



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“EVALUACIÓN DE UN COLUTORIO BUCAL ELABORADO CON
PROPÓLEO MEXICANO PARA EL TRATAMIENTO DE LA
PERIODONTITIS ESTADIO I, GRADO B: ESTUDIO DE CASO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA
JIMENA AIME SALDIVAR GUDIÑO

DIRECTOR: ESP. ABEL GÓMEZ MOREN

DICTAMINADORES: DRA. MARÍA MARGARITA CANALES

MARTÍNEZ

ESP. IVAN GARCÍA GUERRERO.



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*Nunca consideres el estudio como una obligación,
sino como una oportunidad para penetrar en el bello
y maravilloso mundo del saber.*

Albert Einstein



*Dime y lo olvido, enséñame y lo recuerdo,
involúcrame y lo aprendo.*

Benjamín Franklin



AGRADECIMIENTOS.

Al laboratorio de Farmacognosia de la Unidad de Biotecnología y Prototipos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por dejarme realizar mi experimento para el presente trabajo.

Al programa de la Sonda Florida (Florida Probe Corporation, Gainesville, Florida, EE. UU.); ubicada en la Clínica Odontológica Iztacala, por la información y el apoyo brindado en la elaboración del análisis periodontal del paciente.

Mi más sincero agradecimiento al Esp. Abel Gómez Moreno, por aceptar la dirección y por apoyarme en la elaboración del presente trabajo. Gracias por la paciencia que me tuvo todo este tiempo, por guiarme hasta el momento de llegar al resultado final después de tantas ideas que iban y venían, por explicarme todas las dudas por más obvias que fueran. Por facilitarme los recursos y medios necesarios.

Un agradecimiento especial a la Dra. María Margarita Canales Martínez, por aceptar ser mi asesora de tesis, por aceptarme dentro del laboratorio de Farmacognosia, enseñarme tantas cosas, por brindarme los recursos necesarios dentro del mismo, tenerme la paciencia, y por explicarme aquellas cosas que yo desconocía.

De igual manera un agradecimiento al Esp. Iván García Guerrero, Esp. Juan Ángel Martínez Loza y Esp. Luisa Adriana López Osuna, por haber aceptado ser asesores del presente trabajo y por sus valiosas correcciones y observaciones al respecto.

A todos y cada una de las personas que conocí en mi estancia en el laboratorio de Farmacognosia; Dra. Ana, por sus explicaciones, apoyo y paciencia en cada uno de los procedimientos que realicé para dicho trabajo, y también gracias por su amistad.

A Uriel, Juan, Paola, David, por nombrar algunos de todas las personas increíbles que pude conocer, gracias por hacer sentirme parte del laboratorio, por ayudarme siempre en lo que me llegará a costar trabajo, por enseñarme el mundo de la biología, pero sobre todo gracias por su amistad.

A mis compañeros del servicio social, Alondra, Fernanda, Katsi, por el apoyo brindado, tomar fotos, asistirme en la recolección de muestras, o de igual manera tener siempre unas palabras positivas que me ayudaban a buscar la fuerza para seguir adelante, gracias por todo. Los quiero.

DEDICATORIAS.

A mis padres por siempre estar para mí, sin importar lo que fuera por siempre apoyarme en las decisiones que tomo, por todos esos esfuerzos que realizaron y que siguen haciendo para que yo crezca en todo sentido, como persona, en conocimiento, por ser los pilares principales de mi vida. A mi papá Jaime por ser el mejor papá, por todo tu esfuerzo para que yo llegara hasta este punto, por esos desvelos que nos llevamos durante la carrera donde a veces ninguno de los dos dormía, por siempre estar conmigo, gracias por estar conmigo y para mí. A mi mamá Carmen por siempre escucharme, aguantar mis cambios de humor, por siempre recibirme con un abrazo y un beso. Este trabajo es por y para ustedes. Gracias a los dos por ser mis padres, los amo.

A mi hermana Daniela, por esas risas que nunca faltan por ese apoyo que me das, por siempre estar preocupada por mí, esas porras que siempre me echas cuando estoy haciendo algún trabajo importante, por siempre ser mi conejillo de indias. Eres el tesoro más grande que me pudieron dar mis papás, te quiero.

A mis abuelos (Isabel, Guillermo), a mis tíos (Raquel, Sergio, José y Atziri), porque estuvieron y están para mí, por echarme porras, por decirme “tu puedes”, por ser mis pacientes en algún momento, por siempre mostrar interés en cómo me iba, por escucharme, aguantar mis cambios de humor.

A mi abuelo Chinto (q.p.d), una persona que fue muy importante en mi vida, por siempre estar conmigo, haber sido mi amigo, y mi cómplice. Por haberme dado ánimos, y siempre hacerme compañía, cuando llegaba tarde de la escuela al quedarse sentado a la mesa conmigo contándome alguna historia mientras comía, por escuchar mis aventuras, porque siempre tuviste una palabra positiva y agradable para mí, simplemente por ser mi abuelo. Te extraño mucho.

Médico Cirujano Víctor Plata, por enseñarme el mundo de la medicina, por todo aquello que me enseñó durante mi estancia en el Laboratorio de Platinación y Museografía Biomédica, usted que me dio uno de los primeros empujoncitos para alentarme a realizar una tesis, gracias, esas palabras que me dio aquel día que lo fuí a visitar, las he tenido muy presente y nunca las voy a olvidar.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	9
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	11
RESUMEN	12
JUSTIFICACIÓN	37
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	37
HIPÓTESIS	37
OBJETIVO GENERAL.....	38
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
MATERIALES Y MÉTODOS	39
1) SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN	40
2) MUESTRAS	42
3) COLUTORIO BUCAL DE PROPÓLEO MEXICANO (CHIHUAHUA).....	43
4) CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEO DE CHIHUAHUA IN VITRO.....	44
5) PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD.....	48
6) AISLAMIENTO DE CÁNDIDAS.....	49
7) IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDAS.....	49
8) EVALUACIÓN FINAL DEL TRATAMIENTO (IN VIVO).	50
RESULTADOS.....	51
ANÁLISIS DESCRIPTIVO CLÍNICO.....	51
ANÁLISIS DESCRIPTIVOS IN VITRO.....	54
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES.....	70
APÉNDICES	71
APÉNDICE 1: ANÁLISIS PERIODONTAL MEDIANTE EL PROGRAMA DE LA SONDA FLORIDA (FLORIDA PROBE CORPORATION, GAINESVILLE, FLORIDA, EE. UU.).....	71
APÉNDICE 2: PRIMER PERIODONTOGRAMA OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS PERIODONTAL DE LA SONDA FLORIDA (ESTADO INICIAL DEL PACIENTE.....	73
APÉNDICE 3: DIVISIÓN DE LA CAVIDAD ORAL PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	74
APÉNDICE 4: MUESTRAS.....	75

APÉNDICE 5: CALDO MÜELLER-HINTON	78
APÉNDICE 6: CALDO SABOURAUD	79
APÉNDICE 7: MEDIOS DE CULTIVO	80
APÉNDICE 9: PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD.....	83
APÉNDICE 10: AGAR BIGGY.....	85
APÉNDICE 11: TÉCNICA DE ESTRÍA POR AGOTAMIENTO.....	86
APÉNDICE 12: IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDAS.....	88
APÉNDICE 13: SEGUNDO PERIODONTOGRAMA OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS PERIODONTAL DE LA Sonda FLORIDA (ESTADO FINAL DEL PACIENTE).....	91
APÉNDICE 14: ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	92
REFERENCIAS	101

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

ILUSTRACIÓN 1. JERARQUÍA DEL ECOSISTEMA.....	14
ILUSTRACIÓN 2. COMPLEJOS MICROBIANOS DE SOCRANSKY (1998).....	17
ILUSTRACIÓN 3. RELACIÓN HIPOTÉTICA ENTRE LA ADICIÓN DE ESPECIES DURANTE LA SUCESIÓN MICROBIANA QUE CONDUCE AL DESARROLLO DE LA INFECCIÓN.....	19
ILUSTRACIÓN 4. EJEMPLOS DE PERIODONTOGRAMAS.....	32
ILUSTRACIÓN 5. ESQUEMA DE FASES DE TRATAMIENTO CLÍNICO.....	40
ILUSTRACIÓN 6. MUESTRAS ETIQUETADAS, RECOLECTADAS Y SELLADAS. CON CONTROL POSITIVO.....	43
ILUSTRACIÓN 7. INÓCULO BACTERIANO (ANTES Y DESPUÉS DE 24 H DE ENCUBACIÓN.....	45
ILUSTRACIÓN 8. INÓCULO MICÓTICO (ANTES Y DESPUÉS DE 48H DE ENCUBACIÓN).....	46
ILUSTRACIÓN 9. CALDO MÜELLER-HINTON Y AGAR MÜELLER-HINTON.....	47
ILUSTRACIÓN 10. CALDO SABOREAUD Y AGAR PDA.....	47
ILUSTRACIÓN 11. RESÚMEN GRÁFICO DEL ESTADO PERIODONTAL INICIAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).....	52
ILUSTRACIÓN 12. EVALUACIÓN DE RIESGO PERIODONTAL INICIAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).....	53
ILUSTRACIÓN 13. EVALUACIÓN DE RIESGO PERIODONTAL FINAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).....	54
ILUSTRACIÓN 14. COMPARACIÓN DEL TUBO CONTROL CON TUBOS QUE PRESENTARON CRECIMIENTO MICROBIANO.....	55
ILUSTRACIÓN 15. CULTIVOS DE CUARTAS MUESTRAS QUE PRESENTARON CRECIMIENTO BACTERIANO.....	55
ILUSTRACIÓN 16. CULTIVOS DE CUARTAS MUESTRAS QUE NO PRESENTARON CRECIMIENTO BACTERIANO.....	56
ILUSTRACIÓN 17. CULTIVOS DE TERCERAS MUESTRAS, SEMBRADAS EN AGAR BIGGY QUE PRESENTARON CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS.....	56
ILUSTRACIÓN 18. CULTIVOS DE TERCERAS MUESTRAS SEMBRADAS EN AGAR BIGGY QUE NO PRESENTARON CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS.....	57
ILUSTRACIÓN 19. CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS EN CROMAGAR.....	57
ILUSTRACIÓN 20. REPRESENTACIÓN DE LA INSERCIÓN VERTICAL DE LA SONDA FLORIDA. ..	71
ILUSTRACIÓN 21. REPRESENTACIÓN DE LA SEPARACIÓN DE LA SONDA FLORIDA, HASTA HACER CONTACTO CON EL HUESO.....	72
ILUSTRACIÓN 22. PERIODONTOGRAMA INICIAL DEL PACIENTE, OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA SONDA FLORIDA.....	73
ILUSTRACIÓN 23. ÁREAS EN LAS QUE FUÉ DIVIDIDA LA CAVIDAD ORAL PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	74
ILUSTRACIÓN 24. IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS.....	75
ILUSTRACIÓN 25. AISLADO DEL ÁREA DONDE SE TOMARÁ LA MUESTRA.....	75
ILUSTRACIÓN 26. SECADO DEL ÁREA.....	76

ILUSTRACIÓN 27. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS CON CURETAS.....	76
ILUSTRACIÓN 28. DEPÓSITO DE LA MUESTRA EN CALDO M-H.	76
ILUSTRACIÓN 29. SELLADO DE LAS MUESTRAS CON PAPEL PARAFILM.....	77
ILUSTRACIÓN 30. ETIQUETADO DE CAJAS PETRÍ CONFORME AL NÚMERO DE MUESTRA AL QUE CORRESPONDIERA.	82
ILUSTRACIÓN 31. ESQUEMA, TÉCNICA DE ESTRIA CERRADA (3 DIRECCIONES).	82
ILUSTRACIÓN 32. DISTRIBUCIÓN DE SENSIDISCOS.....	83
ILUSTRACIÓN 33. ETIQUETADO DE CAJAS CON AGAR BIGGY CONFORME A LA MUESTRA CORRESPONDIENTE.	86
ILUSTRACIÓN 34. PRIMER GRUPO DE ESTRIAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMIENTO.	86
ILUSTRACIÓN 35. SEGUNDO GRUPO DE ESTRIAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMIENTO.	87
ILUSTRACIÓN 36. TERCER GRUPO DE ESTRIAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMEINTO.	87
ILUSTRACIÓN 37. CULTIVO QUE PRESENTARON CRECIMIENTO DE CANDIDAS.....	90
ILUSTRACIÓN 38. RESULTADOS FINAL DE IDENTIFICACIÓN DE CANDIDAS.....	90
ILUSTRACIÓN 39. PERIODONTOGRAMA FINAL DEL PACIENTE MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA SONDA FLORIDA.	91

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. NUEVA CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES PERIODONTALES (2017).....	23
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LA ENCÍA SEGÚN MARIOTTI (1999)	25
TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LA PERIODONTITIS SEGÚN LOS ESTADIOS DEFINIDOS POR LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD (SEGÚN EL NIVEL DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN INTERDENTAL CLÍNICA, PÉRDIDA RADIOGRÁFICA DE HUESO Y PÉRDIDA DE DIENTES), COMPLEJIDAD Y DISTRIBUCIÓN.	28
TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE LA PERIODONTITIS SEGÚN LOS GRADOS QUE REFLEJAN LAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD, INCLUIDA LA EVIDENCIA O EL RIESGO DE PROGRESIÓN RÁPIDA, LA RESPUESTA ANTICIPADA AL TRATAMIENTO Y LOS EFECTOS EN LA SALUD SISTÉMICA.	29
TABLA 5. RESUMEN DE ANÁLISIS PERIODONTAL.....	51
TABLA 6. ÓRGANOS DENTALES SELECCIONADOS PARA TOMA DE MUESTRAS.	74
TABLA 7. CÓDIGO DE COLORES DE CHROMOAGAR.....	89

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1. DIENTE-TRATAMIENTO (BACTERIAS).....	58
GRÁFICA 2. MUESTRA-TRATAMIENTO (BACTERIAS).....	59
GRÁFICA 3. MUESTRA-DIENTE (BACTERIAS).....	60
GRÁFICA 4. DIENTE (HONGOS).....	61
GRÁFICA 5. ACTIVIDAD IN VITRO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS LEVADURAS DE LA MUESTRA DEL PACIENTE.....	62
GRÁFICA 6. DIENTE-TRATAMIENTO (HONGOS).....	63

RESUMEN

1)

El ecosistema oral es uno de los más complejos del cuerpo humano, conformado por microorganismos como bacterias, hongos y virus los cuales van a subsistir en armonía en la cavidad oral, en el momento que se altera alguna característica en la que se encuentra van a convertirse en causa de diferentes enfermedades de la cavidad oral, por ejemplo, las bacterias pueden ser causa de caries, enfermedad periodontal en sus diferentes estados (gingivitis o periodontitis), causado por formación de biofilm, en el caso de hongos son causa de candidiasis orales. Se han identificado alrededor de 400 especies diferentes de bacterias y 75 tipos distintos de hongos en la cavidad oral. El propóleo por sus componentes activos, ácidos aromáticos y compuestos fenólicos cuenta con propiedades antioxidante, antibacteriana, antimicótica, inmunomoduladora etc.

Es importante destacar que se han realizado pocos estudios sobre el propóleo mexicano de Chihuahua (utilizado para este estudio), los cuales han sido in vitro con cepas de bacterias de catálogo, pero no uno aplicado a un tratamiento dental como es en este caso. El objetivo principal es determinar la actividad antimicrobiana de un colutorio de propóleo mexicano para el tratamiento de la periodontitis, estadio I, grado B.

METODOLOGÍA: Se seleccionó un paciente con enfermedad periodontal, mediante un sondeo periodontal con el programa de la Sonda Florida (Florida Probe Corporation, Gainesville, Florida, EEUU), en este caso paciente con periodontitis, estadio I, grado B, se realizaron 4 tomas de muestras: 1. Como llega el paciente, 2. A los 10 min, después de aplicar un enjuague con colutorio de propóleo al 5% (20 gotas de concentrado en 20 ml de agua), 3. Una semana después de la primera cita, aplicando el tratamiento de colutorio durante la semana previa, 4. Muestras de evolución con dos semanas de tratamiento con colutorio, y se realizó un segundo sondeo periodontal con la Sonda Florida, para las pruebas in vitro, las muestras

tomadas de paciente se colocaron en medio de cultivo caldo Müller-Hinton, se encubaron por 24 h a 36°C, se realizaron cultivos en Agar Müller-Hinton, con prueba de susceptibilidad con concentraciones de propóleo a 4 mg/sensidisco, 8 mg/sensidisco y utilizando como grupo control cloranfenicol, se encubaron por 24 h a 36°C. y se midieron halos de inhibición. Para pruebas con hongos, de las muestras en Caldo Müller-Hinton se tomaron 500 µl y se colocaron en caldo Saboreau, se encubaron por 48hrs a 36°C, se realizaron cultivos en Agar PDA, y se realizó prueba de susceptibilidad con propóleo a 4 mg/sensidisco y 8mg/sensidisco, utilizando como control positivo nistatina, se encubaron por 48 h a 36°C, Para diferenciación de Cándidas se realizaron cultivos de las cepas de terceras muestras en Agar Biggy, incubando por 48 h a 36°C, para la identificación de Cándidas de realizaron cultivos de tres cepas de cultivos en Agar Biggy en Chromagar.

RESULTADOS: El paciente con los resultados obtenidos del análisis periodontal, presentó riesgo periodontal alto al inicio del estudio, y como resultado final presentó riesgo periodontal medio, registrando una mejora del 14% general. En muestras in vitro, presentó una disminución en el tamaño y número de colonias de bacterias. La identificación de Candidas mostró presencia de *Candida albicans* y *C. Krusei*. Por último, el análisis de varianza (Anova) se observaron diferencias significativas de ($P < .01$) entre las gráficas de las medidas de halos de inhibición, frente a las diferentes pruebas aplicadas, (tratamiento, muestras y tiempo) tanto para el caso de bacterias como para el caso de hongos (levaduras).

Conforme a los resultados obtenidos, es perceptible la capacidad antimicrobiana del propóleo de Chihuahua sobre los microorganismos componentes del biofilm periodontal, en pruebas in vivo e in vitro.

Palabras clave: enfermedad periodontal, propóleo mexicano, biofilm periodontal.

INTRODUCCIÓN

ECOLOGÍA

La ecología (*oikos*= casa) está relacionada con las interrelaciones entre microorganismos y su ambiente. [1] Un concepto clave de “ecología microbiana” es el “ecosistema” refiriéndose a un complejo de organismos en un entorno específico con el que están asociados los microorganismos. Para determinar la jerarquía de los microorganismos en un ecosistema se sabe que los organismos que habitan en un sitio determinados constituyen una comunidad, y a su vez el conjunto de comunidades está formada por poblaciones de especies microbianas individuales. El hábitat es el sitio en el que una población crece, se reproduce y sobrevive. El rol de los organismos en el hábitat es su nicho, el cual no implica ubicación, sino función [2] (Ilustración 1).

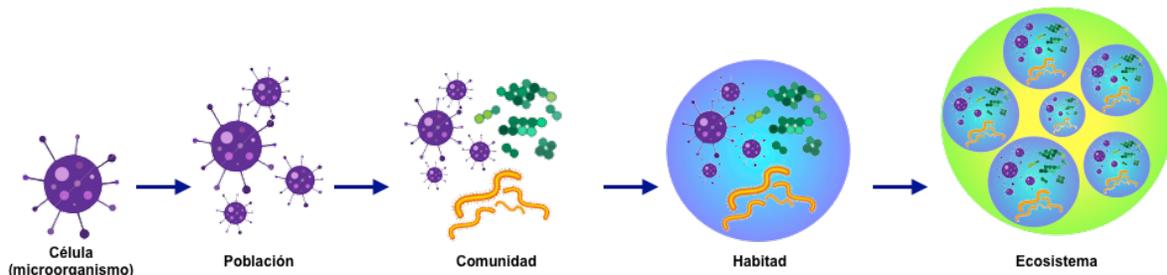


ILUSTRACIÓN 1. JERARQUÍA DEL ECOSISTEMA.

A lo largo de la vida humana, las superficies del cuerpo están expuestas a la colonización de una amplia gama de microorganismos. Donde cada tipo de flora microbiana establecida vive en armonía con el huésped. Un ejemplo claro es la cavidad bucal, un gran ecosistema del cuerpo humano que está formado por distintos hábitats de diferentes microorganismos todos conformando una comunidad clímax adecuada al estado en el que se encuentren. Estos colonizan los tejidos

blandos, (encías, mejillas) y tejidos duros (órganos dentales presentes) desde el nacimiento hasta la muerte [3,4].

ECOLOGÍA ORAL

Los seres humanos son colonizados por una gran variedad de poblaciones de bacterias, hongos y virus, también es habitada por gérmenes, encima y por debajo del margen gingival, cuando están en estado saludable y en el desarrollo de la enfermedad, las interacciones entre las distintas poblaciones pueden ser beneficiosas o perjudiciales para el huésped [5]. Por lo tanto, entender el microbioma bucal es muy complejo, debido a la gran variedad de microorganismos en el hábitat, que van a depender de sus distintas características como: la cantidad de oxígeno, disponibilidad de nutrientes, temperatura, factores inmunológicos y las características anatómicas [6].

