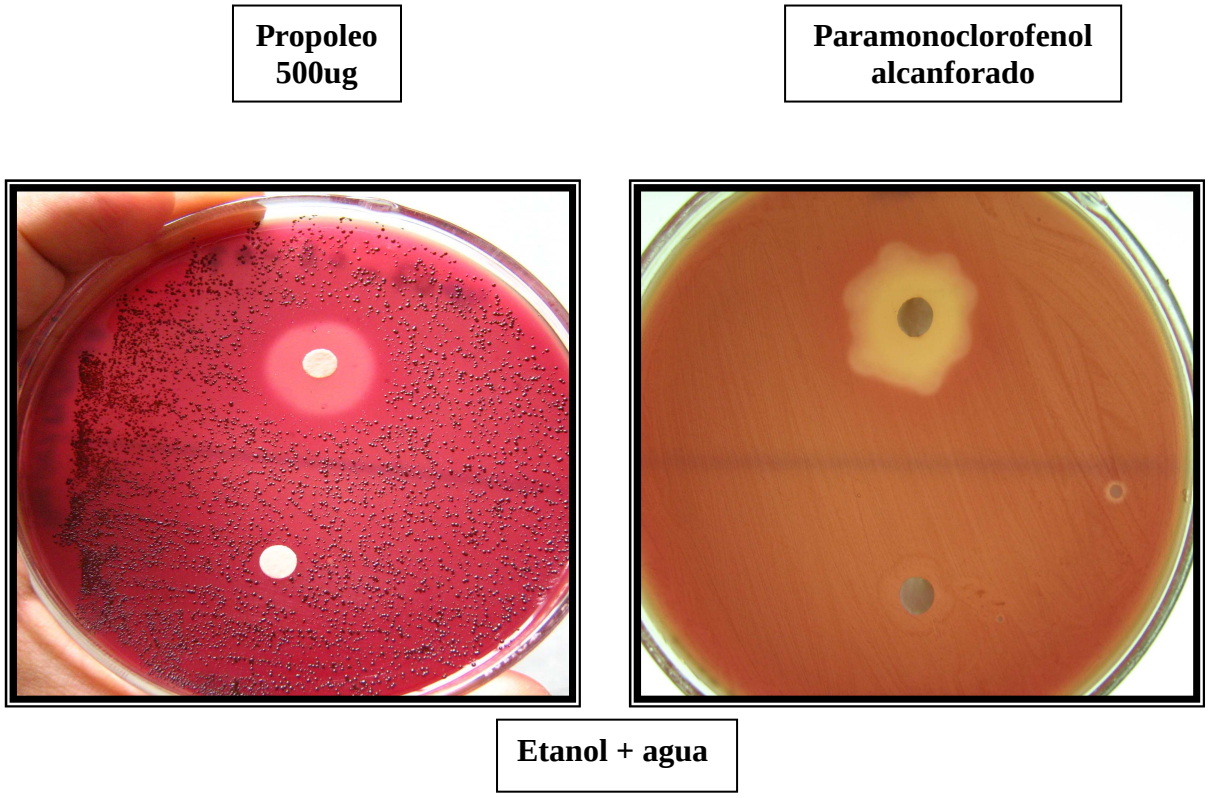


8. Incubadora a 37ºC

PORPHYROMONA GINGIVALIS

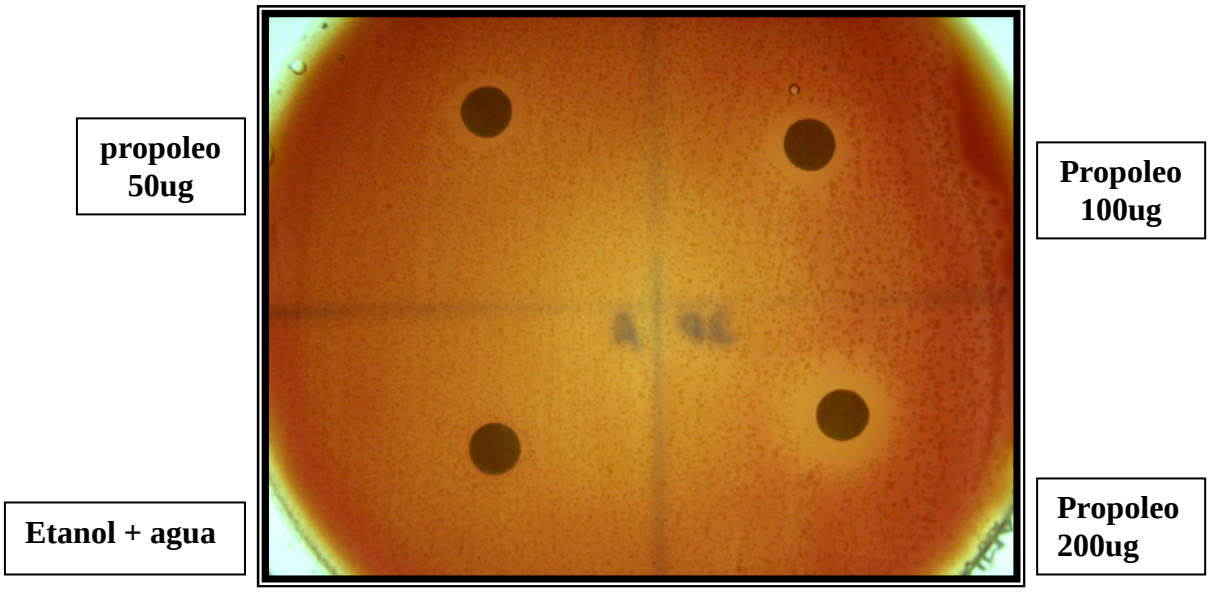


9. Halos de inhibición formados a las 72 horas de incubación

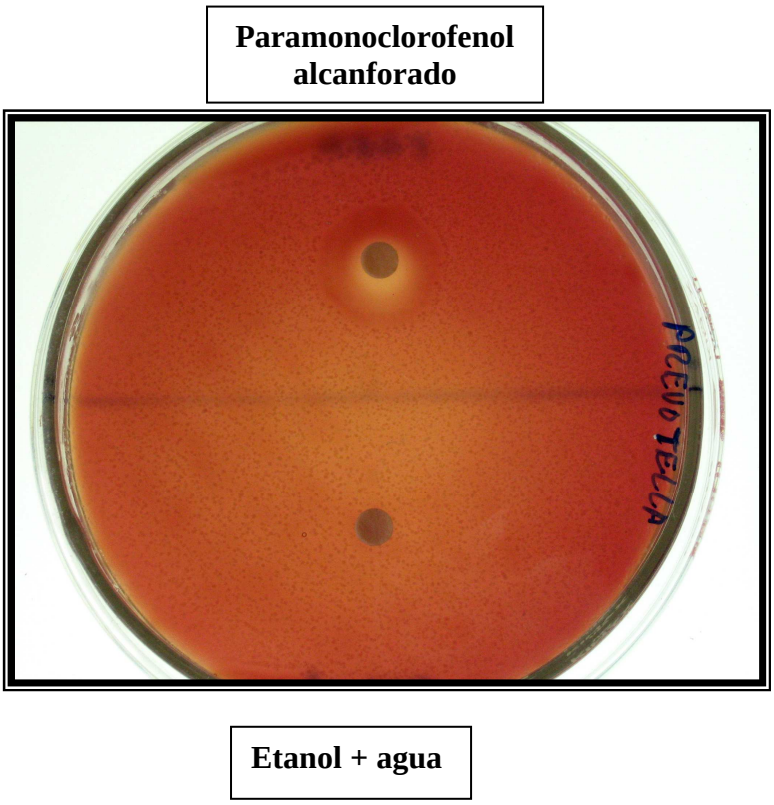


