

UNIVERSIDAD DE GRANADA ESPAÑA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

Determinación de los Efectos Terapéuticos (Antisépticos, Antiinflamatorios y Analgésicos) del Compuesto “Hierbas Suecas” para el Tratamiento de Algunas Afecciones Bucales.

ROSALVA GONZÁLEZ MELÉNDEZ

Universidad Autónoma de Nuevo León

GRANADA 2010

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autora: Rosalva González Meléndez
D.L.: GR 2995-2010
ISBN: 9788469325810
URI: <http://hdl.handle.net/10481/4929>



Alejandro Ceballos Salobreña, Catedrático de Medicina Bucal de la Universidad de Granada, Director de la Tesis Doctoral titulada: "Determinación de los Efectos Terapéuticos (Antisépticos, Antiinflamatorios y Analgésicos) del Compuesto "Hierbas Suecas" para el Tratamiento de Algunas Afecciones Bucales". de la que es autor D^a. **ROSALVA GONZÁLEZ MELÉNDEZ**, realizada dentro del Programa de Doctorado "*Investigación Odontológica en el Tercer Milenio*" desarrollado por el Departamento de Estomatología de la Universidad de Granada.

AUTORIZA la presentación de la referida Tesis para su defensa y mantenimiento de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 56/2005, de 21 de enero, emitiendo el siguiente informe:

Los trabajos efectuados en la elaboración de esta memoria han sido realizados bajo mi supervisión y dirección, reuniendo las condiciones académicas necesarias para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste y surta sus efectos en el expediente correspondiente, expido la presente en Granada a cuatro de febrero de dos mil diez.

Fdo.: Alejandro Ceballos Salobreña

AGRADECIMIENTOS

Universidad de Granada

Facultad de Odontología

Dr. Alberto Rodríguez Archilla

Quien de Manera sabia, prudente y humana dirige el destino de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada.

Dr. Alejandro Ceballos Salobreña

Hombre honorable, quien con su liderazgo y autoridad permitió que cambiara el destino profesional de nuestros profesores, para beneficio de la Facultad.

En lo profesional y en lo personal:

Especialmente *Gracias* por haberme guiado con su valiosa experiencia y conocimientos para un mejor resultado de este trabajo de tesis; y en cuanto al Programa de Doctorado, mi respeto y admiración por la oportunidad dada y por su genuino interés, apoyo y preocupación para el desarrollo del mismo, que siempre fueron incondicionales.

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Odontología

Dra. Marianela Garza Enríquez

Quien con su tenacidad y pensamiento transformador logró la consolidación de este proyecto largamente trabajado, dándonos además su total apoyo para su realización y conclusión.

Dr. Sergio Eduardo Nakagoshi Cepeda

Mi Jefe apreciado, compañero y amigo *Gracias* siempre por la oportunidad en lo profesional de formar parte de todo y por la confianza depositada en mí y en ello la libertad de trabajo.

Dra. Miriam de la Garza

Como investigadora, compañera y amiga, siempre interesada y dispuesta a ayudar.

Master Gustavo Israel Martínez González "El Bioestadista"

Sin su valioso trabajo estadístico en el planteamiento y en la conclusión de la tesis, ésta no hubiera podido realizarse con el mismo nivel.

Facultad de Biología

Dr. Ricardo Alberto Gómez Flores

Personaje muy competente de la investigación y además entusiasta, que permitió el desarrollo de éste trabajo de tesis en sus instalaciones, dando toda la asesoría, orientación apoyo y confianza para su desarrollo y conclusión.

Bióloga Enriqueta Monreal

Especialmente gracias por su ayuda total e incondicional en el laboratorio de Inmunobiología, para la realización de todos los protocolos experimentales y por la calidez con la que me instruyó.

OBP Humberto Carlos Hernández Martínez y OBP Vilma Suárez Martínez

Quienes con toda disposición me ayudaron con su conocimiento y manejo experimentado en la instrucción y realización de cada uno de los pasos de los protocolos.

Dedicatoria

A DIOS

Mi cómplice en todo, a quien amo más allá de todo entendimiento.

A MI MADRE

María Hilda Meléndez Echartea

Mujer hermosa y virtuosa en gran manera a quien extraño profundamente.

A MI HIJO

Francisco Issachar Silva González

Mi especial tesoro, que me ha sabido amar y comprender a pesar de todo el tiempo que le debo a su vida y siempre encantada de ser su mamá.