Se estima que el microbioma humano comensal supera en número la cantidad de células del cuerpo humano $\times 10$, generalmente se llega a percibir cuando el equilibrio entre microbiota y el huésped es mayor y la enfermedad comienza a manifestarse. Por ellos es necesaria el conocimiento y la comprensión tanto del microbioma como las características clínicas del periodonto sano, así como de la manifestación en presencia de enfermedad en sus diferentes etapas [6,7].

BACTERIAS

Alrededor de 400 especies diferentes de bacterias que son capaces de colonizar la boca y cualquier persona puede albergar desde 150 o más.

La acumulación y metabolismo de las bacterias sobre las superficies bucales son considerados como la causa primaria de caries dental, gingivitis, periodontitis, infecciones periimplantares y estomatitis. Los depósitos en grandes cantidades están asociados con la enfermedad localizada en tejidos subyacentes duros y

blandos; Estos depósitos han sido denominados como "placa dental ", "placa bacteriana", "placa microbiana", "biopelícula" o "biofilm" [3].

El biofilm, da protección a las especies a partir de factores ambientales, facilitando el procesamiento y absorción de nutrientes, alimentación cruzada y remoción de productos metabólicos potencialmente dañinos [8]. Las bacterias cuentan con la propiedad de adherirse a las superficies (propiedad general de casi todas las bacterias), dependiendo de las interacciones, entre la superficie por colonizar, los microorganismos y el medio líquido. En el caso del biofilm dental, después de la inmersión de un sustrato sólido en el medio líquido de la cavidad bucal (saliva) o después de la limpieza de una superficie sólida, habrá una interacción entre moléculas y células, implicadas en la adhesión del microorganismo a la superficie dental mediante adhesinas bacterianas, en conjunto con macromoléculas hidrofóbicas comienzan a absorberse a la superficie; formando una película adecuada "película adquirida".

Al incrementar la masa bacteriana se llevará a cabo el proceso de agregación adheridos y así promoviendo posteriormente la coagregación [3,9].

Socransky y colaboradores, mediante la técnica de checkerboard (hibridación de ADN- ADN), encontraron la relación existente entre bacterias colonizadoras de la cavidad oral, con el hábitat y periodonto y poder determinar cómo los cambios en el hábitat afectan la comunidad y como la comunidad afecta el hábitat. En 1998 propusieron los "Complejos Microbianos de Socransky", donde agruparon a las bacterias del biofilm de acuerdo con el estado del desarrollo de placa bacteriana y gravedad de la enfermedad periodontal, mediante un código de colores.

Las especies detectadas al inicio de la formación de placa y normalmente presentes en el surco gingival de pacientes sanos fueron agrupadas en los complejos amarillo y verde, la presencia de estas especies bacterianas, condicionan el ambiente para

la sucesión de especies del complejo naranja, las cuales están directamente implicadas en la formación de periodontitis. En el quinto complejo (morado) se encuentran agrupadas especies de *Actinomyces odontolyticus* y *Veillonella parvula*. Las especies más patógenas (virulentas) se ubicaron en un complejo rojo [10] (Ilustración 2).



ILUSTRACIÓN 2. COMPLEJOS MICROBIANOS DE SOCRANSKY (1998).

SUCESIÓN MICROBIANA

En un ecosistema en desarrollo, los primeros colonizadores (colonizadores primarios) [9], serán reemplazados, después de haber alterado el hábitat, y adecuado la adhesión de bacterias más aptas a las nuevas condiciones.

Existen dos tipos de sucesión microbiana.

- 1) Sucesión autógena: Se produce después de que las poblaciones residentes alteran el entorno de tal manera que son reemplazadas por especies más adecuadas para el hábitat modificado.
- 2) Sucesión alogénica: Un tipo de comunidad es reemplazada por otro ya que el hábitat se ve alterado por los cambios en las propiedades físicas o químicas de la región o cambios en el huésped [2]. Por ejemplo: El paso de estado de salud periodontal a un estado de enfermedad (gingivitis). O el paso de un estado de enfermedad a uno más grave (gingivitis- periodontitis) o viceversa (periodontitis – gingivitis- sano).

Con esta sucesión ecológica de la biopelícula hay transición de un ambiente inicial aerobio con abundancia de especies Gram positivas facultativas a otro escaso de oxígeno donde predominarán microorganismos anaerobios Gram negativos. Cada uno con potencial de desplazamiento para formar nuevos nichos. Cuando el ecosistema encuentra un equilibrio adecuado, el biofilm alcanza su madurez. Las zonas más expuestas son más ricas en microcolonias y consorcios acidófilos y aerotolerantes, mientras que, en las zonas más profundas, con condiciones reductoras y baja disponibilidad de oxígeno, proliferan los anaerobios [3].

Los factores que contribuyen a la sucesión son:

- 1) Provisión de un nutriente dando una ventaja ecológica a la especie de la siguiente etapa.
- 2) Disponibilidad de una población de un constituyente presente en un suministro insuficiente para permitir el crecimiento de una población posterior.
- 4) Efecto de autointoxicación.
- 5) Eliminación de un organismo por medios físicos [2].

Según Socransky y colaboradores, los complejos amarillo, verde y morado junto con las especies *Actinomyces* (colonizadores primarios), conducen a una sucesión autógena en la que los componentes del complejo naranja y rojo se vuelven más dominantes conduciendo a un cambio en el hábitat, que se manifiesta clínicamente como gingivitis.

La gingivitis a su vez favorece a otros miembros de la proliferación no solo de los complejos naranja y rojo; sino también a los miembros de las primeras especies colonizadoras (interacción recíproca) [2] (Ilustración 3).

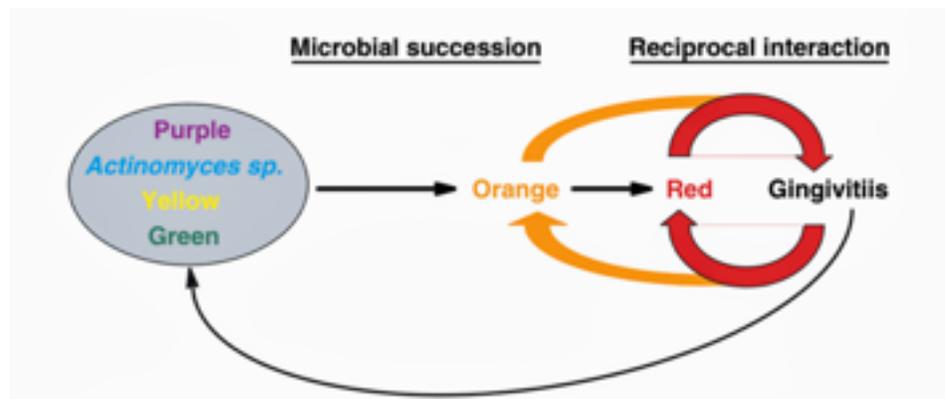


ILUSTRACIÓN 3. RELACIÓN HIPOTÉTICA ENTRE LA ADICIÓN DE ESPECIES DURANTE LA SUCESIÓN MICROBIANA QUE CONDUCE AL DESARROLLO DE LA INFECCIÓN.

HONGOS

Se tiene demostrado que las bacterias son los organismos más estudiados de la cavidad oral, pero también como ya se había mencionado; encontramos a los hongos, son organismos eucariontes, heterótrofos pertenecientes al reino Fungi. Cuentan con un diámetro de 3 a 6 μm , se han encontrado más de 75 distintos tipos, siendo los más abundantes los géneros *Candida*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Aspergillus* y *Malassezia* [9].

Los hongos son dimórficos, es decir, pueden presentar dos tipos de morfología, filamentosa (multicelular) y levadura (unicelular).

Hongos filamentosos (multicelular): Crecen a 25°C, Son denominados como mohos, presentan estructuras en forma de filamentos, microscópicamente se pueden observar cadenas de células cilíndricas denominadas hifas, suelen crecer dando una apariencia algodonosa.

Hongos levaduriformes: Crecen a 37°C, tienen forma ovoide, en placas de colonias suelen ser de tamaño más grande que las colonias de bacterias, presentan color cremoso o rojo [9,11].

Los seres además de ser colonizados por diversas poblaciones de bacterias, también existe una colonización por hongos, tanto cuando el huésped está en estado de salud, así como en estado de enfermedad, dichas interacciones pueden ser beneficiosas o perjudiciales para el huésped.

La especie de hongo más importante, así como la más estudiada es *C. albicans*, aunque también se ha visto que están presentes especies como: *C. krusei*, *C. Parakrusei*, *C. tropicallis*, *C. seudotropicallis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* [5,12].

Candida albicans, es una especie de hongo comensal que coloniza comúnmente las superficies de la mucosa humana, su capacidad para cambiar su morfología entre la levadura y la forma hialina es crucial para su capacidad de adherirse a las superficies y colonizar el tejido. La adherencia de *C. albicans* cuando se agregan simultáneamente con bacterias, indica que los aislados adherentes compiten por los sitios disponibles. En un entorno de biopelícula, las especies microbianas son altamente interactivas y utilizan una gama de sistema de comunicación de célula a célula o de detección de quórum (QS). Este fenómeno para promover el comportamiento colectivo dentro de una población mejora el acceso a nutrientes y nichos, así como a la vez que proporciona una defensa colectiva contra otros organismos competidores [13].

ENFERMEDADES MICROBIANAS DE LA CAVIDAD BUCAL

La cavidad bucal es el hábitat de múltiples microorganismos, principalmente bacterianos, generalmente son comensales de la boca, pero también pueden alojarse microorganismos como virus y hongos. Las infecciones bacterianas más comunes en boca son la caries dental y enfermedad periodontal (gingivitis y periodontitis).

Las enfermedades infecciosas representan una interacción entre población-medio ambiente, involucrando un huésped y un microorganismo con potencial para la colonización y patogénesis.

Desde un punto de vista de ecología, la principal característica que rige un ecosistema es el ser vivo. Donde el huésped debe ser colonizable (receptivo) a la invasión por el agente de la enfermedad particular. No todos los seres vivos son colonizables por todas las bacterias porque existen tres barreras que hacen que haya alta receptividad.

- 1) Las barreras no receptivas del huésped
- 2) Factores asociados con la resistencia del huésped receptivo antes de su primer contacto.
- 3) Los obstáculos para el desarrollo bacteriano o la actividad que aparecen como consecuencia de la infección [2].

La enfermedad periodontal es considerada infecciosa-inflamatoria que se encuentran con más frecuencia dentro de la cavidad oral de las personas son la “gingivitis” y la “periodontitis”, que son reacciones o respuestas inflamatorias de los tejidos periodontales inducidas por los microorganismos presentes en la placa dental, que de acuerdo con su grado de compromiso puede llegar a la pérdida total de los tejidos de soporte de los dientes [8,14].

CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES PERIODONTALES

A lo largo de la historia se han realizado diferentes clasificaciones de la enfermedad, pero con el paso del tiempo, deben ser actualizadas ya que cada vez existían más limitaciones en el diagnóstico debido a la variedad de criterios a tomar en cuenta, en la actualidad se sabe que las enfermedades periodontales tienen una alta prevalencia a nivel mundial, y se han asociado con diferentes factores como la placa y enfermedades sistémicas. Es como en 2007 científicos de la Academia Americana de Periodontología (AAP), junto con la Federación Europea de Periodontología (EFP), desarrollaron una clasificación de las diversas características clínicas y condiciones patológicas de casos de la periodontitis.

Basándose en revisiones comparativas de clasificaciones anteriores y con los cambios establecidos llegaron a la siguiente clasificación. [15] (Tabla 1).

TABLA 1. NUEVA CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES PERIODONTALES (2017)

NUEVA CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES PERIODONTALES 2017	
<p>1. SALUD PERIODONTAL, ENFERMEDADES GINGIVALES / CONDICIONES</p> <p>Salud periodontal y salud gingival</p> <p>A. Salud clínica gingival en un periodonto intactos</p> <p>B. Salud clínica gingival en periodonto reducido</p> <ul style="list-style-type: none"> • Paciente con periodontitis estable • Paciente no periodontal <p>Gingivitis inducida placa</p> <p>A. Asociada solo con placa dental</p> <p>B. Mediada por factores de riesgo locales o sistémicos</p> <p>C. Agrandamiento gingival influenciado por drogas.</p> <p>Enfermedad gingival no asociada a placa dental.</p> <p>A. Transtornos genéticos o de desarrollo</p> <p>B. Infecciones específicas</p> <p>C. Condiciones inflamatorias e inmunes</p> <p>D. Procesos reactivos</p> <p>E. Neoplasias</p> <p>F. Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas.</p> <p>G. Lesiones traumáticas</p> <p>H. Pigmentación gingival</p> <p>2. FORMAS DE PERIODONTITIS</p> <p>Enfermedades Periodontales Necrotizantes.</p> <p>A. Gingivitis necrotizante</p> <p>B. Periodontitis necrotizante</p> <p>C. Estomatitis necrotizante</p> <p>Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas.</p> <p>Periodontitis</p> <p>A. Estadios: basados en la severidad, complejidad</p> <ul style="list-style-type: none"> • Estadio I: periodontitis inicial • Estadio II: Periodontitis moderada • Estadio III: periodontitis severa con potencial de pérdida adicional de dientes. • Estadio IV: periodontitis severa con potencial de pérdida de la dentición. <p>B. Extensión y distribución:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Localizada • Generalizada <p>C. Grados: Evidencia o riesgo de progresión rápida, respuesta anticipada al tratamiento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grado A: progresión lenta • Grado B: progresión moderada • Grado C: progresión rápida. 	<p>3. MANIFESTACIONES PERIODONTALES DE ENFERMEDADES SISTÉMICAS Y CONDICIONES DEL DESARROLLO O ADQUIRIDAS.</p> <p>A. Enfermedades sistémicas o condiciones que afectan los tejidos de soporte del periodonto.</p> <p>B. Otras condiciones periodontales</p> <p>C. Deformaciones gingivales y condiciones alrededor de los dientes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Genotipo gingival • Recesión gingival y tejidos blandos • Falta de encía • Disminución de la profundidad del vestíbulo • Frenillo aberrante/ posición muscular • Exceso gingival • Color anormal • Condición de la superficie ridícula expuesta <p>D. Fuerzas oclusales traumáticas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Trauma oclusal primario • Trauma oclusal secundario • Otras fuerzas <p>E. Prótesis y factores relacionados con ,os sientes que modifican o predisponen a enfermedades gingivales/ periodontitis inducidas por placa.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Factores localizados relacionados con el diente • Factores localizados relacionados con prótesis. <p>4. ENFERMEDADES Y CONDICIONES PERI-IMPLANTARES</p> <p>A. Salud Peri-implantar</p> <p>B. Mucositis Peri-implantar</p> <p>C. Peri-implantitis</p> <p>D. Deficiencias peri-implantares en tejidos duros y blandos.</p>

Tomada de: Caton, J., Armitage, G., Berglundh, T. Et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions-Introduction and key changes from the 1999 classification. *JPeriodontol.* 2018; 89(Suppl 1): S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935. [16]

CARACTERÍSTICAS DEL PERIODONTO SANO

La encía normal clínicamente se va a caracterizar por su color rosado y consistencia firme; el margen gingival con un contorno festoneado, las pailas firmes y sin presencia de sangrado a un sondeo suave y llenan el espacio por debajo del área de contacto, cuenta con una textura como un puntillo (piel de naranja). Por sus características las encías pueden llegar a un estado teóricamente libre de inflamación y lograr una salud clínica y que se encuentre dentro de niveles estándares, ya que para llegar a una encía saludable se requiere de un tratamiento minucioso para llegar a dicho resultado, es así como únicamente se pueden llamar como “clínicamente sanas” cuando cuentan con las condiciones adecuadas alcanzadas por los pacientes que tienen un control estándar de la placa [3].

En 1999 según Mariotti las características de la encía que se deben tomar en cuenta para su diagnóstico son: color, tamaño, forma, consistencia y sangrado [17] (Tabla 2).

GINGIVITIS

Es el resultado de la acumulación de microorganismos y sus productos, con los cuales se va a iniciar la respuesta inflamatoria que puede persistir durante años sin destrucción del ligamento periodontal o evidencia de pérdida ósea. En muchos casos, si el proceso inflamatorio persiste, la gingivitis puede convertirse en periodontitis [9].

Con lo anterior podemos definir la gingivitis como la inflamación de la encía debida a los efectos de los depósitos de biofilm que la irritan e inflaman. [18] Existe aumento en el espesor de la biopelícula y una microbiota más compleja. Se ha postulado que la transición que hay entre la salud y la gingivitis es debido a un crecimiento excesivo de especies Gram positivas [4].

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LA ENCÍA SEGÚN MARIOTTI (1999)

	ENCÍA NORMAL	ENFERMEDAD GINGIVAL
COLOR	Rosa pálido (presencia de pigmentación melaninas en ciertos casos).	Roja / Azul violáceo
TAMAÑO	Adaptada a los cuellos de O.D. Ausencia de bolsas	Pseudo bolsas Crecimiento hacia las coronas
FORMA	Festoneada, papilas ocupando espacios interproximales.	Falta de adaptación a cuellos, pérdida del festoneado
CONSISTENCIA	Firme	Blanda o edematosa
SANGRADO	Ausencia de sangrado al sondeo suave	Sangrado al sondeo suave

Los primeros signos se van a presentar de los 10 a 20 días de acumulación de placa, va a variar dependiendo de las personas. Se presentan con un enrojecimiento de encías, tumefacción, sangrado del tejido blando con el más mínimo toque, también puede aparecer aumento del fluido crevicular, pudiendo llegar al punto de la supuración; en esta etapa, los signos clínicos aún son reversibles, después de la eliminación de placa y aplicación de medidas de control adecuadas [3,14].

Su causa principal va a ser un mal manejo en el control de placa, aunque se sabe que esta enfermedad tiene dos variables que son: gingivitis inducida por placa y la gingivitis por factores sistémicos [11].

La extensión de la gingivitis puede ser clasificada como:

- 4) Localizada (< 30% de sitios afectados).
- 5) Generalizada (> 30% de sitios afectados) [14].

PERIODONTITIS

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria multifactorial crónica asociada con biofilm de placa disbiótica, se caracteriza por la destrucción tisular y pérdida ósea en grados variables y presencia de bolsas periodontales, dependiendo del progreso de la enfermedad, afecta negativamente la estética y la función de la masticación, puede llevar a la pérdida de los dientes y la desigualdad social de discapacidad y perjudicar la calidad de vida [9,19].

La periodontitis se puede clasificar de diferentes maneras, dos de ellas es por su extensión (depende del número de sitios afectados) o por su grado de severidad.

Por su extensión (dependiendo el número de sitios afectados).

- Generalizada (más del 30% de sitios afectados).
- Localizadas (menos de un 30% de sitios afectados) [9,20].

Desde el punto de vista tisular, al profundizar la bolsa la placa continua su crecimiento en profundidad y florece su nicho ecológico anaerobio es decir, las bacterias generan una agresión en las fibras más coronales o fibras transeptales del ligamento periodontal, este daño de fibras es amplio, el epitelio de unión migra apicalmente desde el límite cementoamantino, afectando y destruyendo los tejidos de soporte de los dientes y hay presencia de amplias manifestaciones de lesión tisular inflamatoria [11,21].

Dentro de la nueva clasificación se incorporaron nuevos conocimientos relevantes a su epidemiología etiología y patogénesis y se dividió en:

- 1) la clasificación y el diagnóstico de la periodontitis agresiva
- 2) distribución dependiente de la edad de pérdida de apego clínico
- 3) revisión de datos de progresión de la pérdida de inserción clínica de estudios prospectivos a largo plazo existentes.
- 4) revisión de diagnóstico, patología y representación clínica de las lesiones periodontales (abscesos periodontales, enfermedades periodontales necrotizantes y lesiones endo-periodontales)
- 5) definición de casos de periodontitis [19].

La clasificación incluye 4 estadios los cuales pretenden clasificar la gravedad y el alcance de la enfermedad en cada paciente, según la cantidad medible del tejido de soporte destruido o afectado, así como dientes perdidos por causas periodontales (Tabla 3), así mismo como complemento la nueva clasificación también incluye tres grados de riesgo; Grado A (bajo riesgo), Grado B (riesgo moderado), Grado C (alto grado de riesgo de progresión), además abarca aspectos relacionados con la enfermedad como estado general de salud, si el paciente fuma o no, diabetes. [16] (Tabla 4)

TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LA PERIODONTITIS SEGÚN LOS ESTADIOS DEFINIDOS POR LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD (SEGÚN EL NIVEL DE PÉRDIDA DE INSERCIÓN INTERDENTAL CLÍNICA, PÉRDIDA RADIOGRÁFICA DE HUESO Y PÉRDIDA DE DIENTES), COMPLEJIDAD Y DISTRIBUCIÓN.