10. halos de inhibición formado a las 72 horas de incubación

PREVOTELLA MELANOGENICA

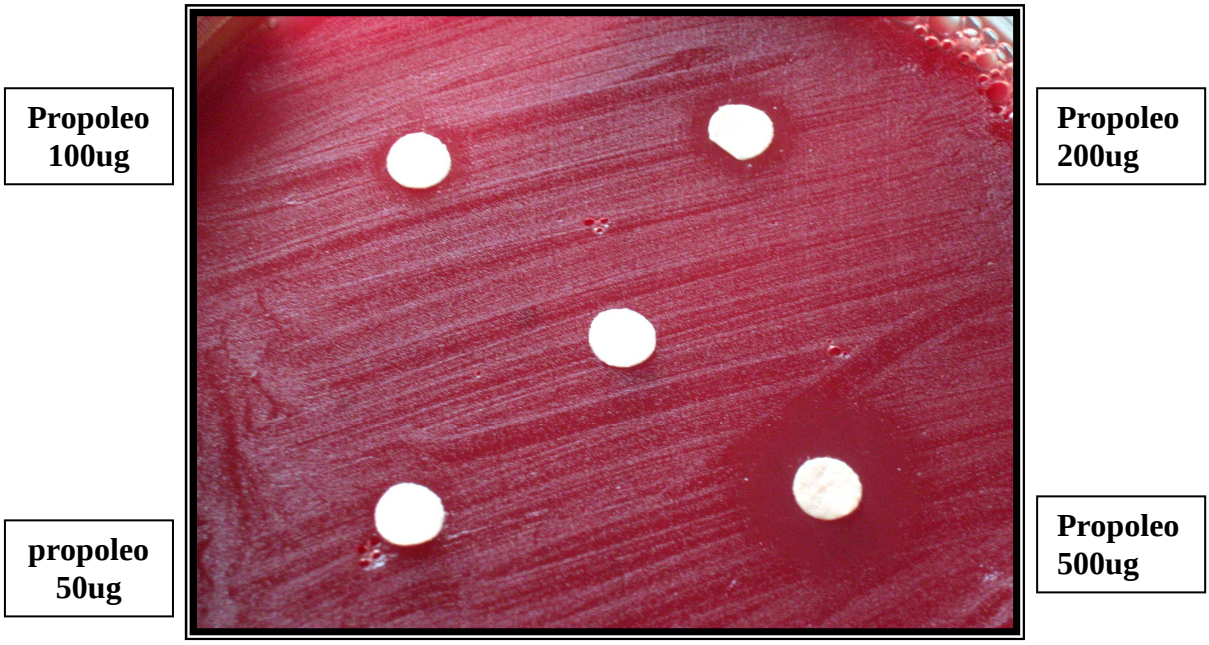


11. halos de inhibición a las 72 horas de incubación

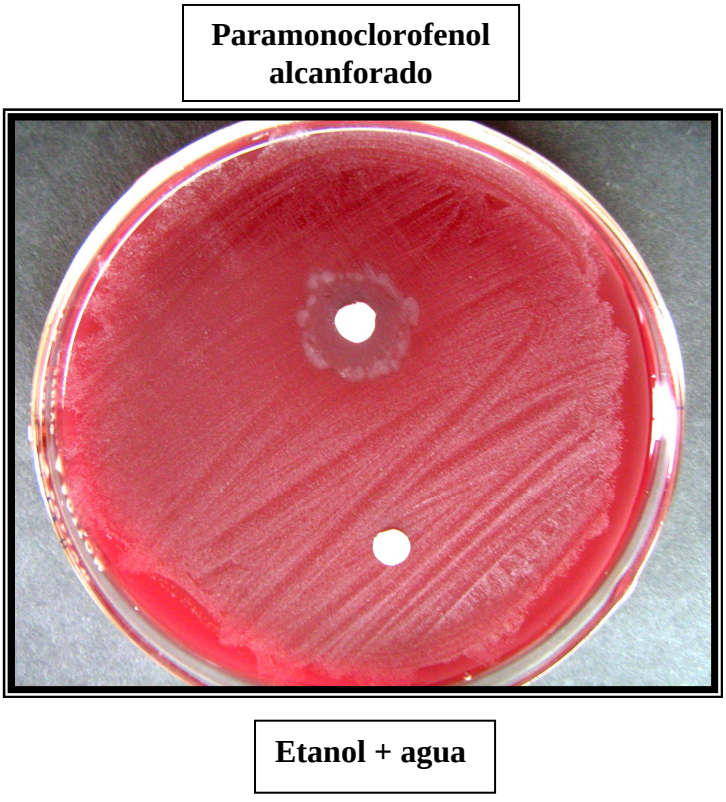