A ANTONIO

Padre de mi hijo, por quien fui esposa, por quien fui madre y por quien ahora soy muy feliz al lado de mi hijo.

A MI HERMANOS

A mis adorados hermanos: **Benjamín** que nos cuida y protege desde su nueva morada, a mi hermano **Rafael** que en su sencillez nos ama, a **Jazmín** quien como si fuera nuestra madre vela por nosotros, a mi hermano **Gabriel** sabio, tierno y amoroso cuya vida le suma valor a la mía y a **Liliana** la chiquita protegida que terminará protegiéndonos a todos.

A MI SOBRINOS

A todos los hijos de mis hermanos, mis queridos sobrinos, Selene, Jazmín, Gabriel, Ezequiel, Dail, Ely, Gady, Jacob, Benjamín, Rafael, Alejandro, Alberto, Rogelio, y mi sobrina adoptada Yeny, quienes nos continuarán en el paso de esta agraciada vida.

A ANITA

Mi ayuda incondicional, quien con su alegría ameniza cada día la vida de quienes la rodean.

Y A MI MISMA,

Simplemente, por haber llegado aquí.

INDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 MEDICINA ALTERNATIVA Y COMPLEMENTARIA	10
1.2 LAS HIERBAS SUECAS	13
1.3 INGREDIENTES	14
1.4 PREPARACIÓN	16
1.5 ANTIGUO MANUSCRITO	17
1.6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
2. OBJETIVOS	20
2.1 JUSTIFICACIÓN	20
2.2 OBJETIVO GENERAL	20
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
2.3.1 DETERMINAR EL EFECTO ANTIOINFLAMATORIO A PARTIR DE LA PRODUCCIÓN DE OXIDO NITRICO POR MACRÓFAGOS	20
2.3.2 DETERMINAR EL EFECTO ANTISEPTICO IN VITRO A PARTIR DE CULRIVOS PUROS DE MICROORGANISMOS	20
2.3.3 DETERMINAR EL EFECTO ANTISEPTICO IN VITRO A PARTIR DE MUESTRAS CLINICAS DE MICROORGANISMOS	20
2.3.4 DETERMINAR EL EFECTO ANALGESICO BAJO LA TECNICA DE ANALGESIA QUIMICA	20
3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	22
3.2 LA MUESTRA	22
3.2.1 Determinación del Tamaño de la Muestra	22
3.2.1.1 Efecto antiinflamatorio	22
3.2.1.2 Efecto antibiótico o antimicrobiano	22
3.2.1.3 Efecto analgésico	24
3.3 CRITERIOS	24
3.3.1 Criterios de Inclusión	24
3.3.2 Criterios de Exclusión	24
3.3.3 Criterios de Eliminación	24
3.4 PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS	24
3.4.1 Definición de Variables	25

3.5 EJECUCIÓN DEL PROYECTO. / Descripción De Procedimientos	25
3.5.1 <u>Liofilización.-</u> Procedimiento para el aislamiento de sustancias bioactivas del compuesto Hierbas Suecas.	25
3.5.2 <u>Preparación del extracto.-</u> Procedimiento para la preparación del extracto de Hierbas Suecas	26
3.5.3 <u>Efecto Analgésico.-</u> Procedimiento para medir el efecto del extracto en la viabilidad y producción de óxido nítrico de los macrófagos intraperitoneales murinos.	26
3.5.3.1 Los reactivos y los Medios de Cultivo	26
3.5.3.2 Animales de Experimentación.	26
3.5.3.3 Obtención de macrófagos peritoneales murinos	27
3.5.3.4. Producción de óxido nítrico de los macrófagos estimulados con LPS	27
3.5.3.5 Determinación de la viabilidad de los macrófagos por el método de reducción de I bromuro 3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil- 2H tetrazolio (MTT).	28
3.5.4 <u>Efecto Antibiótico.-</u> Procedimiento Efecto Antibiótico por el Método Colorimétrico (MTT)	29
3.5.4.1. <u>Efecto Antibiótico con Muestras Clínicas de Pacientes .-</u> Actividad <i>in vitro</i> del extracto Hierbas Suecas contra de microorganismos presentes en cavidad bucal a partir de muestras clínicas de pacientes.	29
3.5.4.1.1 Obtención de los Microorganismos	29
3.5.4.1.2 Activación de Bacterias	30
3.5.4.1.3 Conteo y ajuste bacteriano	31
Desarrollo de la Fórmula	
Muestras de pacientes	
3.5.4.1.4 Procedimiento del efecto antibiótico del extracto de Hierbas Suecas contra bacterias de pacientes midiendo la reducción del bromuro de MTT. (3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil- 2H tetrazolio.	32
3.5.4.2 <u>Efecto Antibiótico en Cultivos Puros.-</u> Actividad <i>in vitro</i> del extracto Hierbas Suecas contra de microorganismos <i>Provotella intermediu</i> , <i>Bacteroides Forsythy</i> , <i>Phofiromona gingivalis</i> y <i>streptococo Intermediu</i> .	33
3.5.4.2.1 Activación de Bacterias de cultivos puros	33
3.5.4.2.2 Conteo y ajuste bacteriano	33
3.5.4.2.3 Método colorimétrico MTT	34
3.5.4.3 <u>Procedimiento Efecto Antibiótico. por el Método de Difusión en Cajas de Petri.</u>	34
3.5.4.3.1 Activación de cepas de muestras clínicas de pacientes	35
3.5.4.3.2 Conteo y ajuste bacteriano de muestras clínicas de pacientes	35
3.5.5 <u>Efecto Analgésico.</u> Procedimiento para la determinación de la analgesia in vitro del compuesto hierbas suecas a partir de la administración de ácido acético al 3%.	35
3.5.5.1 Analgesia Química Animales De Experimentación	36
3.5.5.2 Protocolo experimental	36
3.5.6 Instalaciones	39