PERIODONTITIS ESTADIO		Estadio I	Estadio II	Estadio III	Estadio IV
SEVERIDAD	CAL interdental en el sitio de mayor pérdida	1 a 2 mm	3 a 4 mm	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	Pérdida ósea radiográfica	Tercio coronal (<15%)	Tercio coronal (15% a 33%)	Extensión a tercio medio o apical de raíz	Extensión a tercio medio o apical de raíz
	Pérdida dental	Sin pérdida de dientes por periodontitis		Pérdida de dientes por periodontitis < 4	Pérdida de dientes por periodontitis ≥5
COMPLEJIDAD	Local	Profundidad máxima al sondeo ≤4 mm Principalmente pérdida ósea horizontal.	Profundidad máxima al sondeo ≤5 mm. Principalmente pérdida ósea horizontal.	En adición con el complejo II: Profundidad al sondeo ≥6 mm. Pérdida ósea vertical ≥3 mm. Implicación de furca clase II ó III. Defecto moderado de la cresta.	En adición con el complejo III. • Necesidad de rehabilitación compleja debido a: Disfunción masticatoria • Trauma oclusal secundario (grado de movilidad dental ≥2). • Menos de 20 dientes restantes (10 pares opuestos).
EXTENSIÓN Y DISTRIBUCIÓN	Añadir como descriptor	Para cada etapa, describir la extensión como localizada (< 30 % de los dientes involucrados), generalizada, o patrón molar/incisivo.			

CAL (Clinical Attachment Loss), por sus siglas en inglés pérdida de inserción clínica.

Tomada de: Papapanou, P.N., Sanz, M. et al. Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Clin Periodontol. 2018;45(Suppl 20):S162-S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>. [19]

TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE LA PERIODONTITIS SEGÚN LOS GRADOS QUE REFLEJAN LAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DE LA ENFERMEDAD, INCLUIDA LA EVIDENCIA O EL RIESGO DE PROGRESIÓN RÁPIDA, LA RESPUESTA ANTICIPADA AL TRATAMIENTO Y LOS EFECTOS EN LA SALUD SISTÉMICA.

Grado de Periodontitis			Grado A: Tasa lenta de progresión	Grado B: Tasa moderada de progresión	Grado C: Tasa rápida de progresión
Criterios Primarios	Evidencia directa de progresión	Datos longitudinales (Pérdida ósea radiográfica o CAL).	No hay evidencia de pérdida en 5 años.	< 2 mm en 5 años	≥ 2 mm en 5 años
	Evidencia indirecta de progresión	% Pérdida de hueso / edad.	< 0.25	0.25 a 1.0	> 1.0
Fenotipo de caso		Grandes depósitos de biofilm con bajos niveles de destrucción	Destrucción conmensurada con depósitos de biofilm.	La destrucción supera las expectativas dados los depósitos de biofilm; patrones clínicos específicos que sugieren periodos de progresión rápida y/o enfermedad de inicio temprano (p.e. falta de respuesta de los patrones molares/ incisivos a las terapias de control bacteriano estándar).	
Modificadores de grado.	Factores de Riesgo	Fumador	No fumador	Fuma <10 cigarros / día	Fuma ≥ 10 cigarros / día
		Diabetes	Normoglicemia / no diagnosticado con diabetes	HbA1c <7.0% en pacientes con diabetes.	HbA1c > 7.0% en pacientes con diabetes.

Tomada de: Papapanou, P.N., Sanz, M. et al. Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Clin Periodontol. 2018;45(Suppl 20):S162-S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>. [19]

DIAGNÓSTICO DEL GRADO DE ENFERMEDAD PERIODONTAL

El periodontograma es una herramienta de diagnóstico el cual tiene como objetivo determinar el grado en el que se encuentra la enfermedad periodontal, realizando una presentación gráfica del registro de los hallazgos del examen clínico y periodontal.

Para la realización de dicho diagnóstico se realiza un sondeo periodontal el cual es un proceso que consiste en la evaluación de los tejidos periodontales y en la detección de bolsas periodontales, si existen.

Con el sondeo periodontal se mide la distancia entre el margen gingival a la base del surco gingival, con estas mediciones el cirujano dentista puede diagnosticar el grado de afectación y destrucción del tejido periodontal, es decir de las encías y del hueso que soportan los dientes.

Los parámetros clínicos periodontales que se toman en cuenta son:

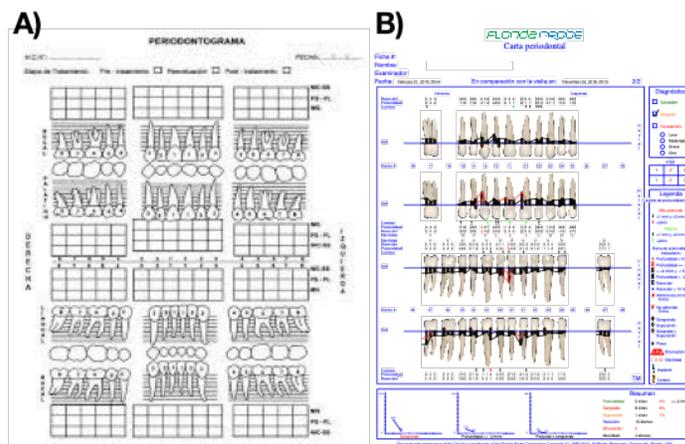
1. Profundidad de sondaje (Ps): Este espacio también puede ser considerado como un “surco” o “bolsa periodontal”, es la distancia comprendida entre la base de la bolsa y el margen gingival, el nivel de inserción es la distancia entre la base de la bolsa y un punto fijo de la corona, como la unión amelocementaria. Los cambios en el nivel de inserción sólo se deben al incremento o la pérdida de inserción y son un mejor indicio del grado de destrucción periodontal [22].
2. Nivel de Inserción Clínica (NIC). Distancia entre base de bolsa periodontal y un punto fijo de la corona (unión amelocementaria) [22].
3. Sangrado al Sondeo (BOP): Se considera un predictor de enfermedad. En un paciente sano, rara vez sangran los tejidos, en la mayoría de los pacientes el sangrado es un signo temprano de inflamación. Según sea la gravedad de la inflamación la hemorragia va a variar [22,14].

4. Línea Mucogingival (LMG): La distancia entre margen gingival y la LMG es útil para calcular la cantidad de encía queratinizada y encía insertada.
5. Movilidad Dental: La movilidad puede ser resultado de enfermedad periodontal si se encuentra fuera de los parámetros de la movilidad fisiológica, para registrar el tipo de movilidad que presentan los órganos dentarios se registra mediante 4 diferentes grados que son:
 - Grado 0: Movilidad fisiológica, 0.1-0.2 mm en dirección horizontal
 - Grado 1: Hasta 1 mm en sentido horizontal
 - Grado 2: Movimiento de las de 1 mm en sentido horizontal
 - Grado 3: Movimiento en sentido vertical y horizontal [14].
6. Pérdida Ósea Radiográfica: Técnica indirecta para establecer la cantidad de pérdida óseas, mostrando la cantidad de hueso remanente. Se estima como la diferencia entre la altura del hueso fisiológico del paciente y la altura del hueso residual [22].

Para su evaluación se usa comúnmente la “sonda periodontal”, es el instrumento de diagnóstico periodontal sirven para localizar, medir y marcar bolsas, además de trazar la trayectoria en las superficies dentarias individuales. El aumento de los niveles de profundidad de sondeo de bolsa y de inserción clínica son sinónimos de progresión de la enfermedad [22].

Se han buscado métodos precisos para medir los cambios en el nivel de inserción con umbrales menores e intervalos de exploración más breves.

Recientemente se han desarrollado sondas automatizadas para superar algunas de las fuentes de error, Estas sondas mejoradas tienen como rasgo común la fuerza controlada, ingreso directo en la computadora y una marca de referencia para reconocer las mediciones de la inserción relativas clínicas, como la sonda florida [3] (Ilustración 4).



A) Periodontograma Universal, utilizado para la valoración periodontal manual
B) Periodontograma obtenido de la Sonda Florida

ILUSTRACIÓN 4. EJEMPLOS DE PERIODONTOGRAMAS.

CANDIDIASIS ORAL (CO)

La candidiasis puede ser definida como la “enfermedad del paciente enfermo”, ya que siempre va a precisar de uno o varios factores facilitadores para poder provocar patología en la boca. Es una infección oportunista de la mucosa de la cavidad oral provocada por hongos del género *Candida* y en la mayoría de los casos, por la especie *Candida albicans*. Las Cándidas, son por parte de la flora bucal en un 25 a 50% de los individuos sanos [23].

En la mayoría de los pacientes, la candidiasis se produce a partir de un reservorio endógeno (oral o digestivo) del propio enfermo.

La patogénesis de la candidiasis oral es compleja e implica a diferentes factores y mecanismos entre hongos y hospedero [24].

La CO según Brady & Walker, 1996; Bagán & Ceballos, 1995; EC-Clearinghouse, 1993, clínicamente se puede clasificar en

- Candidiasis agudas
 - Seudomembranosa
 - Eritematosa
- Candidiasis crónicas
 - Seudomembranosas
 - Eritematosa
 - Leucoplasia (candidiasis nodular).
- Candidiasis asociadas a otras lesiones
 - Quelitis angular o perleche
 - Glositis romboidal media
 - Estomatitis por prótesis [23].

PROPÓLEO

La apicultura en una tradición conocida, principalmente, por la producción de miel, así como de los derivados de la colmena, que son, el polen, la cera, la jalea real, el propóleo y el veneno, productos obtenidos de las colmenas de abejas *Apis mellifera*, todos destacan por sus funciones dentro de la colmena, así como en sus diferentes aplicaciones dentro de las diferentes industrias como la cosmética, farmacéutica y alimentos [25,26].

El propóleo deriva del griego “propolis” que significa “pro”- defensa y “polis”- ciudad o comunidad (colmena); fue utilizado por primera vez en medicina por los egipcios, continuado por los griegos y romanos. Es mejor conocido como el “pegamento azul”, es una mezcla de resinas, las abejas lo utilizan para la construcción de las colmenas, sellando grietas y agujeros, conserva la temperatura interna de las colmenas (35°C), evita la invasión de los depredadores; además contribuye a un ambiente interno aséptico [27,28,29].

Tiene numerosas aplicaciones dentro de la medicina para el tratamiento de diversas enfermedades debido a que posee propiedades antisépticas, vasodilatadoras, antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, antiulcerosas, anticancerígenas e inmunomoduladora [28].

Considerado el tercer componente más importante de los productos de las abejas. Su composición química básica del propóleo consta de resinas y bálsamos (50%), cera (30%), aceites esenciales (10%), polen (5%), y otros compuestos orgánicos (5%). Contiene vitaminas como la B1, B2, B6, C y E; minerales como magnesio (Mg), calcio (Ca), potasio (K), sodio (Na), cobre (Cu), zinc (Zn), manganeso (Mn) y hierro (Fe); enzimas, glucosa-6-fosfatasa, adenosina trifosfatasa y la fosfatasa ácida [28].

Los componentes más activos del propóleo son los ácidos aromáticos y compuestos fenólicos. La galangina (actividad antibacterial y antiviral), pinocembrina y pinostrobina son conocidos como los agentes flavonoides más eficaces contra bacterias. El ácido ferúlico y el ácido caféico contribuyen a la acción bactericida del propóleo. Pero la composición de los propóleos dependerá de sus orígenes geográficos y botánicos [11,30,31].

Dentro del campo de la odontología, la cavidad oral con su abundante microbiota bacteriana y un crecimiento bacteriano excesivo que conducen a las enfermedades orales. La aplicación de propóleos contra dichos microorganismos orales puede ser beneficiosa para mejorar la salud oral. Se dice que el extracto de propóleo es menos tóxico sobre los fibroblastos, comparado con sustancias sintéticas (clorhexidina) [32]. También se ha demostrado que propóleos como el de Brasil, se han utilizado en la aplicación como el alivio de úlceras y estomatitis de la dentadura postiza, absceso de bolsas periodontales etc., tratamiento de liquen plano, infecciones por candida, quelitis angular, xerostomía, úlceras traumáticas ortodónticas, erupción dentaria, recubrimiento pulpar, restauraciones temporales y apósitos cubriendo preparaciones dentales, apósitos post-extracción [27].

PROPÓLEO MEXICANO

En México la apicultura genera alrededor de 100 mil empleos directos y se produce más de 57 toneladas de miel al año, siendo Yucatán el principal productor con más de 8 mil toneladas [33].

Por sus diferentes tipos de climas y flora que influyen en la composición de recursos de néctar y polen, México está definido en 5 regiones apícolas bien definidas (norte, costa del pacífico, golfo, altiplano y sureste o península de Yucatán), es como la

variedad de mieles, así como los demás productos (propóleo) van a depender de sus características como, humedad, color, aroma y sabor.

Región del Norte.

Caracterizada por la excelente miel que produce, principalmente mezquite, de donde se produce miel extra clara ámbar, los estados que integran esta zona son: Baja California, Baja California Sur, Sonora, Chihuahua, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León, parte del norte de Tamaulipas y altiplano de San Luis Potosí. La producción de este producto en México es muy limitada y de no muy buena calidad, principalmente por su técnica de producción [34].

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe una amplia gama de estudios realizados sobre las propiedades medicinales y su aplicación de los distintos propóleos de diferentes países del mundo, arrojando resultados positivos en actividades como son antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, antimicótica etc.

Pero pocos estudios están enfocados en los propóleos mexicanos, en sus propiedades y sus aplicaciones médicas, es por eso por lo que en el presente estudio se pretende ampliar el conocimiento de las características que tienen estos propóleos mexicanos, dentro del campo odontológico sobre agentes patógenos de la enfermedad periodontal, en muestras tomadas directo de paciente, con el fin de desarrollar una nueva alternativa para el tratamiento de la periodontitis.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con la información con la que se cuenta sobre los componentes del propóleo mexicano, tanto de composición química, así como su demostración positiva en su actividad antimicrobiana en pruebas in vitro de microorganismos de catálogo.

¿El propóleo mexicano en colutorio bucal tendrá actividad antimicrobiana sobre organismos patógenos de la periodontitis, estadio I, grado B, in vivo y sobre muestras tomadas de paciente?

HIPÓTESIS

El propóleo mexicano en colutorio bucal tendrá actividad antimicrobiana sobre los organismos patógenos de la periodontitis, estadio I, grado B.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana de un propóleo mexicano en colutorio bucal sobre los microorganismos patógenos en la periodontitis, estadio I, grado B.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar in vivo el grado de la enfermedad con el análisis periodontal de la sonda florida.
- 2) Determinar in vitro la actividad antimicrobiana inmediata del propóleo sobre las muestras tomadas del paciente, antes de cualquier tratamiento y 10 minutos después de aplicar el colutorio de propóleo.
- 3) Evaluar in vitro mediante la medición de halos de inhibición la actividad antimicrobiana del extracto del propóleo, sobre las muestras tomadas del paciente antes de cualquier tratamiento y a los 10 minutos después de aplicar el colutorio de propóleo.
- 4) Determinar in vitro la actividad antimicrobiana del colutorio de propóleo en muestras de paciente, a una semana de tratamiento.
- 5) Evaluar in vitro mediante la medición de halos de inhibición la actividad antimicrobiana del extracto de propóleo, sobre las muestras tomadas de paciente con una semana de tratamiento de colutorio.
- 6) Determinar in vitro la actividad antimicrobiana del colutorio a base de propóleo en muestras de pacientes con dos semanas de evolución con tratamiento.
- 7) Evaluar in vitro mediante la medición de halos de inhibición la capacidad antimicrobiana del extracto de propóleo sobre muestras tomadas de paciente, con dos semanas de evolución con tratamiento de colutorio.

- 8) Determinar in vivo el grado de enfermedad, después de dos semanas de evolución con el tratamiento de colutorio de propóleo, mediante el análisis periodontal de la sonda florida.

MATERIALES Y MÉTODOS

RESUMEN METODOLÓGICO

- A. Selección de paciente.
- B. Toma de primeras muestras, colocadas en el medio de transporte.
- C. Toma de segundas muestras después de 10 minutos de haber aplicado una dosis de colutorio, Colocados en medio de transporte.
- D. Se indicó al paciente un tratamiento de colutorio bucal de propóleo por una semana.
- E. Cultivos Agar Müeller-Hinton con prueba de susceptibilidad y cultivo en PDA
- F. Una semana después, toma de terceras muestras, colocando en medio de transporte.
- G. Limpieza y profilaxis a paciente.
- H. Indicación de tratamiento de colutorio bucal de propóleo, 2da semana.
- I. Cultivos en Agar Müeller-Hinton y PDA, con prueba de susceptibilidad.
- J. Aislamiento e identificación de candidas.
- K. Toma de cuartas muestras y colocadas en medio de transporte.
- L. Segunda evaluación periodontal con el apoyo de la sonda florida (diagnóstico post-tratamiento).
- M. Cultivos (Agar Müeller-Hinton) con prueba de susceptibilidad, para evaluación de cambio en existencia y/o tamaño de colonias.

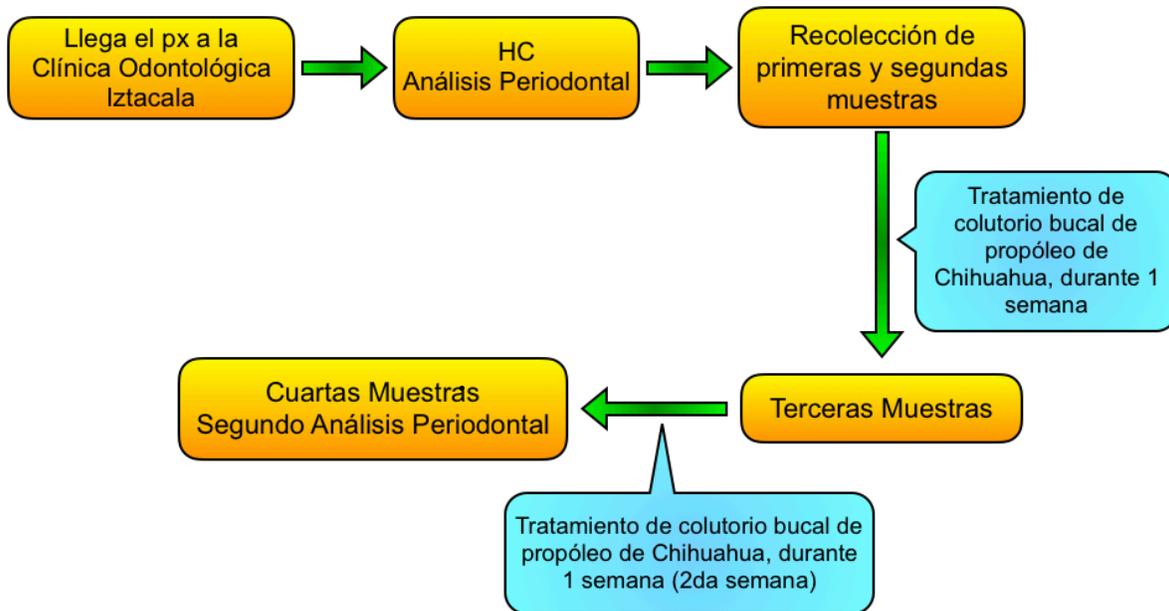


ILUSTRACIÓN 5. ESQUEMA DE FASES DE TRATAMIENTO CLÍNICO.

1) SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN

Se seleccionó 1 paciente que acudió a la clínica odontológica Iztacala, que contara con las siguientes características:

Criterios de inclusión

- Paciente mayor de 20 años y menor a 40 años.
- Aparentemente sano sistémicamente.
- Presencia de algún estado de enfermedad periodontal
- Tener un periodo mayor a 3 meses de haber estado bajo tratamiento médico.

Criterios de exclusión

- Paciente con enfermedad sistémica (diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, artritis, entre otras).
- Presencia de patologías apicales.
- Tener un periodo menor a 3 meses de haber estado bajo tratamiento médico.

Una vez cumplidos los criterios, se le realizó historia clínica para corroborar que era sistémicamente sano, continuando con la historia clínica periodontal, mediante un sondeo, contando con el apoyo del programa de la sonda florida (Florida Probe Corporation, Gainesville, Florida, EE. UU.); ubicada en la Clínica Odontológica Iztacala. (APÉNDICE 1)

El paciente para el presente estudio con el análisis periodontal de la Sonda Florida presentó un diagnóstico de periodontitis leve, que conforme a la nueva clasificación de enfermedades periodontales (2017) equivale a Periodontitis, estadio I, Grado B. (APÉNDICE 2)

Posteriormente, se le pidió de manera cordial su participación en el presente estudio; explicando el propósito y procedimiento a realizar, y dando a conocer los beneficios y posibles complicaciones, resolviendo dudas y preguntas obteniendo su consentimiento informado

2) MUESTRAS

Las muestras se tomaron de 6 lugares diferentes de la cavidad oral.

Para lo cual se dividió en 6 secciones diferentes y seleccionando el O.D que mejor convenga según el área. (APÉNDICE 3)

El procedimiento para la obtención de muestras se llevó a cabo de acuerdo con los parámetros adecuados y avalados por la Comisión de Ética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México (Oficio: CE/FESI/112018/1258).

- 1) Ser representativa del lugar de donde se obtendrá.
- 2) Libre de contaminación.
- 3) Uso de medio de transporte adecuado.
- 4) Identificación adecuada de cada muestra.