12. halos de inhibición formados a las 72 horas de incubación

PEPTOSTREPTOCOCCUS ANAROBIUS

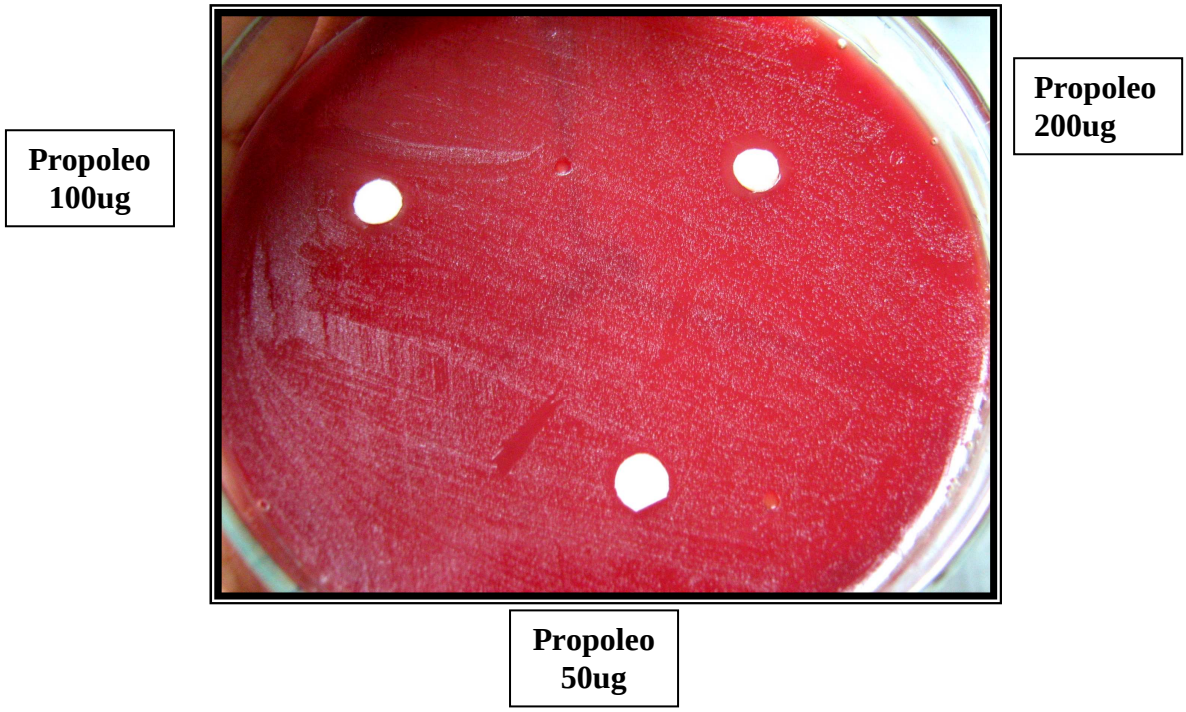


13. halos de inhibición formados a las 24 horas de incubación

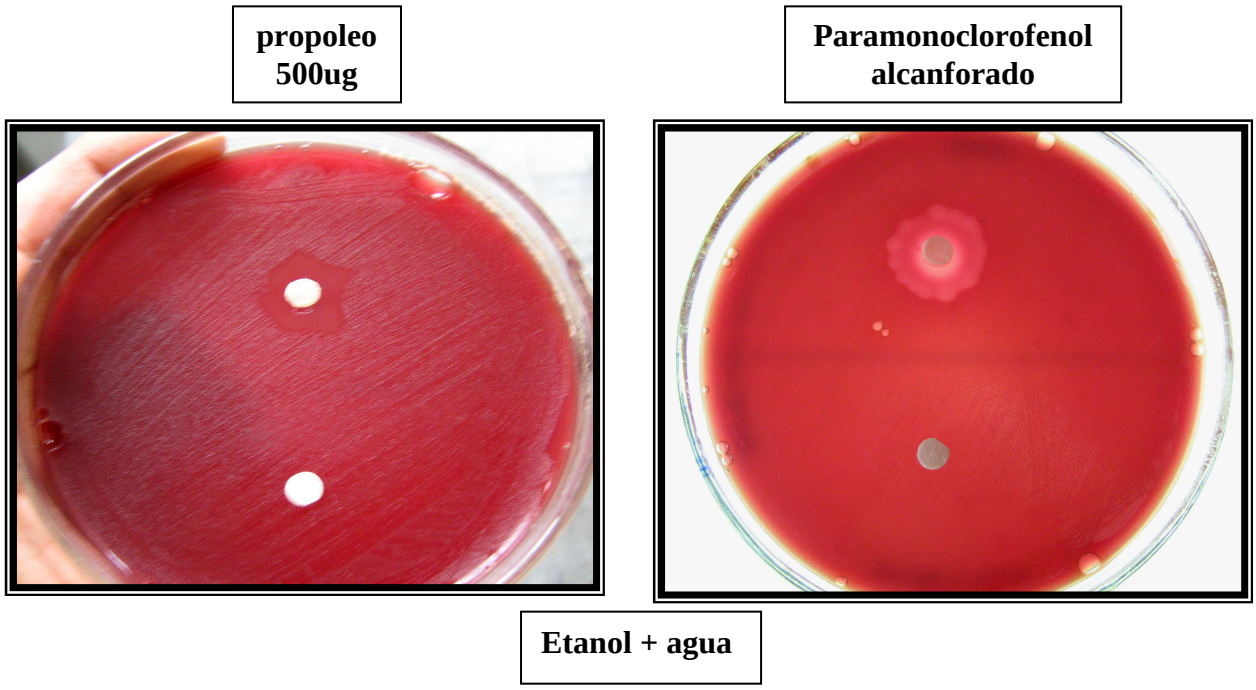


14. halos de inhibición formados a las 24 horas de incubación

ACTINOMYCES ODONTOLYTICUS



15. halos de inhibición formados a las 24 horas de incubación



16. halos de inhibición formados a las 24 horas de incubación