Recolección de muestras.

Para recolectar las muestras se realizó lo siguiente:

- 1) Se aisló la zona de donde se obtendría la muestra con rollos de algodón y secando con torundas de algodón.
- 2) Con ayuda de curetas estériles se recogió la muestra.
- 3) Se depositó la muestra dentro de un tubo con caldo Müller-Hinton estéril, sellado y etiquetado. (APÉNDICE 4)

En la recolección de cada grupo de muestras se preparó un tubo control, se dejó abierto de 6-7 seg, en el mismo lugar (ambiente) donde fueron tomadas las muestras (cubículo de unidad dental), esto con el fin de descartar una posible contaminación de las muestras por el ambiente en lugar de microorganismos de las muestras.

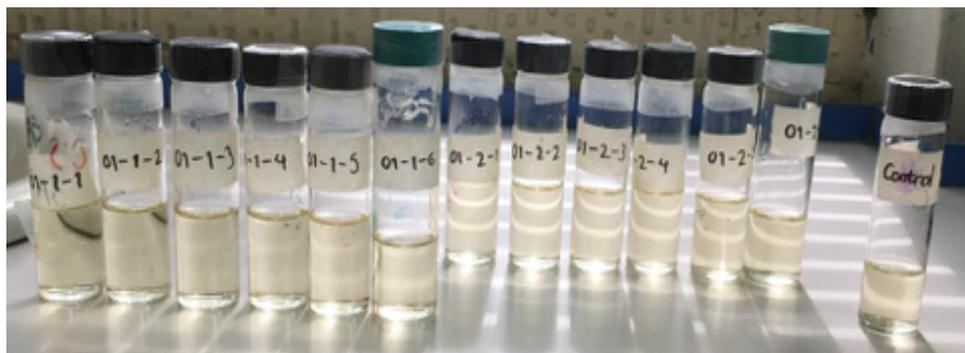


ILUSTRACIÓN 6. MUESTRAS ETIQUETADAS, RECOLECTADAS Y SELLADAS.
CON CONTROL POSITIVO.

3) COLUTORIO BUCAL DE PROPÓLEO MEXICANO (CHIHUAHUA)

El extracto de propóleo de Chihuahua fue donado por el laboratorio de farmacognosia.

El colutorio se preparó a una concentración al 5%, utilizando como vehículo, etanol al 70%. Para un tratamiento de una semana de dicho colutorio se prepararon 20 ml de concentrado.

La indicación para dicho colutorio fue de 20 gotas de concentrado, disueltas en 20ml de agua de preferencia tibia, 2 veces al día durante 1 semana.

4) CAPACIDAD ANTIMICROBIANA DEL PROPÓLEO DE CHIHUAHUA IN VITRO

Preparación de sensidiscos

Se utilizaron sensidiscos de 5 mm de diámetro hechos con papel filtro, estériles, los cuales fueron impregnados con el concentrado de propóleo y los controles positivos. Para la cantidad de sensidiscos por impregnar se tomó en cuenta que a cada caja se le colocarían 9 de ellos.

Concentrado de propóleo

Para los cultivos in vitro se utilizaron dos concentraciones de propóleo en los sensidiscos (4mg y 8 mg); a cada uno de los sensidiscos se le colocaron 10 μ l de cada una de las concentraciones, utilizando como vehículo etanol al 70%.

Control positivo

Se prepararon sensidiscos con 10 μ l de controles positivos en el caso de las bacterias se utilizó Cloranfenicol y en el caso de hongos, como control positivo se utilizó Nistatina.

Para ambos controles positivos se utilizó como vehículo metanol.

MEDIOS DE TRANSPORTE (CALDO) PARA MUESTRAS.

Para el caso de bacterias se utilizó como medio de transporte, caldo Müller-Hinton (M-H). (APÉNDICE 5)

Colocando 10 ml de caldo en cada tubo para depositar las muestras de biofilm tomadas de paciente.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

A. Inóculo Bacteriano

Las muestras tomadas del paciente, y colocadas en tubos con caldo Müller-Hinton (M-H), se encubaron a 36°C por 24 horas.

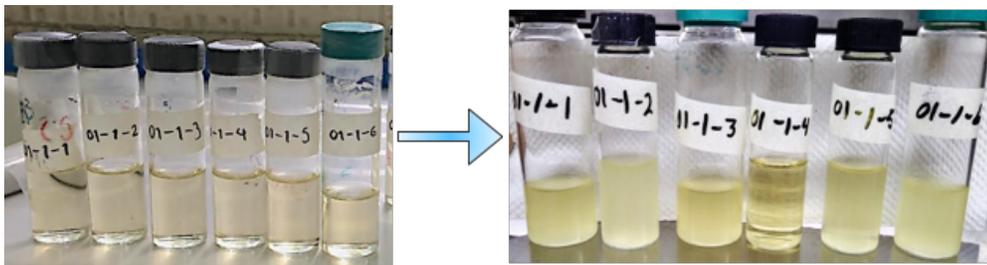


ILUSTRACIÓN 7. INÓCULO BACTERIANO (ANTES Y DESPUÉS DE 24 H DE ENCUBACIÓN).

B. Inóculo Micótico

Para la preparación del inóculo de hongos y filamentos, de las muestras obtenidas de caldo M-H (después de la encubación de 24 h), se tomaron 500 μ l con una micropipeta y se depositarán en tubos con 10 ml de caldo Saboureaud, se dejaron encubar a 36°C por 48 h. (APÉNDICE 6)

Este procedimiento únicamente se realizó para el grupo de terceras y cuartas muestras

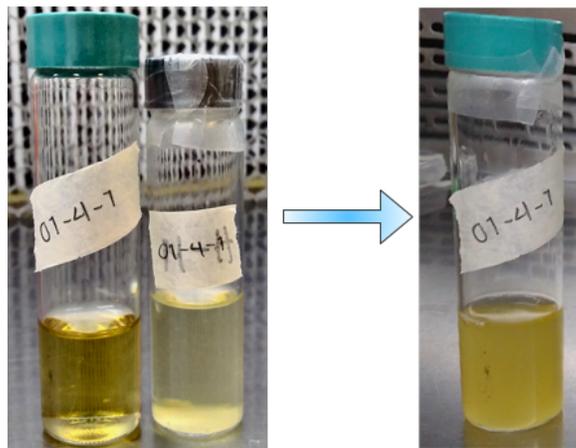


ILUSTRACIÓN 8. INÓCULO MICÓTICO (ANTES Y DESPUÉS DE 48H DE ENCUBACIÓN).

Tubo con tapa negra, muestra colocada en caldo M-H. donde se tomará la muestra para depositarla en caldo Saboureaud.

Tubos con tapa verde (caldo Saboureaud, izquierda caldo limpio y estéril, derecha (crecimiento micótico después de 48 h de encubación).

MEDIO DE CULTIVO (AGAR).

Para los cultivos de bacterias se utilizó Agar Müeller-Hinton y para hongos y filamentos, como medio de cultivo se utilizó Agar PDA. (APÉNDICE 7)

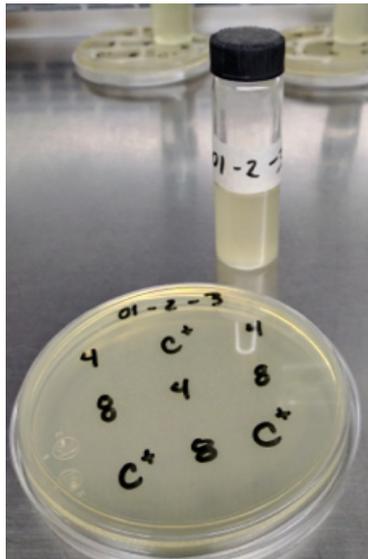


ILUSTRACIÓN 10. CALDO MÜELLER-HINTON Y AGAR MÜELLER-HINTON.

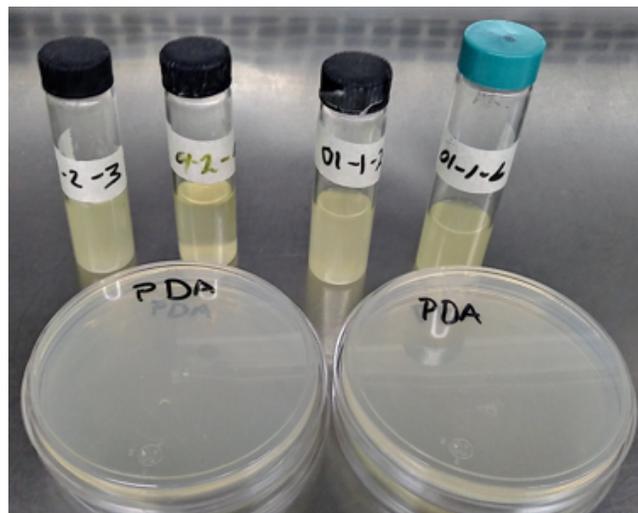


ILUSTRACIÓN 9. CALDO SABOREAUD Y AGAR PDA.

INÓCULO MICROBIANO

El procedimiento para la realización de los cultivos se llevó a cabo en la campana de flujo laminar, la cual brinda protección a la muestra creando un ambiente libre de cualquier partícula y dando la seguridad de trabajar en ambiente estéril

Se inocular la superficie de la placa con el medio (Müller-Hinton o PDA) sembrando por técnica de estría cerrada por lo menos en tres direcciones, girando 60° al momento de cambiar de dirección, repitiendo la técnica en tres direcciones (APÉNDICE 8)

Todas las muestras fueron inoculadas en Agar M-H.

Para los cultivos en Agar PDA se realizaron cultivos para las terceras muestras de los 6 dientes y para las cuartas muestras, se realizaron cultivos únicamente de los que presentaban mayor turbidez en el tubo con caldo Saboreau, las cuales fueron las muestras 01-4-1, 01-4-2, 01-4-4 y 01-4-6

5) PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD.

Se colocaron los discos manualmente en la superficie del agar utilizando pinzas estériles.

La prueba deberá hacerse mínimamente por triplicado y se reportan los promedios de los resultados por cepa utilizada. En cada caja petri se colocaron 9 sensidiscos en total; 3 sensidiscos impregnados con concentrado de propóleo al 4 mg/sensidisco, 3 con concentrado al 8 mg/sensidisco y 3 impregnados con el control positivo (C+) según sea el caso (cloranfenicol o nistatina).

Una vez preparadas todas las placas para la prueba de susceptibilidad, se encubaron a 36°C durante 24 h. en el caso de bacterias y 48 h para hongos. (APÉNDICE 9)

6) AISLAMIENTO DE CÁNDIDAS.

Para la diferenciación de Cándidas, se realizaron cultivos en Agar Biggy (APÉNDICE 10); tomando las muestras de los cultivos en agar PDA de las terceras muestras de paciente, mediante el uso de la técnica de estría por agotamiento. (APÉNDICE 11)

Se dejaron encubar a 36°C por 48 h.

7) IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDAS.

(APÉNDICE 12).

Para realizar el aislamiento e identificación de candidas se utilizó una caja septada con chromagar.

Pasadas las 48 h necesarias para la encubación de cultivos en Agar Biggy, se seleccionaron las cajas que presentaron mayor carga de crecimiento de Cándidas, se seleccionaron 3 de ellas.

Se tomaron las muestras de los cultivos en Biggy y se sembraron cada una en cada uno de los espacios de la caja, utilizando la técnica de estría por agotamiento, y se encubaron a 36°C durante 48 h.

8) EVALUACIÓN FINAL DEL TRATAMIENTO (IN VIVO).

Habiendo transcurrido dos semanas de tratamiento y después de haber recolectado 4 muestras en total, se le realizó al paciente un segundo análisis periodontal, para así evaluar la evolución del tratamiento frente al estado periodontal. (APÉNDICE 13)

RESULTADOS.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO CLÍNICO.

COMPARACIÓN DEL ESTADO PERIODONTAL INICIAL Y FINAL DEL PACIENTE.

Con el análisis comparativo en la tabla y en la imagen, se observó un cambio en el número de sitios que presentaban sangrado, el BOP pasó de un 87% a un 35%, hubo disminución en la cantidad de sitios que presentaban una profundidad moderada, aunque existió un aumento en la cantidad de dientes que presentan movilidad. En términos generales se presenta una mejora del 14 %

En cuestión de sangrado los sitios de sangrado representaban un 34%, disminuyendo a 5% de los sitios con presencia de sangrado, mientras que los sitios que presentaban profundidad al sondeo mayor o igual a 3,4 mm, pasó de 11% a 4%.

TABLA 5. RESUMEN DE ANÁLISIS PERIODONTAL

INICIAL	FINAL
23 dientes, 47 sitios sangrado, 0 sitios con supuración, BOP= 87%	23 dientes, 8 sitios de sangrado, 1 diente con supuración, BOP= 35%.
15 sitios moderada	9 sitios profundizaron por al menos 1 mm.
0 sitios severa	5 sitios moderada con 2 progresando más profundo al menos 1 mm.
0 furcaciones	0 sitios graves
1 dientes con cierto grado de movilidad.	0 furcaciones.
	4 dientes tenían cierto grado de movilidad.

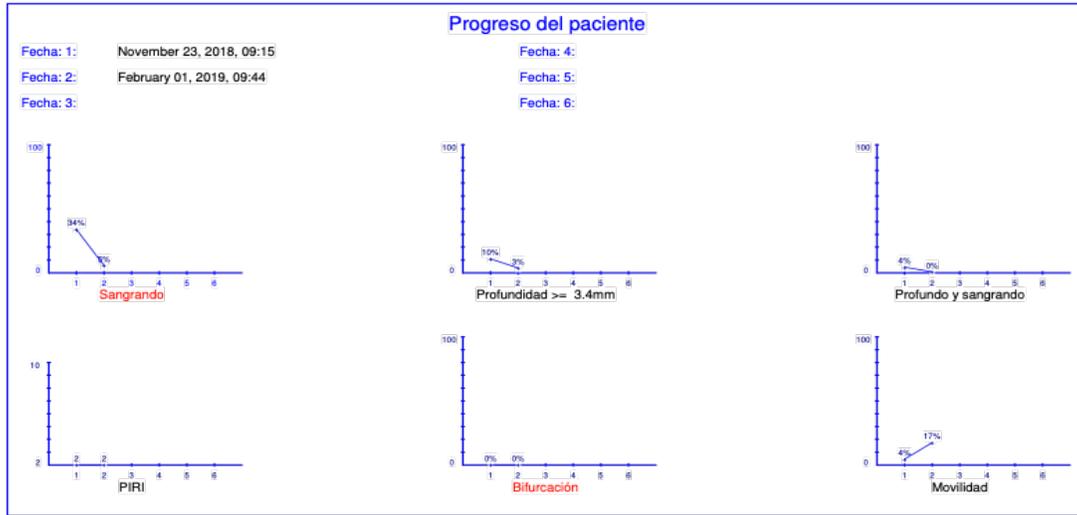
Información tomada del análisis periodontal de sonda florida de paciente estudiado.

BOP= Sangrado al Sondeo

FLORIDA PROBE
Resumen

Ficha #:

Nombre:



The style and appearance of this Chart is a trademark of the Florida Probe Corporation-Copyright (C) 1996-2014, All Rights Reserved - Gainesville, Florida, USA
 Printed on 27/02/2019 09:26:48 a. m. from USER, version 9.12.44

ILUSTRACIÓN 11. RESÚMEN GRÁFICO DEL ESTADO PERIODONTAL INICIAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).

EVALUACIÓN DE RIESGO PERIODONTAL.

En la evaluación de riesgo obtenido de igual manera del análisis periodontal de la sonda florida, donde se toman en cuenta los diferentes aspectos del examen periodontal, el paciente presentó al inicio una puntuación de riesgo alta, mientras que al final de tratamiento obtuvo un nivel de riesgo medio.

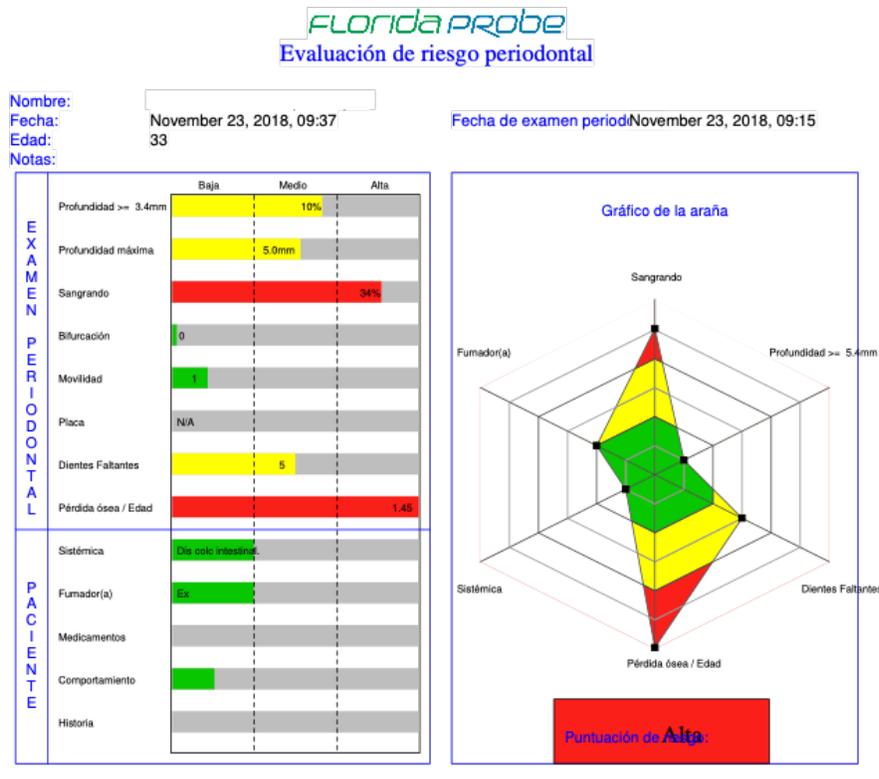


ILUSTRACIÓN 12. EVALUACIÓN DE RIESGO PERIODONTAL INICIAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).

FLORIDA PROBE
Evaluación de riesgo periodontal

Nombre:
 Fecha: November 23, 2018, 09:37
 Edad: 33
 Fecha de examen period: February 01, 2019, 09:44
 Notas:

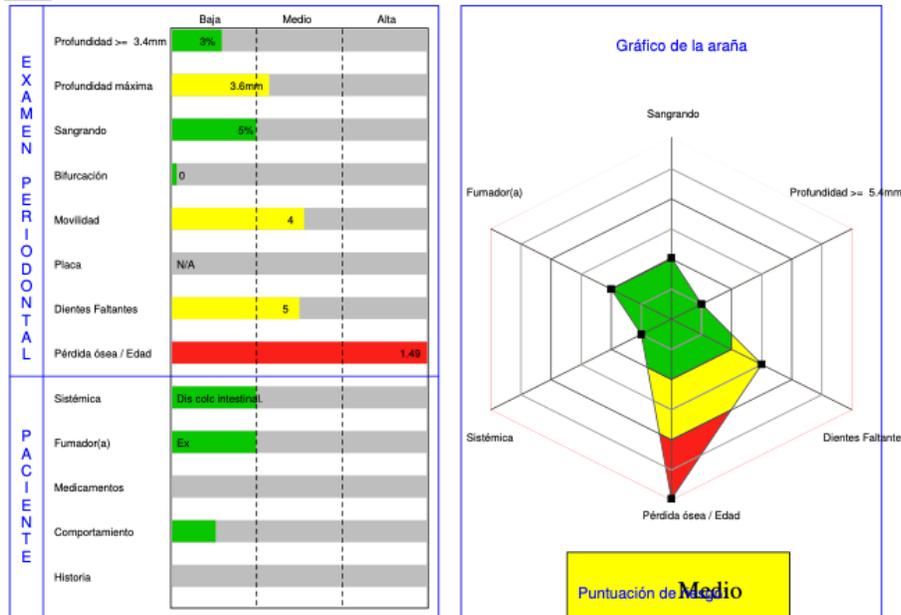


ILUSTRACIÓN 13. EVALUACIÓN DE RIESGO PERIODONTAL FINAL DEL PACIENTE (OBTENIDO DE LA SONDA FLORIDA).

ANÁLISIS DESCRIPTIVOS IN VITRO

TUBO CONTROL

En el crecimiento de microorganismos en los medios de transporte (caldo Müeller-Hinton) del tubo control no presentó crecimiento de microorganismo. Por lo tanto, no existió contaminación de las muestras por el ambiente del lugar donde fueron tomadas.

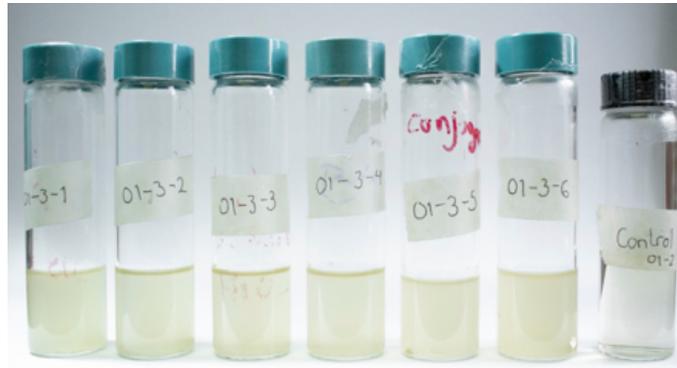


ILUSTRACIÓN 14. COMPARACIÓN DEL TUBO CONTROL CON TUBOS QUE PRESENTARON CRECIMIENTO MICROBIANO.

CRECIMIENTO DE COLONIAS DE BACTERIAS

El crecimiento bacteriano de los cultivos en Agar Müeller-Hinton de las cuartas muestras (01-4-1, 01-4-2, 01-4-6), comparado con los cultivos de las muestras previas, presentaron disminución en el número de colonias, así como una disminución en el tamaño de éstas donde entre más cerca se encontraban de los sensibilizados impregnados con propóleo (4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco), más pequeñas eran; en el caso del Control positivo (Cloranfenicol) no se presentaron cambios en el tamaño de las colonias.



ILUSTRACIÓN 15. CULTIVOS DE CUARTAS MUESTRAS QUE PRESENTARON CRECIMIENTO BACTERIANO.

Las muestras 01-4-3, 01-4-4 y 01-4-5, no presentaron crecimiento bacteriano.

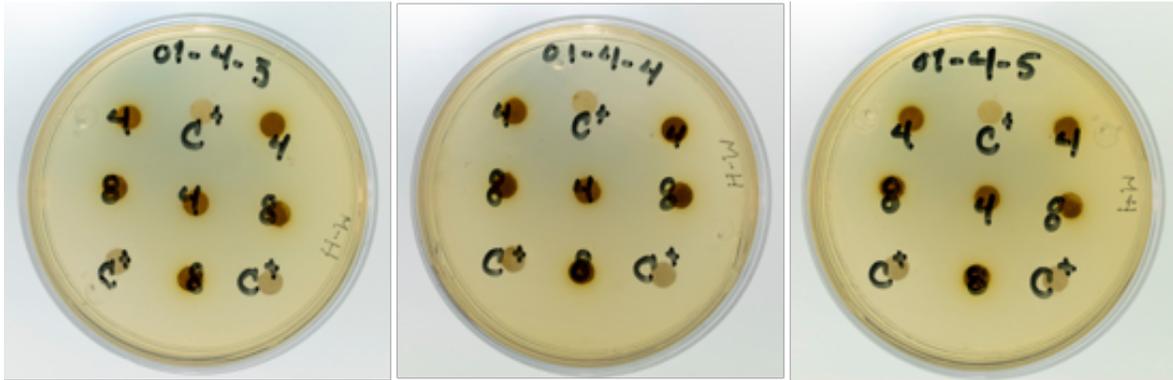


ILUSTRACIÓN 16. CULTIVOS DE CUARTAS MUESTRAS QUE NO PRESENTARON CRECIMIENTO BACTERIANO.

DIFERENCIACIÓN DE CÁNDIDAS

El crecimiento de microorganismos en Agar Biggy, para la diferenciación de cándidas, 3 de ellos presentaron crecimiento, la muestra 01-3-1, presentó la mayor cantidad de crecimiento, la muestra 01-3-6, presentó un crecimiento medio y la muestra 01-3-4, presentó crecimiento leve.

Los cultivos de las muestras 01-3-2, 01-3-3, 01.3.5, no presentaron crecimiento de colonias de cándidas.

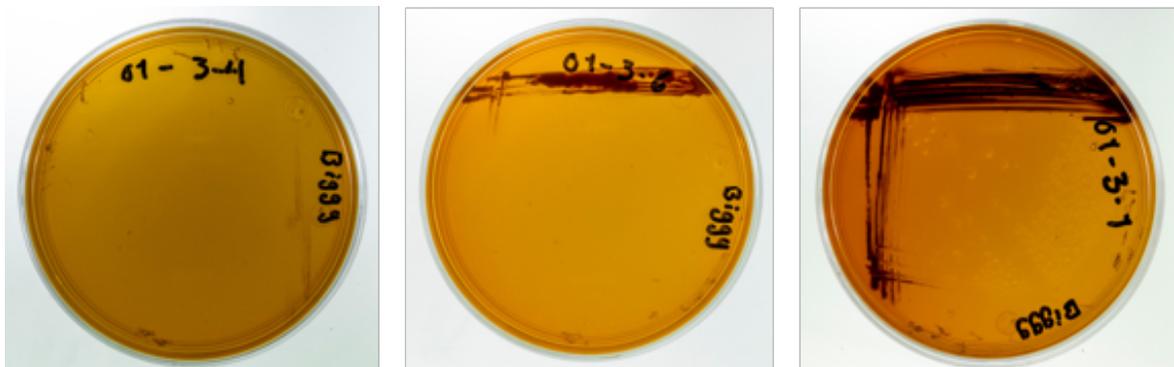


ILUSTRACIÓN 17. CULTIVOS DE TERCERAS MUESTRAS, SEMBRADAS EN AGAR BIGGY QUE PRESENTARON CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS.

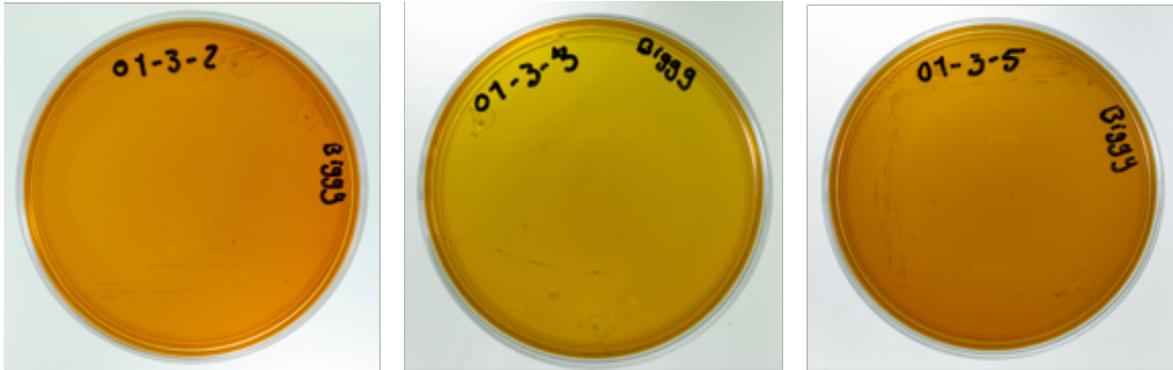


ILUSTRACIÓN 18. CULTIVOS DE TERCERAS MUESTRAS SEMBRADAS EN AGAR BIGGY QUE NO PRESENTARON CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS.

IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDAS.

Las cepas de las muestras 01-3-4, 01-3-6 y 01-3-1, cultivadas en chromagar, presentaron crecimiento de microorganismo de dos colores distintos; conforme al código de colores correspondió a las especies *C. albicans* y *C. krusei* (véase APÉNDICE 12).

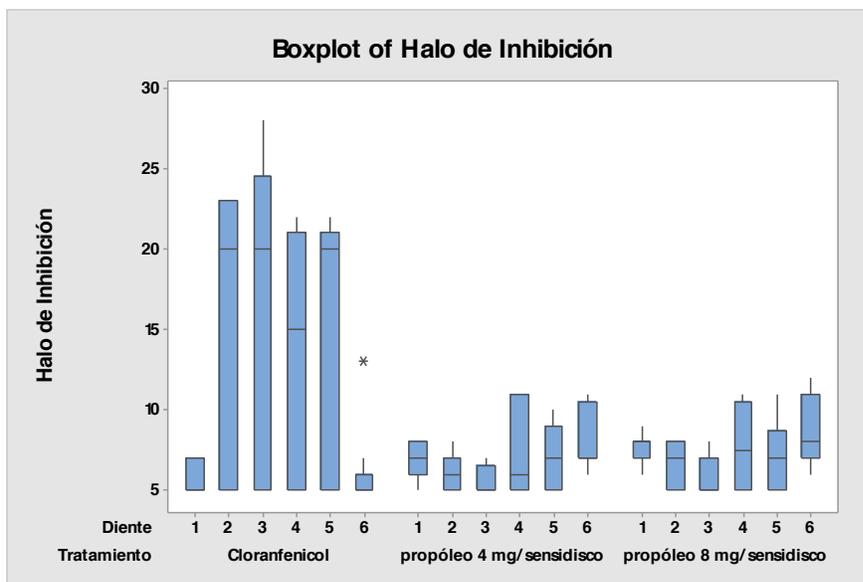


ILUSTRACIÓN 19. CRECIMIENTO DE CÁNDIDAS EN CROMAGAR.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

(APÉNDICE 14)

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

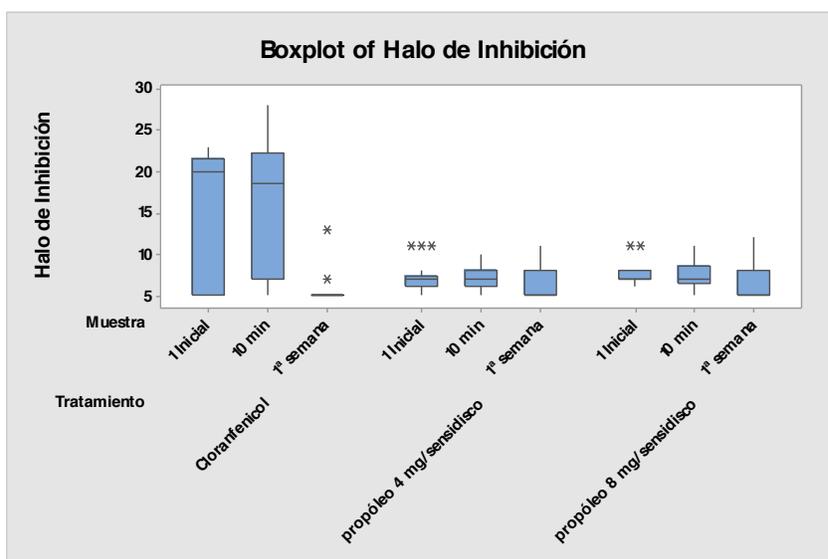


GRÁFICA 1. DIENTE-TRATAMIENTO (BACTERIAS).

En la gráfica diente-tratamiento (gráfica 1), se observó el comportamiento de las muestras frente a los diferentes tratamientos aplicados, en el segmento del tratamiento con cloranfenicol, los 6 dientes evaluados, presentaron halos de inhibición mayores, con medianas con valor de entre 15 y 20 mm en los dientes 2,3,4 y 5; con excepción de los dientes 1 y 6 donde la mediana se encontró con valor de 5 mm; dentro de este grupo se presentaron valores mínimos de 5 mm y valores máximos de 28 mm, mostrando amplia variación de datos en los halos de inhibición. Mientras que en los segmentos del tratamiento tanto de propóleo con 4 mg/sensidisco como con 8 mg/sensidisco, las medianas se encontraron entre 5 a 7 mm para el propóleo de 4 mg/sensidisco y entre 5 a 8 mm para el propóleo con 8 mg/sensidisco. Por otra parte, se encontraron valores máximos de 11 mm para la

concentración de 4 mg/sensidisco y 12 mm en el caso de 8 mg/sensidisco. Por lo que existe menos variación en sus halos de inhibición.

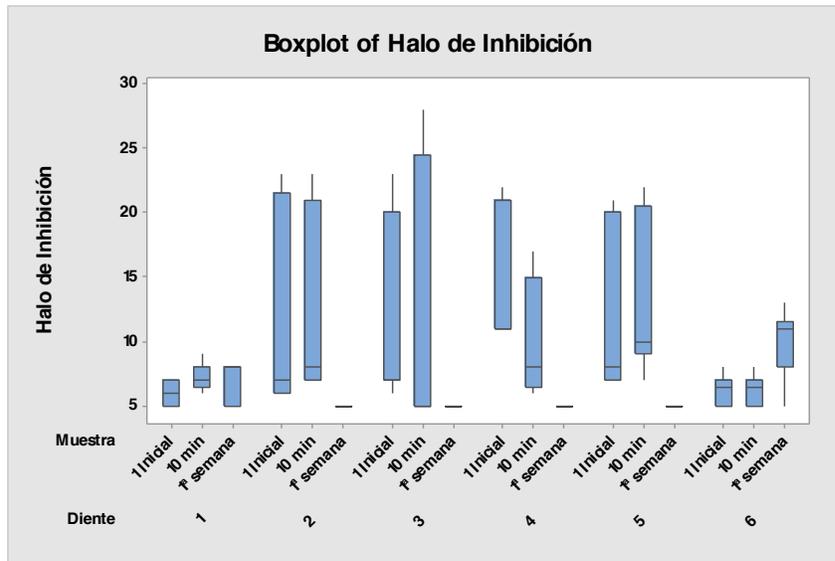
De acuerdo con el análisis de varianza (Anova) aplicado, se encontraron diferencias significativas ($F= 104.39$, $P<.01$) entre los tratamientos aplicados en los diferentes dientes.



GRÁFICA 2. MUESTRA-TRATAMIENTO (BACTERIAS).

La gráfica muestra-tratamiento (gráfica 2), muestra la comparación entre los diferentes tratamientos en las diferentes muestras recolectadas, mediante la medición de halos de inhibición, registrando que para el grupo del tratamiento con Cloranfenicol, las medianas se registraron en un rango de 5 mm a 20 mm, con valores mínimos de 5 mm y máximos de 13 mm a 28 mm, y presentó un alta variación en sus halos de inhibición. Para los grupos con tratamientos de propóleo con 4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco con medianas de 5 mm a 8 mm, presentó valores mínimos de 5 mm a 6 mm, y máximos de 8 mm a 12 mm, registrando menor variación en sus halos de inhibición.

El análisis de varianza (Anova), registró diferencias significativas ($F=180.79$, $P<.01$)

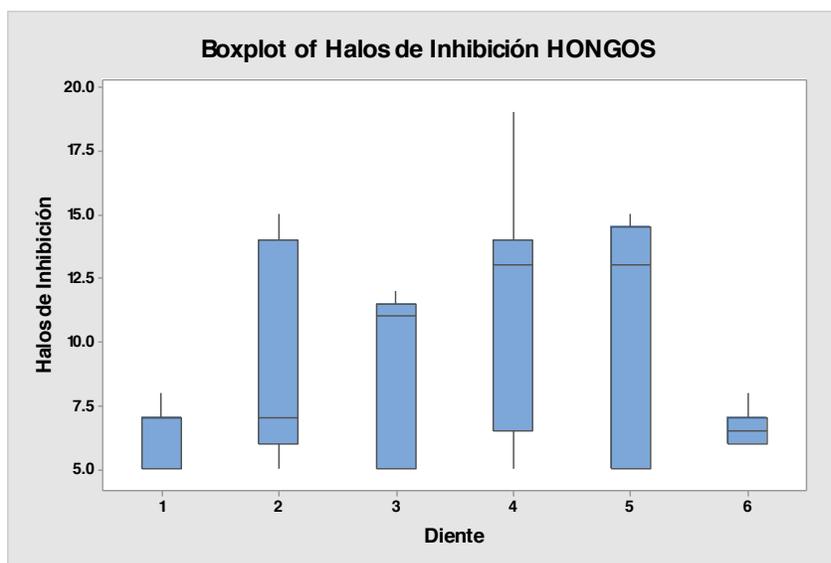


GRÁFICA 3. MUESTRA-DIENTE (BACTERIAS).

En la gráfica muestra-diente (gráfica 3), se observó el comportamiento de los dientes frente a las muestras que fueron recolectadas de paciente, para los dientes 1 y 6 se observó poca variación en los halos de inhibición, registrando medianas de entre 6 mm y 8 mm, valores mínimos de 5 mm a 6mm y valores máximos de 7mm a 9 mm. Para el grupo de los dientes 2,4 y 5 se registraron valores mínimos que iban de entre 5 mm a 11mm, máximos de 5 mm a 23 mm, mostraron variación en sus halos de inhibición. El grupo del diente 3 fue el que presentó la mayor variación en sus halos de inhibición, refiriendo valores mínimos de 5 mm y 6 mm, valores máximos de 5 mm para muestra de la primera semana, 23 mm para la muestra inicial y 28 mm para la muestra de 10 minutos.

De acuerdo con el análisis de varianza (Anova) aplicado, se registraron diferencias significativas ($F=78.91$, $P< .01$), entre las muestras y los dientes de donde fueron tomadas.

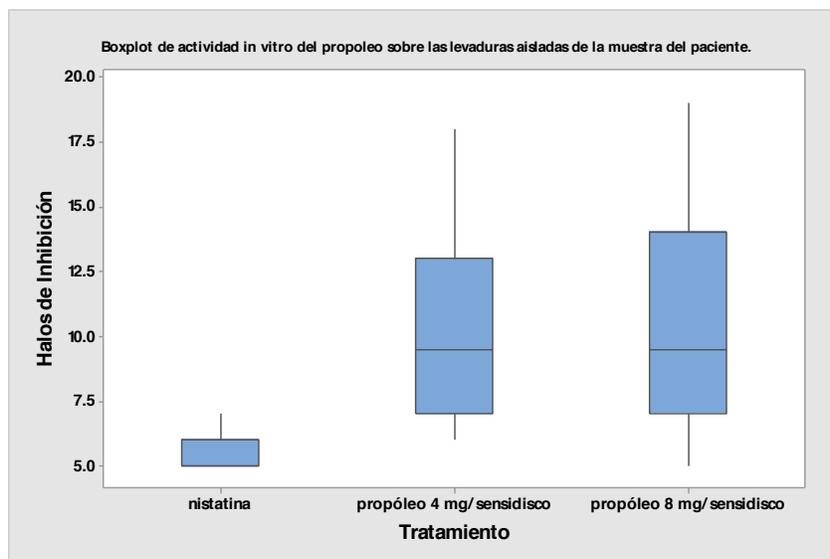
CAPACIDAD ANTIMICÓTICA



GRÁFICA 4. DIENTE (HONGOS).

En la gráfica 4 se registraron los resultados obtenidos por diente conforme a las medidas de los halos de inhibición, abarcando los tres tratamientos que se aplicaron (propóleo al 4 mg/sensidisco, al 8 mg/sensidisco y tratamiento con nistatina), se observaron medianas de 7 mm para los dientes 1 y 2, medias de 13 mm para los dientes 4 y 5, una mediana de 11 mm para el diente 3 y mediana de 6.5 mm para diente 6, los valores mínimos fueron de 5 mm para los diente 1,2,3,4 y 5, en el caso del diente 6 su valor mínimo fue de 6 mm, para el caso de los valores máximos se observaron de 8 mm para los dientes 1 y 6, 15 mm para dientes 2 y 5, 12 mm para diente 3 y 19 mm para diente 4, por lo tanto en los dientes 1 y 6 se registraron variaciones menores en los halos de inhibición, mientras que en los dientes 2,3,4 y 5 existió mayor variación en las medidas de los halos.

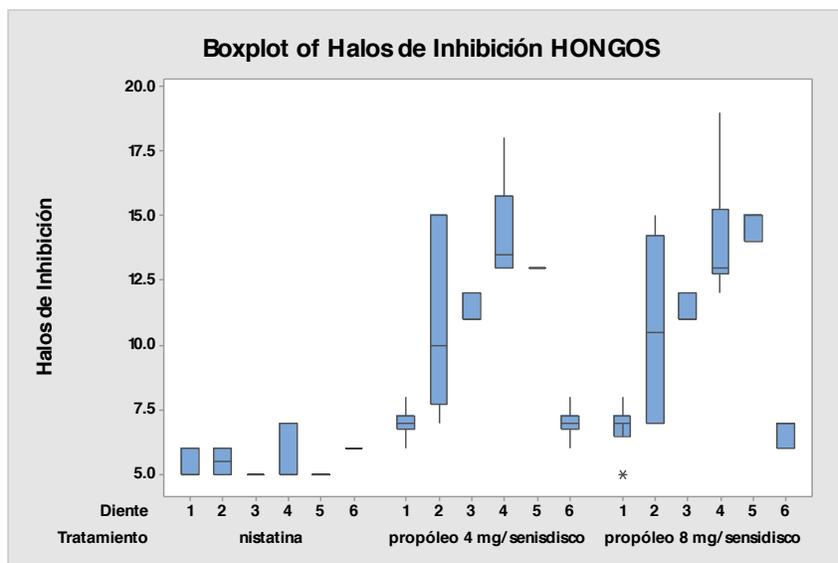
De acuerdo con el análisis de varianza aplicado (Anova), se registraron diferencias significativas de ($F= 22.98$, $P< .01$), entre los diferentes dientes de donde fueron recolectadas las muestras.



GRÁFICA 5. ACTIVIDAD IN VITRO DEL PROPÓLEO SOBRE LAS LEVADURAS DE LA MUESTRA DEL PACIENTE.

En la gráfica 5 se registraron las variaciones de los halos de inhibición conforme a los diferentes tratamientos que se aplicaron sobre las muestras del paciente. Para el tratamiento de Nistatina, la mediana se registró en 5 mm, con un valor mínimo de 5 mm y un valor máximo de 7 mm, indicando que hay una mínima variación en sus halos de inhibición. Para el caso del tratamiento de propóleo con 4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco, los valores fueron semejantes, donde la mediana de ambos tratamientos se ubicó en 9.5 mm, con valores mínimos de 6 mm para tratamiento de propóleo con 4 mg/sensidisco y valor de 5 mm para el tratamiento con 8 mg/sensidisco de propóleo, para valores máximos se señaló de 18 mm para propóleo con 4 mg/sensidisco y 19 mm para propóleo de 8 mg/sensidisco, registrando más variación en los halos de inhibición que en el tratamiento de nistatina.

De acuerdo al análisis (Anova) de varianza, se registraron diferencias significativas ($F=80.42$, $P < .01$), entre los diferentes tratamientos aplicados.



GRÁFICA 6. DIENTE-TRATAMIENTO (HONGOS).

La gráfica diente-tratamiento (gráfica 6), mostró el comportamiento de los dientes a los diferentes tratamientos aplicados. Para el grupo de dientes con tratamiento nistatina, presentó poca variación en los halos de inhibición, las medianas y los valores mínimos fueron semejantes ubicados entre 5 mm y 6 mm, los valores máximos se ubicaron entre 5 mm a 7 mm.

En los grupos con tratamiento de propóleo con 4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco, se registraron mayor variación en sus halos de inhibición en los dientes 2 y 5, mientras que en los dientes 1,3, 4 y 6, registraron menos variación, para los dientes 1,2 3,4 y 5 las medianas fueron en valor creciente desde 7 mm hasta 15 mm, con valores mínimos de 6 mm a 13 mm para el grupo de propóleo con 4 mg/sensidisco y para la concentración de propóleo de 8 mg/sensidisco fueron de 5 mm a 14 mm, los valores máximos se registraron entre 8 mm a 18 mm para propóleo de 4 mg/sensidisco mientras que para propóleo con 8 mg/sensidisco se registraron entre 7 mm a 15 mm. En el caso del diente 6 para ambos tratamientos de propóleo se

registraron valores decrecientes registrando medianas de 7 mm, valores mínimos de 6 mm y valores máximos de 7 mm y 8 mm.

El análisis de varianza (Anova) aplicado, para este caso registró diferencias significativas ($F= 6.62$, $P< .01$). entre los 6 dientes y los diferentes tratamientos aplicados.

DISCUSIÓN

La Enfermedad Periodontal es una enfermedad que ocasiona la destrucción de los tejidos de soporte del diente, los cuales van a depender del grado en el que se encuentre la enfermedad, siendo una de las principales enfermedades bucales que afecta a la población con una alta proporción en todo el mundo [35].

En 1997, la Organización Mundial de la Salud (OMS) presentó el índice Periodontal Comunitario (IPC) para proporcionar perfiles del estado de salud periodontal de los países, así como para la planificación y elaboración de programas de intervención para el efectivo control de la enfermedad periodontal. Las ventajas del IPC son la simplicidad, rapidez, reproducibilidad, y la uniformidad internacional. Con ayuda del IPC la Secretaría de Salud durante 10 años se ha dado a la tarea de realizar estudios para el estudio de prevalencia de la enfermedad periodontal, publicados en los Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles (SIVEPAB), donde claramente reportan de manera gráfica el aumento de la incidencia de enfermedad periodontal en la población mexicana principalmente en la población adulta [36].

En los resultados de SIVEPAB en 2017, se reportó que mediante el IPC al cual tenían acceso 132, 534 personas, aproximadamente el 57 % presentaba algún signo de enfermedad periodontal, del cual un poco más del 20.8% tenía gingivitis, el 3.9% presentaba signos de enfermedad periodontal leve y el 0.8% presentaban signos de enfermedad periodontal avanzada. Para dicho estudio los dividieron en grupos de edad, en el grupo de 20 a 34 años (siendo el rango de edad en el que se podría ubicar al paciente del presente estudio), el 53.4 % no presentó enfermedad periodontal, y del 46.6% restante, el 43.8% presentó gingivitis y el 2.9% restante presentó periodontitis [37].

Socransky y colaboradores mediante los Complejos Microbianos de Socransky, donde agruparon a las bacterias del biofilm de acuerdo con el estado del desarrollo de placa y gravedad de la enfermedad, se puede saber que cuando predominan las bacterias componentes de los complejos amarillo, azul, verde y morado los que se encuentran al principio de la enfermedad periodontal (gingivitis) son predominantemente aerobios, aunque también son microorganismos anaerobios facultativos presentes, una vez que estos microorganismos modificaron el ambiente, van a ser reemplazados, por las bacterias del complejo naranja los cuales son microorganismos anaerobios facultativos, con predominancia en enfermedad periodontal, y las bacterias componentes del complejo rojo con bacterias totalmente anaerobias, cuando son predominantes en la cavidad oral se puede referir a una enfermedad periodontal avanzada [2,11].

Para la toma de muestras de biofilm y realización del presente estudio, se seleccionó un paciente que presentara algún tipo de enfermedad periodontal inicial (gingivitis) o periodontitis leve, en este caso periodontitis, estadio I, grado B.

El propóleo es una sustancia resinosa recolectada por las abejas, cuenta con diferentes propiedades: antiséptica, antiinflamatoria, antioxidante, antimicótica, antibacteriana, antiulcerosa etc [28,32]. Dentro del Campo odontológico se han realizado estudios para el tratamiento de alivio de úlceras, estomatitis de la dentadura postiza, ambientador de halitosis, absceso de bolsas periodontales y sensibilidad a la caries dental [27].

En México el propóleo es empleado desde hace muchos años como parte de la medicina tradicional y de que existe una gran variedad de productos, son muy pocos los estudios que se han realizado respecto a su actividad biológica [38]. Previamente se han realizado investigaciones al presente estudio sobre los componentes químicos del propóleo de Chihuahua, donde se demostró su actividad

antibacteriana, antifúngica y antioxidante. Por lo que en este caso se decidió trabajar con un propóleo mexicano (Chihuahua) en colutorio bucal, para evaluar su efecto antimicrobiano sobre muestras de biofilm tomadas de paciente.

Por lo tanto en el presente estudio, para determinar la actividad antimicrobiana de colutorio bucal de propóleo mexicano, se seleccionó al paciente mediante el análisis periodontal de la sonda Florida (Florida Probe Corporation, Gainesville, Florida, EEUU), que cumplió con los criterios de inclusión y de exclusión, al momento del comienzo el paciente presentó periodontitis Leve (conforme a la clasificación periodontal del workshop, 1999), conforme a la nueva clasificación del 2017, presentó periodontitis estadio I, grado B.

Para el final del estudio se realizó un segundo análisis periodontal donde conforme a la clasificación del workshop de 1999, presentó un diagnóstico de gingivitis.

Koo et al., realizó un estudio donde evaluó el efecto de un enjuague bucal que contenía propóleo en la acumulación de placa, demostró que dicho enjuague redujo la concentración de placa en un 61.7%, por lo tanto, fue eficaz para reducir la formación de placa supragingival y la formación de IP en condiciones de alta acumulación [27].

Diferentes autores se encargaron de medir la efectividad de los propóleos: Carvalho Dubailibe et al., 2007 y Ota et al., 2001 realizaron estudios en la infección oral. Koo et al., 2002, Dodway y Kukreja, 2011 y Murray et al., 1997, placa dental y estudios realizados por Santos et al., 2005 y 2008, Samet et al. 2007, analizaron el efecto de los propóleos sobre estomatitis [39].

Para la actividad antibacteriana del extracto de propóleo in vitro mostraron halos de inhibición que iban de 5 mm a 13 mm en el caso de los tratamientos de propóleo con la concentración de 4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco, mientras que para el tratamiento de cloranfenicol (antibiótico clásico de amplio espectro que es producido por diversas especies del género bacteriano *Streptomyces*) [40], en algunas cepas no presentaba halo de inhibición por lo que se concluía que las bacterias presentes en los cultivos eran resistentes a dicho tratamiento.

Para la actividad antifúngica, únicamente se realizaron cultivos de dos grupos de muestras, las cuales presentaron halos de inhibición que iban de 5 mm a 18 mm, para los tratamientos de propóleo con concentraciones de 4 mg/sensidisco y 8 mg/sensidisco, de igual manera que la actividad antibacteriana, en algunos cultivos, resistencia contra el tratamiento de nistatina.

La nistatina, es un antifúngico con acción fungistática y fungicidas in vitro, frente a una amplia variedad de levaduras y hongos relacionados que pertenece al grupo de los macrólidos polienos. Activo frente a *Candida spp* y dermatofitos, aunque sobre estos últimos sólo moderadamente [41,42].

La resistencia a los antimicrobianos es la capacidad que tienen los microorganismos (como bacterias, virus y algunos parásitos) de impedir que los medicamentos llámense antibióticos, antivíricos y antipalúdicos actúen contra ellos, por el uso inadecuado de los medicamentos. En consecuencia, los tratamientos habituales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten [58], como, por ejemplo, al tomar antibióticos para tratar infecciones víricas como el resfriado o la gripe [43].

Para ambas pruebas (antibacteriana y antifúngica), se utilizó como vehículo etanol al 70%. Akca, A.E y colaboradores, en 2015, Realizan un estudio comparativo del efecto antimicrobiano del propóleo y clorhexidina en patógenos

orales, utilizan como vehículo etanol para su extracto de propóleo y señalan que el efecto del extracto de propóleo no se relacionó en el 80% con el vehículo utilizado (etanol), ya que no afectó el crecimiento de ninguna bacteria ni hongo [32].

Es necesario realizar pruebas en cepas de bacterias diferenciadas a partir de una muestra de biofilm, tomadas de pacientes, ya que en el presente estudio se trabajó con el conjunto de microorganismos recolectados en muestras de paciente, además de considerar un mayor número de muestras para poder determinar una visión más amplia del propóleo mexicano (Chihuahua) y sus propiedades tanto in vivo como in vitro.

CONCLUSIONES

- El colutorio a base de propóleo mexicano (Chihuahua) disminuyó el crecimiento de microorganismos del biofilm periodontal in vivo.
- El colutorio a base de propóleo (Chihuahua), mejoró el estado periodontal del paciente in vivo, en un periodo de 2 semanas con tratamiento.
- El extracto de propóleo presenta actividad bacteriana sobre cepas de bacterias de muestras tomadas de pacientes in vitro.
- El extracto de propóleo presenta actividad antimicótica, sobre hongos presentes en las muestras de biofilm tomadas de paciente in vitro.
- La actividad antimicrobiana del propóleo en muestras de biofilm periodontal tomadas de paciente, es mayor sobre cepas de hongos comparado con las cepas de bacterias.

APÉNDICES

APÉNDICE 1: ANÁLISIS PERIODONTAL MEDIANTE EL PROGRAMA DE LA SONDA FLORIDA (FLORIDA PROBE CORPORATION, GAINESVILLE, FLORIDA, EE. UU.).

[44,45]

Es un instrumento de sondaje que incorpora una fuerza constante, una mayor precisión en el registro de medidas ayuda a incrementar el rendimiento clínico, proporciona fiabilidad para una correcta evaluación del estado periodontal de los pacientes, además que permite una presentación audiovisual de los resultados obtenidos en cada exploración. Registra medidas como: profundidad de bolsas, hiperplasias, sangrado, supuración, localización de placa, grado y localización de movilidad dentaria, grado y localización de furcas, adhesión gingival, órganos dentales ausentes, dientes impactados, implantes, coronas etc.

Para realizar el análisis de un paciente se comienza con la anamnesis. Se prosigue con el llenado el periodontograma realizando los siguientes pasos:

- 1) La sonda debe insertarse en sentido paralelo al eje vertical del diente y se recorre toda la superficie de cada diente, excepto en la cara distal de la última pieza dentar o dientes en áreas desdentadas.



ILUSTRACIÓN 20. REPRESENTACIÓN DE LA INSERCIÓN VERTICAL DE LA SONDA FLORIDA.



2) Hacer una ligera presión sobre la sonda y el dispositivo de la sonda y se irá separando hasta llegar al tope que será el contacto con el hueso.

ILUSTRACIÓN 21. REPRESENTACIÓN DE LA SEPARACIÓN DE LA SONDA FLORIDA, HASTA HACER CONTACTO CON EL HUESO.

3) Se pisa la parte media del pedal para que se registren las mediciones de bolsa en cada paciente, marcando presencia de sangrado o cualquier secreción.

Se realiza el sondaje en todas las piezas presentes, tomando en cuenta seis caras de cada órgano dental (mesiovestibular / mesiolabial, vestibular / labial, distovestibular / distolabial, distopalatino / distolingual, palatino / lingual, mesiopalatino / mesiolingual) para evaluar el estado del paciente.

APÉNDICE 2: PRIMER PERIODONTOGRAMA OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS PERIODONTAL DE LA SONDA FLORIDA (ESTADO INICIAL DEL PACIENTE).

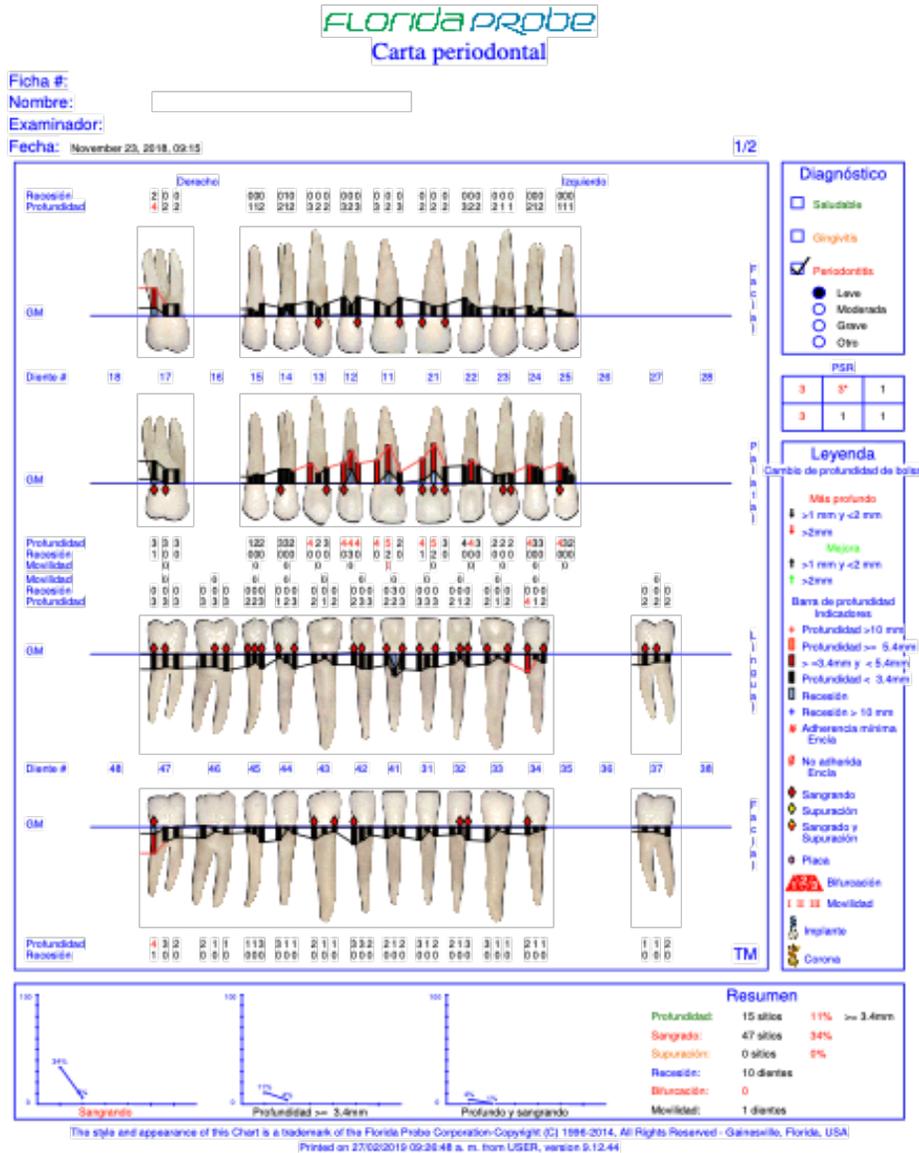


ILUSTRACIÓN 22. PERIODONTOGRAMA INICIAL DEL PACIENTE, OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA SONDA FLORIDA.

APÉNDICE 3: DIVISIÓN DE LA CAVIDAD ORAL PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

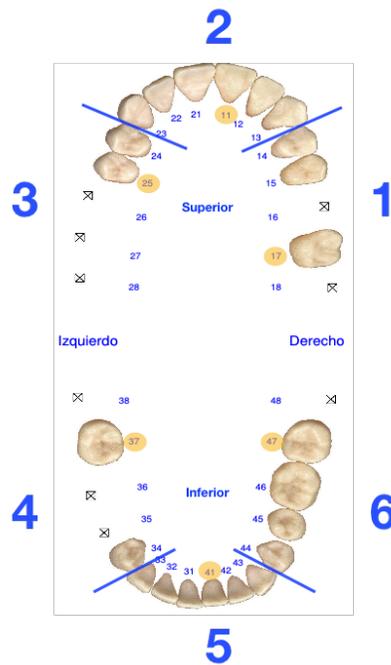


ILUSTRACIÓN 23. ÁREAS EN LAS QUE FUÉ DIVIDIDA LA CAVIDAD ORAL PARA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

TABLA 6. ÓRGANOS DENTALES SELECCIONADOS PARA TOMA DE MUESTRAS.

Zona	Área correspondiente	Número de O.D
1	O.D posteriores superiores derechos	17
2	O.D anteriores superiores	11
3	O.D posteriores superiores izquierdos	25
4	O.D posteriores inferiores izquierdos	27
5	O.D anteriores inferiores	41
6	O.D posteriores inferiores derechos	47

APÉNDICE 4: MUESTRAS.

Identificación de muestras.

Cada muestra fue identificada con un código de 3 dígitos; El primer dígito correspondiente al número de paciente, el segundo correspondiente al número de muestra y el tercero señalaba el número de diente.

Ejemplo: 01-1-4.

01 = paciente 1

1 = muestras 1

4 = diente 4



ILUSTRACIÓN 24. IDENTIFICACIÓN DE MUESTRAS.

Recolección de muestras.

Para ello se realizó lo siguiente.

- 1) Se aisló con rollos de algodón la zona donde se iba a obtener la muestra.



ILUSTRACIÓN 25. AISLADO DEL ÁREA DONDE SE TOMARÁ LA MUESTRA.

2) Se secó el área con torundas de algodón.



ILUSTRACIÓN 26. SECADO DEL ÁREA.

3) Con ayuda de curetas estériles se realizó un raspado en tercio cervical del O.D. tomando la mayor cantidad posible



ILUSTRACIÓN 27. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS CON CURETAS.

4) Se depositó la muestra dentro del tubo con caldo Müeller-Hinton, estéril.



ILUSTRACIÓN 28. DEPÓSITO DE LA MUESTRA EN CALDO M-H.

- 5) Una vez obtenidas las muestras, se sellaron las muestras con papel parafilm.



ILUSTRACIÓN 29. SELLADO DE LAS MUESTRAS CON PAPEL PARAFILM.

APÉNDICE 5: CALDO MÜELLER-HINTON.

[46]

Es un medio de uso general que puede utilizarse en el cultivo de una amplia variedad de microorganismos exigentes y no exigentes. Puede ser suplemento para permitir el desarrollo de bacterias existentes en sus requerimientos nutricionales. Con el agregado de sangre se evalúan ciertas especies de estreptococos y con el agregado de determinados cationes se evalúa el crecimiento de *Pseudomonas* frente a aminoglucósidos.

Formula (gramos x litro).

Infusión de carne	—————	3.0
Peptona ácida de caseína	—————	17.5
Almidón	—————	1.5
pH final: 7.3 ± 0.1		

Instrucciones

Se suspendieron 21 g de polvo en 1 L, en agua destilada. Calentar con agitación frecuente, llevando a ebullición total. Se distribuye en recipientes apropiados (tubos con 10 ml c/u), esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.

APÉNDICE 6: CALDO SABOURAUD.

[47]

Medio utilizado para el cultivo de hongos y levaduras. La tripteína (peptona de caseína) y la peptona de carne constituyen las fuentes de nitrógeno, vitaminas y carbono necesarios para el crecimiento de hongos y levaduras y la glucosa es la fuente de energía

FORMULA (en gramos por litro)

Tripteína	_____	5.0
Peptona de carne	_____	5.0
Glucosa	_____	20.0

pH final: 5.6 ± 0.2

Instrucciones

Suspender 30g del polvo en 1L de agua destilada. Calentar con agitación frecuente, llevando a ebullición total. Se distribuye en recipientes apropiados (tubos con 10 ml c/u), esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min.

APÉNDICE 7: MEDIOS DE CULTIVO.

AGAR MÜELLER-HINTON [48]

Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos. Ha sido recomendado para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad.

Fórmula (en gramos por litro).

Infusión de carne _____ 300.0

Peptona ácida de caseína _____ 17.5

Almidón _____ 1.5

Agar _____ 15.0

pH final: 7.3 ± 0.1

Instrucciones

Suspender 38 g de polvo en 1 L de agua destilada. Calentar con agitación frecuente llevando a ebullición total, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. Dejar enfriar a 45° - 50°C y en un ambiente estéril (campana de flujo laminar), distribuir en cajas Petri estériles.

AGAR PDA (Potato Dextrose Agar)

[49]

Es un medio estándar utilizado en el aislamiento, cultivo y recuento de hongos y levaduras. Otro de sus usos es el mantenimiento de cultivos.

La dextrosa y la infusión de patata favorecen el crecimiento de hongos y levaduras, que se ve favorecido por la ligera inhibición del crecimiento bacteriano al tener un pH ácido de 5.6. Es un medio que favorece la esporulación y permite la visualización de las características morfológicas de las colonias.

Fórmula (en gramos por litro)

Dextrosa ————— 20.0

Infusión de patata ——— 200

Agar ————— 15.0

pH final: 5.6 ± 0.2

Instrucciones

Disolver 39 g de polvo en 1 L de agua destilada. Calentar con agitación frecuente llevando a ebullición total, esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 min. Dejar enfriar a 45° - 50°C y en un ambiente estéril (campana de flujo laminar), distribuir en cajas Petri estériles.

Los Agares fueron vaciados en cajas Petri estériles dentro de la campana de flujo laminar con el fin de evitar contaminación de material, se vaciaron con un grosor aproximado de 4 ml, ya que, de ser más fino, los compuestos analizados tenderán a difundir más en dirección lateral, aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; en el caso de ser más grueso, el medio provoca que la disolución se precipite, disminuyendo en diámetro del halo de inhibición

APÉNDICE 8: INÓCULO MICROBIANO.

Antes de colocar el inóculo, las cajas petri previamente preparadas, se etiquetaron conforme al número de identificación que correspondiera.

IZQUIERDA TUBO M-H Y AGAR M-H.
DERECHA CALDO SABOURAUD Y
AGAR PDA.

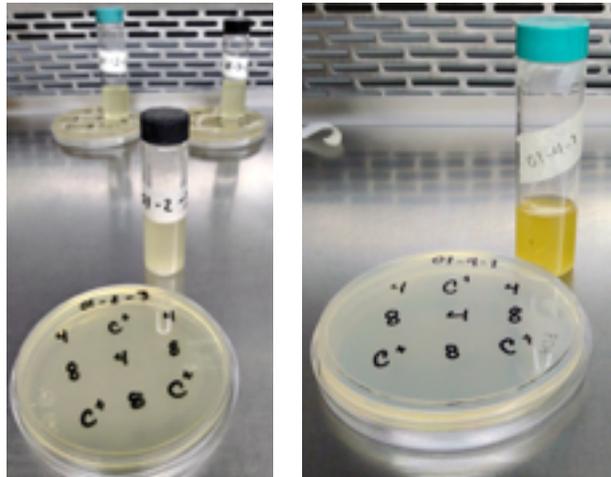


ILUSTRACIÓN 30. ETIQUETADO DE CAJAS PETRÍ CONFORME AL NÚMERO DE MUESTRA AL QUE CORRESPONDIERA.

Posteriormente para el inóculo sumergiendo un hisopo de poliéster estéril y seco en la suspensión de muestra con la que se iba a trabajar; antes de retirarlo del tubo, se debe eliminar el exceso de líquido rotando el hisopo contra las paredes internas del tubo.

Posteriormente, se inocular la superficie de la placa con el medio (Müller-Hinton o PDA) sembrando por técnica de estría cerrada por lo menos en tres direcciones, girando 60° al momento de cambiar de dirección, repitiendo la técnica en tres direcciones.

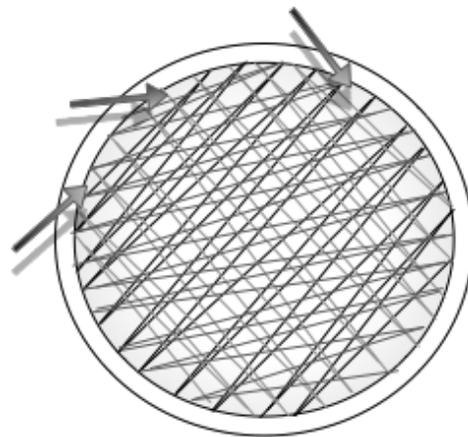


ILUSTRACIÓN 31. ESQUEMA, TÉCNICA DE ESTRÍA CERRADA (3 DIRECCIONES).

APÉNDICE 9: PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD.

La prueba debe hacerse mínimamente por triplicado y se reportan los promedios de los resultados por cepa utilizada. En cada caja petri se colocaron 9 sensidiscos en total; 3 sensidiscos impregnados con cada una de las concentraciones de propóleo y 3 impregnados con el control positivo (C+) según sea el caso (cloranfenicol o nistatina).

Dentro de la campana de flujo laminar, una vez que se ha sembrado el inóculo, se colocaron los discos manualmente en la superficie del agar, dejando una distancia adecuada entre los sensidiscos y evitando que queden dos sensidiscos juntos de la misma concentración.

- 1) Se tomaron unas pinzas y se pasaron por la flama de una lámpara de alcohol, esto con el fin de matar los microorganismos que pudieran estar presentes y evitar la contaminar el cultivo con microorganismos no pertenecientes a la muestra.
- 2) Se dejó enfriar la pinza y se colocó el sensidisco correspondiente a la concentración y lugar designados.
- 3) Una vez colocado el sensidisco se volvió a pasar por la flama la pinza, se dejó enfriar y se colocó el siguiente sensidisco.



ILUSTRACIÓN 32. DISTRIBUCIÓN DE SENSIDISCOS.

Estos pasos se van a repetir sucesivamente hasta colocar el total de 9 sensidiscos en la totalidad de la placa.

Una vez preparadas todas las placas para la prueba de susceptibilidad, se colocan en incubadora a 36°C sin mayor tensión de CO₂, esto último con la finalidad de evitar la acidificación del medio y la obtención de falsos positivos o negativos en la prueba.

APÉNDICE 10: AGAR BIGGY.

[50]

Es un medio de diferenciación parcialmente selectivo para el aislamiento y la diferenciación de las especies Cándidas de muestras clínicas.

Fórmula (en gramos por litro)

Citrato de amonio y bismuto	_____	5.0
Sulfito sódico	_____	3.0
Glucosa	_____	10.0
Glicina	_____	10.0
Extracto de levadura	_____	1.0
Agar	_____	16.0

pH final: 6.8 ± 0.2 .

Instrucciones

Disolver 45 g de polvo en 1 L de agua destilada. Calentar con agitación frecuente llevando a ebullición total, dejar enfriar a 45° - 50°C y en un ambiente estéril (campana de flujo laminar), distribuir en cajas Petri estériles. (No necesita esterilizar).

APÉNDICE 11: TÉCNICA DE ESTRÍA POR AGOTAMIENTO.

Para este caso se realizaron cultivos de las terceras muestras de paciente, sembradas en agar PDA.

El procedimiento se realizó en la campana de flujo laminar, con el fin de evitar una contaminación del Agar con microorganismos que no pertenezcan a las muestras a cultivar.

- 1) Se etiquetaron las cajas Petri con Agar Biggy conforme al código de la muestra que se iba a sembrar.

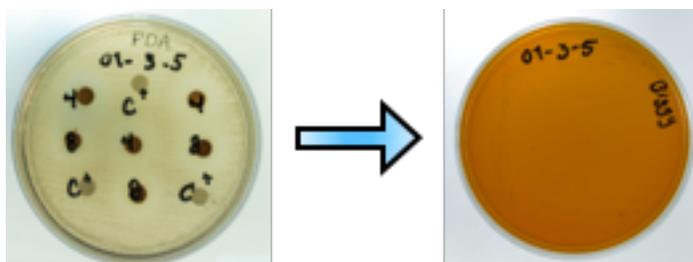


ILUSTRACIÓN 33. ETIQUETADO DE CAJAS CON AGAR BIGGY CONFORME A LA MUESTRA CORRESPONDIENTE.

- 2) Con un asa, se calentó al rojo vivo y se enfrió en un extremo del Agar PDA (en este caso fue de donde se tomó la muestra a sembrar).
- 3) Una vez enfriada el asa se raspa la superficie del crecimiento de colonias de hongos en el agar PDA.
- 4) Una vez recolectada la muestra se coloca en un extremo de la caja de Agar Biggy, con la misma ansa y se realizó un grupo de estrías paralelas, únicamente en la cuarta parte de la placa. (Ilustración 34)

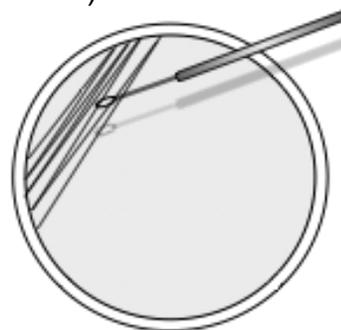


ILUSTRACIÓN 34. PRIMER GRUPO DE ESTRÍAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMIENTO.

- 5) Terminado el primer grupo de estrías, se calentó de nuevo el ansa al rojo vivo, se enfrió en el agar, se giró la caja 90° con referencia de las primeras estrías y se hizo un segundo grupo de estrías, utilizando la primera carga de muestra que ya se había colocado. (Ilustración 35)

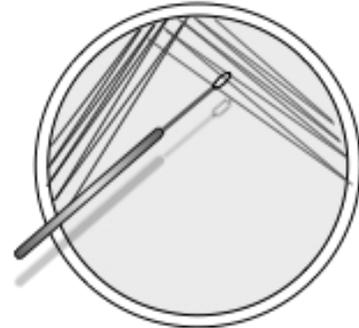


ILUSTRACIÓN 35. SEGUNDO GRUPO DE ESTRÍAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMIENTO.

- 6) Por último, se giró nuevamente la caja Petri 90° tomando como referencia el segundo grupo de estrías, se volvió a poner al rojo vivo el ansa, se enfría en el agar y se realizó el tercer grupo de estrías, jalando la muestra del segundo grupo de estrías.

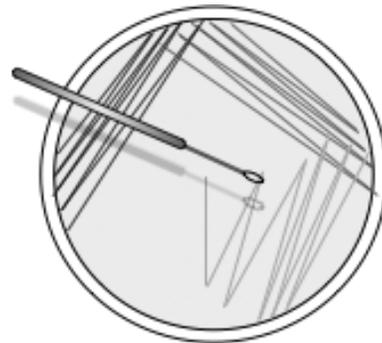


ILUSTRACIÓN 36. TERCER GRUPO DE ESTRÍAS EN TÉCNICA DE ESTRIADO POR AGOTAMIENTO.

- 7) Una vez terminado el tercer grupo se realiza una forma de “z” que cubra la parte del agar que se quedó limpio de muestra. (Ilustración 36)

- 8) Se deja encubar por 48 h. a 36°C.

APÉNDICE 12: IDENTIFICACIÓN DE CÁNDIDAS.

[51]

A) CHROMAGAR

Es un medio utilizado para el aislamiento y la identificación de *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* a partir de muestras clínicas. Inhibe el crecimiento de bacterias, también puede utilizarse como medio de aislamiento selectivo para otras especies de levaduras y para hongos filamentosos.

Es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos. Con la inclusión de sustratos cromógenos en el medio, las colonias de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* producen colores diferentes, lo que permite la detección directa de estas especies de levaduras en la placa de aislamiento. Las colonias de *C. albicans* presentan un color de verde claro a mediano, las colonias de *C. tropicalis*, de azul verdoso a azul metálico y las colonias de *C. krusei*, rosado claro con borde blancuzco. Es posible que otras especies de levaduras produzcan su color natural (crema) o presenten un color rosado o malva de claro a oscuro (por ejemplo, *Candida glabrata* y otras especies). Una ventaja adicional del medio es la fácil detección de cultivos mixtos de levaduras, debido a los diferentes colores que presentan sus colonias.

Fórmula (en gramos por litro)

Cromopeptona	10.0
Glucosa	20.0
Mezcla cromógena	2.0
Cloranfenicol	0.5
Agar	15.0
pH final	6.0 ± 0.3

Código de colores

TABLA 7. CÓDIGO DE COLORES DE CHROMOAGAR.

CEPAS	BBL CHROMAGAR CANDIDA MEDIUM
Candida albicans ATCC 60193	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color verde claro a mediano
Candida albicans ATCC 10231	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color verde claro a medio
Candica Krusei ATCC 34135	Crecimiento de bueno a excelente; colonias grandes y planas, de color de rosado claro a rosa, con un borde blancuzco.
Candida tropicalis ATCC 1369	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de azul grisáceo a azul verdoso o azul metálico, con o sin halos violetas en el medio circundante.
Candida tropicalis ATCC 9968	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color gris azulado, con a sin halos de color violeta.
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Inhibición de parcial a completa
Sin inocular	De incoloro a beige claro, transparentes.

B) Identificación de Cándidas

Después de haber pasado 48 h de encubación de los cultivos en Agar Biggy, se observan cuales presentaron mayor crecimiento de cándidas y son las que se seleccionan para cultivo en chromagar, siendo las muestras 01-3-1, 01-3-4 y 01-3-6.

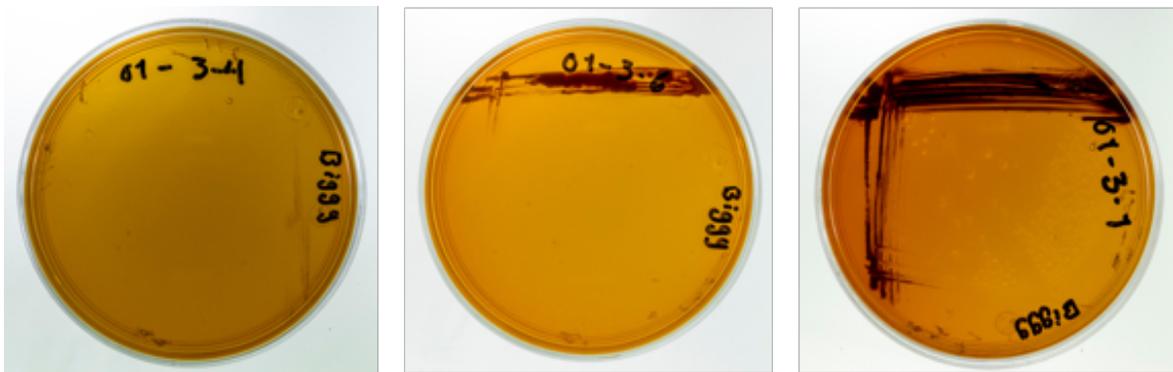


ILUSTRACIÓN 37. CULTIVO QUE PRESENTARON CRECIMIENTO DE CANDIDAS

- 1) Dentro de la campana de flujo laminar, se marcó la caja septada conforme al código de muestra que corresponde.
- 2) Se realizaron los cultivos, utilizando la técnica de estría por agotamiento. Realizando los mismos pasos que para el cultivo en Agar Biggy (véase apéndice 11).
- 3) Una vez realizado los cultivos de las tres muestras se dejó encubar por 48 h. A 36°C.



ILUSTRACIÓN 38. RESULTADOS FINAL DE IDENTIFICACIÓN DE CANDIDAS.

APÉNDICE 13: SEGUNDO PERIODONTOGRAMA OBTENIDO MEDIANTE EL ANÁLISIS PERIODONTAL DE LA SONDA FLORIDA (ESTADO FINAL DEL PACIENTE).

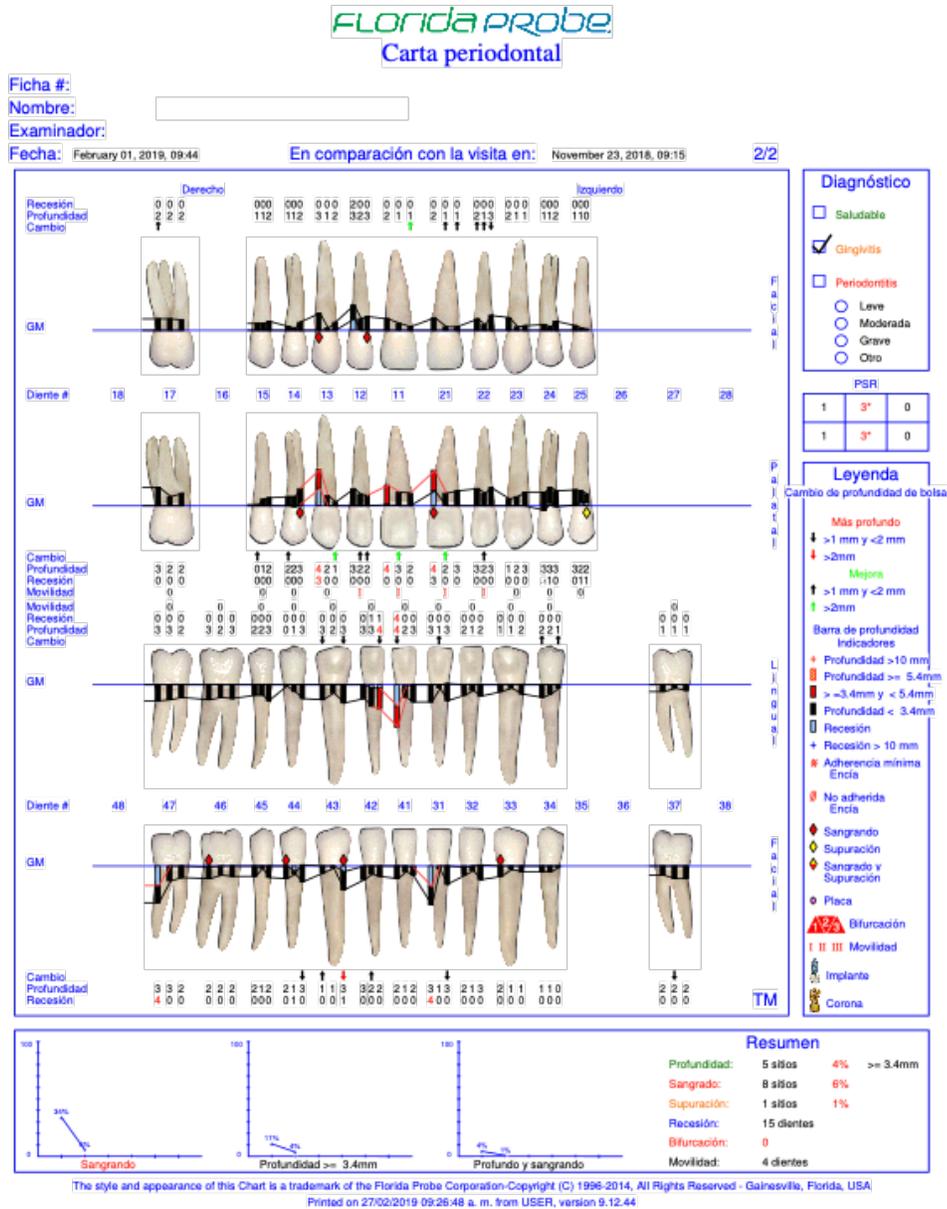


ILUSTRACIÓN 39. PERIODONTOGRAMA FINAL DEL PACIENTE MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA SONDA FLORIDA.

APÉNDICE 14: ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tablas de análisis estadístico (bacterias)

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición BACTERIAS

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	1 Inicial	50	4	10.220	0.871	6.159	5.000	6.000	7.000
	10 min	53	1	10.189	0.868	6.319	5.000	6.000	7.000
	1ª semana	54	0	6.130	0.293	2.155	5.000	5.000	5.000

Variable	Muestra	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	11.000	23.000
	10 min	10.500	28.000
	1ª semana	7.000	13.000

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición

Variable	Diente	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1	27	0	6.667	0.239	1.240	5.000	5.000	7.000	8.000
	2	27	0	9.67	1.30	6.74	5.00	5.00	7.00	8.00
	3	27	0	9.52	1.48	7.69	5.00	5.00	5.00	8.00
	4	26	1	9.77	1.09	5.54	5.00	5.00	7.50	12.00
	5	25	2	9.64	1.19	5.97	5.00	5.00	7.00	10.50
	6	25	2	7.560	0.494	2.468	5.000	5.000	7.000	9.500

Variable	Diente	Maximum
Halo de Inhibición	1	9.000
	2	23.00
	3	28.00
	4	22.00
	5	22.00
	6	13.000

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición

Variable	Tratamiento	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	Cloranfenicol	53	1	12.30	1.11	8.12	5.00	5.00	7.00
	propóleo 4%	54	0	6.907	0.254	1.866	5.000	5.000	7.000
	propóleo 8%	50	4	7.140	0.270	1.906	5.000	5.000	7.000

Variable	Tratamiento	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	Cloranfenicol	21.00	28.00
	propóleo 4%	8.000	11.000
	propóleo 8%	8.000	12.000

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición

Results for Tratamiento = Cloranfenicol

Variable	Diente	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1	9	0	5.667	0.333	1.000	5.000	5.000	5.000	7.000
	2	9	0	16.22	2.83	8.50	5.00	5.00	20.00	23.00
	3	9	0	17.22	3.16	9.48	5.00	5.00	20.00	24.50
	4	9	0	14.00	2.40	7.21	5.00	5.00	15.00	21.00
	5	8	1	14.88	2.90	8.20	5.00	5.00	20.00	21.00
	6	9	0	6.111	0.889	2.667	5.000	5.000	5.000	6.000

Variable	Diente	Maximum
Halo de Inhibición	1	7.000
	2	23.00
	3	28.00
	4	22.00
	5	22.00
	6	13.000

Results for Tratamiento = propóleo 4%

Variable	Diente	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1	9	0	6.778	0.364	1.093	5.000	6.000	7.000	8.000
	2	9	0	6.222	0.364	1.093	5.000	5.000	6.000	7.000
	3	9	0	5.556	0.294	0.882	5.000	5.000	5.000	6.500
	4	9	0	7.444	0.915	2.744	5.000	5.000	6.000	11.000
	5	9	0	7.222	0.641	1.922	5.000	5.000	7.000	9.000
	6	9	0	8.222	0.641	1.922	6.000	7.000	7.000	10.500

Variable	Diente	Maximum
Halo de Inhibición	1	8.000
	2	8.000
	3	7.000
	4	11.000
	5	10.000
	6	11.000

Results for Tratamiento = propóleo 8%

Variable	Diente	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1	9	0	7.556	0.294	0.882	6.000	7.000	8.000	8.000
	2	9	0	6.556	0.444	1.333	5.000	5.000	7.000	8.000
	3	9	0	5.778	0.401	1.202	5.000	5.000	5.000	7.000
	4	8	1	7.625	0.905	2.560	5.000	5.000	7.500	10.500
	5	8	1	7.125	0.766	2.167	5.000	5.000	7.000	8.750
	6	7	2	8.571	0.841	2.225	6.000	7.000	8.000	11.000

Variable	Diente	Maximum
----------	--------	---------

Halo de Inhibición	1	9.000
	2	8.000
	3	8.000
	4	11.000
	5	11.000
	6	12.000

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición

Results for Tratamiento = Cloranfenicol

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1 Inicial	17	1	15.53	1.96	8.08	5.00	5.00	20.00	21.50
	10 min	18	0	16.00	1.88	7.96	5.00	7.00	18.50	22.25
	1ª semana	18	0	5.556	0.452	1.917	5.000	5.000	5.000	5.000

Variable	Muestra	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	23.00
	10 min	28.00
	1ª semana	13.000

Results for Tratamiento = propóleo 4%

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1 Inicial	18	0	7.333	0.428	1.815	5.000	6.000	7.000	7.250
	10 min	18	0	7.000	0.343	1.455	5.000	6.000	7.000	8.000
	1ª semana	18	0	6.389	0.525	2.227	5.000	5.000	5.000	8.000

Variable	Muestra	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	11.000
	10 min	10.000
	1ª semana	11.000

Results for Tratamiento = propóleo 8%

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1 Inicial	15	3	7.667	0.386	1.496	6.000	7.000	7.000	8.000
	10 min	17	1	7.412	0.394	1.622	5.000	6.500	7.000	8.500
	1ª semana	18	0	6.444	0.544	2.307	5.000	5.000	5.000	8.000

Variable	Muestra	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	11.000
	10 min	11.000
	1ª semana	12.000

Descriptive Statistics: Halo de Inhibición

Results for Diente = 1

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1 Inicial	9	0	5.889	0.309	0.928	5.000	5.000	6.000	7.000
	10 min	9	0	7.222	0.324	0.972	6.000	6.500	7.000	8.000
	1ª semana	9	0	6.889	0.484	1.453	5.000	5.000	8.000	8.000

Variable	Muestra	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	7.000
	10 min	9.000
	1ª semana	8.000

Results for Diente = 2

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	1 Inicial	9	0	11.78	2.58	7.74	6.00	6.00	7.00
	10 min	9	0	12.22	2.38	7.14	7.00	7.00	8.00
	1ª semana	9	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000

Variable	Muestra	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	21.50	23.00
	10 min	21.00	23.00
	1ª semana	5.0000	5.0000

Results for Diente = 3

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	1 Inicial	9	0	11.67	2.36	7.07	6.00	7.00	7.00
	10 min	9	0	11.89	3.46	10.39	5.00	5.00	5.00
	1ª semana	9	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000

Variable	Muestra	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	20.00	23.00
	10 min	24.50	28.00
	1ª semana	5.0000	5.0000

Results for Diente = 4

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	1 Inicial	8	1	14.88	1.89	5.36	11.00	11.00	11.00
	10 min	9	0	10.00	1.46	4.39	6.00	6.50	8.00
	1ª semana	9	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000

Variable	Muestra	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	21.00	22.00
	10 min	15.00	17.00

1ª semana 5.0000 5.0000

Results for Diente = 5

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halo de Inhibición	1 Inicial	7	2	11.14	2.42	6.41	7.00	7.00	8.00
	10 min	9	0	13.11	2.01	6.03	7.00	9.00	10.00
	1ª semana	9	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000

Variable	Muestra	Q3	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	20.00	21.00
	10 min	20.50	22.00
	1ª semana	5.0000	5.0000

Results for Diente = 6

Variable	Muestra	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halo de Inhibición	1 Inicial	8	1	6.250	0.412	1.165	5.000	5.000	6.500	7.000
	10 min	8	1	6.250	0.412	1.165	5.000	5.000	6.500	7.000
	1ª semana	9	0	9.889	0.841	2.522	5.000	8.000	11.000	11.500

Variable	Muestra	Maximum
Halo de Inhibición	1 Inicial	8.000
	10 min	8.000
	1ª semana	13.000

General Linear Model: Halo de Inhibición versus Muestra, Diente, Tratamiento

Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Rows unused 5

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Muestra	Fixed	3	1 Inicial, 10 min, 1ª semana
Diente	Fixed	6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Tratamiento	Fixed	3	Cloranfenicol, propóleo 4%, propóleo 8%

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Muestra	2	589.55	294.775	305.66	0.000

Diente	5	255.77	51.154	53.04	0.000
Tratamiento	2	1016.19	508.097	526.85	0.000
Muestra*Diente	10	761.04	76.104	78.91	0.000
Muestra*Tratamiento	4	697.43	174.359	180.79	0.000
Diente*Tratamiento	10	1006.70	100.670	104.39	0.000
Muestra*Diente*Tratamiento	20	366.59	18.329	19.01	0.000
Error	103	99.33	0.964		
Total	156	4768.88			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.982039	97.92%	96.85%	95.24%

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Halo de Inhibición	Fit	Resid	Std Resid	
16	20.000	22.000	-2.000	-2.49	R
25	23.000	21.000	2.000	2.49	R
72	20.000	21.667	-1.667	-2.08	R
79	28.000	25.667	2.333	2.91	R
80	24.000	25.667	-1.667	-2.08	R
94	11.000	9.000	2.000	2.49	R
96	7.000	9.000	-2.000	-2.49	R
157	9.000	10.667	-1.667	-2.08	R
161	5.000	8.333	-3.333	-4.16	R
162	13.000	8.333	4.667	5.82	R

R Large residual

Tablas de análisis estadístico (hongos)

Descriptive Statistics: Halos de Inhibición HONGOS

Variable	Diente_1	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halos de Inhibición	1	18	0	6.389	0.244	1.037	5.000	5.000	7.000	7.000
	2	18	0	9.000	0.922	3.911	5.000	6.000	7.000	14.000
	3	9	0	9.22	1.06	3.19	5.00	5.00	11.00	11.50
	4	18	0	11.33	1.06	4.51	5.00	6.50	13.00	14.00
	5	9	0	10.89	1.49	4.48	5.00	5.00	13.00	14.50
	6	18	0	6.556	0.145	0.616	6.000	6.000	6.500	7.000

Variable	Diente_1	Maximum
Halos de Inhibición	1	8.000
	2	15.000
	3	12.00
	4	19.00
	5	15.00
	6	8.000

Descriptive Statistics: Halos de Inhibición HONGOS

Variable	Tratamiento_1	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halos de Inhibición	nistatina	30	0	5.500	0.115	0.630	5.000	5.000	5.000
	propóleo 4%	30	0	10.267	0.631	3.453	6.000	7.000	9.500
	propóleo 8%	30	0	10.233	0.691	3.785	5.000	7.000	9.500

Variable	Tratamiento_1	Q3	Maximum
Halos de Inhibición	nistatina	6.000	7.000
	propóleo 4%	13.000	18.000
	propóleo 8%	14.000	19.000

Descriptive Statistics: Halos de Inhibición HONGOS

Results for Tratamiento_1 = nistatina

Variable	Diente_1	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halos de Inhibición	1	6	0	5.333	0.211	0.516	5.000	5.000	5.000
	2	6	0	5.500	0.224	0.548	5.000	5.000	5.500
	3	3	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000
	4	6	0	5.667	0.422	1.033	5.000	5.000	5.000
	5	3	0	5.0000	0.000000	0.000000	5.0000	5.0000	5.0000
	6	6	0	6.0000	0.000000	0.000000	6.0000	6.0000	6.0000

Variable	Diente_1	Q3	Maximum
----------	----------	----	---------

Halos de Inhibición	1	6.000	6.000
	2	6.000	6.000
	3	5.0000	5.0000
	4	7.000	7.000
	5	5.0000	5.0000
	6	6.0000	6.0000

Results for Tratamiento_1 = propóleo 4%

Variable	Diente_1	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Halos de Inhibición	1	6	0	7.000	0.258	0.632	6.000	6.750	7.000
	2	6	0	10.83	1.49	3.66	7.00	7.75	10.00
	3	3	0	11.333	0.333	0.577	11.000	11.000	11.000
	4	6	0	14.333	0.803	1.966	13.000	13.000	13.500
	5	3	0	13.000	0.000000	0.000000	13.000	13.000	13.000
	6	6	0	7.000	0.258	0.632	6.000	6.750	7.000

Variable	Diente_1	Q3	Maximum
Halos de Inhibición	1	7.250	8.000
	2	15.00	15.00
	3	12.000	12.000
	4	15.750	18.000
	5	13.000	13.000
	6	7.250	8.000

Results for Tratamiento_1 = propóleo 8%

Variable	Diente_1	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3
Halos de Inhibición	1	6	0	6.833	0.401	0.983	5.000	6.500	7.000	7.250
	2	6	0	10.67	1.65	4.03	7.00	7.00	10.50	14.25
	3	3	0	11.333	0.333	0.577	11.000	11.000	11.000	12.000
	4	6	0	14.00	1.03	2.53	12.00	12.75	13.00	15.25
	5	3	0	14.667	0.333	0.577	14.000	14.000	15.000	15.000
	6	6	0	6.667	0.211	0.516	6.000	6.000	7.000	7.000

Variable	Diente_1	Maximum
Halos de Inhibición	1	8.000
	2	15.00
	3	12.000
	4	19.00
	5	15.000
	6	7.000

General Linear Model: Halos de Inhibición versus Diente_1, Tratamiento_1

Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Diente_1	Fixed	6	1, 2, 3, 4, 5, 6
Tratamiento_1	Fixed	3	nistatina, propóleo 4%, propóleo 8%

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Diente_1	5	350.8	70.167	22.98	0.000
Tratamiento_1	2	491.1	245.528	80.42	0.000
Diente_1*Tratamiento_1	10	202.1	20.207	6.62	0.000
Error	72	219.8	3.053		
Total	89	1224.0			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.74735	82.04%	77.80%	74.00%

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Halos de Inhibición	Fit	Resid	Std Resid	
10	15.000	10.833	4.167	2.61	R
12	15.000	10.833	4.167	2.61	R
13	15.000	10.667	4.333	2.72	R
14	14.000	10.667	3.333	2.09	R
15	14.000	10.667	3.333	2.09	R
28	18.000	14.333	3.667	2.30	R
31	19.000	14.000	5.000	3.13	R
65	7.000	10.833	-3.833	-2.40	R
67	7.000	10.667	-3.667	-2.30	R
68	7.000	10.667	-3.667	-2.30	R
69	7.000	10.667	-3.667	-2.30	R

R Large residual

REFERENCIAS

1. Pérez, J., y Gardey, A. (2012), Definición de ecología, *Definición. de.* Recuperado de: <https://definicion.de/ecologia/>.
2. Socransky, S.S. y Haffajee, A.D. (2005). Periodontal Microbial Ecology. *Periodontology 2000*, 38: 135-187.
3. Lindhe, J., Karring, T., Lang, N.P. (2000). *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*, Madrid, España: Panamericana.
4. Negori, M. (2009), *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y guía práctica*, Buenos Aires, Argentina, Panamericana
5. Morales, D., Hogan, D.(2010), Candida albicans Interactions with Bacteria in the Context of Human Health and Disease. *PLoS Pathog.* 6(4): e1000886. doi: 10.1371/journal.ppat.1000886.
6. Cruz, Q.S., Díaz, S.P., Arias, S.D., Mazón, B.G. (2017). Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Revista Cubana de Estomatología.* 54(1): 84-99. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008.
7. Zaura, E., Keijser, B.J., Huse, S.M., Crielaard, W.(2009). Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. *BMC Microbiology.* 9(259). 12 pág. doi: 10.1186/1471-2180-9-259.
8. Socransky, S.S. y Haffajee, A.D. (2002). Dental Biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*, 28: 12-55. ISSN 0906-6713.
9. Almaguer. F.A, Villagómez. O.J.G. (2017). *Ecología Oral*. México: Manual Moderno.
10. Diversidad e Interacciones Bacterianas. (2018). Perio.Expertise. Español (España).Dentaid. Recuperado de: <https://www.perioexpertise.es/es/enfermedad-encias-biofilm-dental-diversidad-interacciones-bacterianas>.

11. Liébana. U.J. (2002), *Microbiología Oral*, Aravac, España: McGraw-Hill-Interamericana.
12. Rodríguez, O.J., Miranda, T.J., Morejón, L.H., Santana, G.J. (2002). Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. *Revista Cubana de Estomatología*. 39(2). 17 pág. ISSN: 1561-297X. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007.
13. Shirliff, M.E et al.(2009). Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiology Letters*. 299: 1-8. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01668. x.
14. Botero J.E, Bedoya E. (2010). Determinantes del Diagnóstico Periodontal. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*. 3(2): 94-99. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072010000200007>.
15. Zerón, A. (2001). Nueva clasificación de las enfermedades periodontales. *Revista ADM*. 58(1):16-20.
16. Caton, J., Armitage, G., Berglundh, T. Et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions-Introduction and key changes from the 1999 classification. *JPeriodontol*. 2018; 89(Suppl 1): S1-S8. doi: 10.1111/jcpe.12935.
17. Matesanz P.P. Matos C.R. Y Bascones M.A. (2008). Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. *Avances En Periodoncia*. 20(1): 11-25.
18. Gómez, M.G., Aguilar, S.A., Guardia, J. y Calvo, G.J.L. (sep. - dic 2011). Inflamación Gingival y Biofilm Oral. *Dentaid Expertise*. Recuperado de: http://www.dentaid.com/uploads/resources/3_01122014100607_Dentaid_Expertise_07.pdf.
19. Papapanou, P.N., Sanz, M. et al. Periodontitis: Consensus report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal

- and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Suppl 20):S162-S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>.
20. Bascones M.A., Figuero R.E. (2004). Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 9: 92-100. Suppl: S75-91.
21. Cowburn A., Condliffe A., Farahi N., et. al. (2008), Advances in Neutrophil Biology: *Clinical Implications*, *Chest*, 134(3): 606-612. doi:10.1378/chest.08-0422, 2008.
22. Carranza, F., Newman, Takei (2003). *Periodontología Clínica*, México: McGraw-Hill.
23. Pérez, C.M., Cosetti, O.L., Crestanello, N.J. (2004). Candidiasis bucal. *Actas Odontológicas*. 1(1): 53-62. ISSN: 1510-8139. Recuperado de: <https://revistas.ucu.edu.uy/index.php/actasodontologicas/article/download/903/902/>.
24. Aguirre Urizar, J.M. (2002). Candidiasis orales. *Revista Iberoamericana de Micología*. 19: 17-21. Recuperado de: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf>.
25. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). Los productos de la colmena. Tomado el 09 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/los-productos-de-la-colmena>
26. Abejas ... y la apicultura, (2017), *eco colmena*. Recuperado de: <http://ecocolmena.com/ecocolmena/politica-cookies/>
27. Dodwad, V., Kukreja, B.J. (2011). Propolis mouthwash: A new beginning. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2): 121-125. doi: 10.4103/0972-124X.8437
28. Pasupuleti, V.R., Sammugan, L., Ramesh, N. y Hua Gan, S. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological

- Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 21 páginas. doi:10.1155/2017/1259510.
29. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (2017). #DíaMundialDeLasAbejas: Además de miel ¿qué más hay en la colmena? Tomado el 09 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/ademas-de-miel-que-mas-hay-en-la-colmena?tab=>.
30. Franca, J.R. et al. (2014). Propolis- based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(478), 11 pág. Recuperado de: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/14/478>.
31. Asawahame, Ch., Sutjarittangtham, K., Eitssayeam, S., Tragoolpua, Y., Sirithunyalug, B. y Sirithunyalug J. (2015). Antibacterial Activity and Inhibition of Adherence of *Streptococcus mutans* by Propolis Electrospun Fibers. *American Association of Pharmaceutical Scientist*, 16(1): 182-191. doi: 10.1208/s12249-014-0209-5.
32. Akca, A.E., Akca, G., Topçu, F.T., Macit, E., Pıkdöken, L. y Özgen, I.S. (2005). The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *BioMed Research International*, 2016, 8 pág. Recuperado de: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/3627463/>.
33. Secretarías de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). ¿Que es la apicultura? Tomado el 09 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.gob.mx/sader/es/articulos/que-es-la-apicultura>.
34. Coordinación General de Ganadería. Programa Nacional para el Control de la Abeja Africana. (2010). Situación Actual y Perspectiva De La Apicultura en México. *Claridades Agropecuarias*, 199:33.

35. Rojo, B.N., Flores, E.A., Arcos, C.M. (2011). Prevalencia, severidad y extensión de periodontitis crónica. *Revista odontológica mexicana*. 15(1): 31-39.
36. Secretaria de Salud (2015). Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales 10 años vigilando la salud bucal de los mexicanos. Tomado el 10 de abril del 2019. Recuperado de: http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/saludbucal/descargas/pdf/10Anos_SIVEPAB.pdf.
37. Secretaria de Salud. (2017). Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales. SIVEPAB 2017. Tomado el 10 de abril del 2019. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/416706/SIVEPAB_2017.pdf.
38. Quintero-Mora, M.L. et al. (2008). Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. *Rev. Iberoam. Micol.* 25: 22-26.
39. Hwu, Y.J. & Lin, F.Y. (2014). Effectiveness of propolis on oral health: A meta-analysis. *The journal of Nursing Research*. 22(4):221-230. doi: 10.1097/jnr.0000000000000054.
40. Morales, G.Y., Herrera, M.C., Muñoz, R.J. (2007). Cloranfenicol, un antibiótico clásico como alternativa en el presente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 38(1):58-69. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/html/579/57938108/>.
41. PEDIAMÉCUM (2015). Nistatina. Tomado el 11 de abril del 2019. Recuperado de: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Nistatina.pdf>.
42. VADECUM (2018). Mecanismo de acción, Nistatina estomatología. Tomado el 11 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.vademecum.es/equivalencia-lista-nistatina+suspension>

43. Organización Mundial de la Salud (2017). ¿Qué es la resistencia a los antimicrobianos? Tomado el 11 de abril del 2019. Recuperado de: <https://www.who.int/features/qa/75/es/>.
44. Florida probe. (2019). Florida Probe Handpiece: At-a-glance. Tomado el 10 de abril del 2019. Recuperado de: <http://www.floridaprobe.com/fphandpiece.htm>.
45. Bermejo, C.I., (2019). Sonda Florida. *revistahigienistas.com*. 43. Recuperado de: <https://www.revistahigienistas.com/new/22-a-praxis.asp>.
46. Medio BBL preparado para el cultivo de microorganismos. (2003). Mueller Hinton Broth. *BD*. 5 pág. PA- 8806691.
47. BBL Sabouraud Dextrose Agar. (2015). BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol. *BD*. 4 pág. L007492.
48. INSTRUCCIONES DE USO-MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR. (2017). *BD Mueller Hinton II Agar*. *BD* 11 páginas. PA-254032.08.
49. Francisco Soria Melguizo, S.A. (2009). Potato Dextrose Agar. Tomado el 10 de abril del 2019. Recuperado de: http://f-soria.es/Inform_soria/Difco%20Fichas%20tecnicas/TUBOS%20DIFCO/FT%20POTATO%20DEXTROSE%20AGAR.pdf.
50. INSTRUCCIONES DE USO-MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR. (2011). *BD BiGGY Agar (Bismuth Glucose Glycine Yeast Agar)*. *BD*. 3 pág. PA-255002.05.
51. INSTRUCCIONES DE USO-MEDIOS EN PLACA LISTOS PARA USAR. (2014). *BBL™ CHROMagar™ Candida Medium*. *BD*. 4 pág. P-A-257480.05.