3.5.7 Consideraciones Éticas	39
4. RESULTADOS	40
4.1 EFECTO ANTIINFLAMATORIO IN VITRO	41
4.2 EFECTO ANTIBIOTICO IN VITRO POR EL METODO MTT	45
4.2.1 Para cultivos puros	45
4.2.1.1 Microorganismo <i>Provotella Intermedium</i>	46
4.2.1.2 Microorganismos <i>Bateroides Forsythy</i>	46
4.2.1.3 Microorganismo <i>Phorfiromona Gingivalis</i>	48
4.2.1.4 Microorganismo Streptococo Intermedio	49
4.2.1.5 Concentrado del efecto antibiótico em cultivos puros	50
4.3 EFECTO ANTIBIÓTICO CONTRA BACTERIAS DE MUESTRAS CLINICAS DE PACIENTES POR EL METODO DE MTT	51
4.4. EFECTO ANTIBIOTICO CONTRA BACTERIAS DE MUESTRAS CLINICAS DE PACEINTES POR EL METODO DE DIFUSION EM AGAR	67
4.5 EFECTO ANALGESICO IN VIVO POR EL METODO DE ANALGESIA QUÍMICA	68
5. DISCUSIÓN	71
6. CONCLUSIONES	76
7. BIBLIOGRAFÍA	78
8. ANEXOS	87

Introducción **1**

1. INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo determinar los efectos terapéuticos (antisépticos, antiinflamatorios y analgésicos) del compuesto “hierbas Suecas” en el tratamiento de algunas afecciones bucales.

Hoy en día, la comunidad científica reconoce en las plantas, grandes poderes de curación. Muchos de los medicamentos modernos tradicionales contienen como principio activo las sustancias recabadas exactamente en ellas.

Es innegable que a pesar del tiempo y de los adelantos en la medicina tradicional, su práctica no ha ido a la par con el desarrollo cultural de las personas, ya que a la fecha, la Medicina Alternativa y Complementaria sigue siendo pilar para la atención de problemas de salud entre la población sin importar género, estado civil, escolaridad, nivel socioeconómico, lugar de residencia, afinidad religiosa etc. ⁽¹⁾

El interés de la población en la medicina alternativa y complementaria ha crecido considerablemente en las últimas décadas esto lo revelan diversos estudios realizados en nuestro estado de Nuevo León, entre ellos, una investigación que se efectuó en los servicios de salud en la ciudad de Monterrey y su área metropolitana, cuyos resultados mostraron que el 80 % de los pacientes encuestados manifestaron haber utilizado alguna vez la medicina alternativa y complementaria, de los cuales el 78.4 % de ésta población asegura utilizar la herbolaria principalmente para aliviar el dolor, el 49 % lo utilizan para la tratar la inflamación y sangrado de encía y el 38 % para el mal aliento. ⁽¹⁾

Las razones primordiales que argumentan para su uso, se basan en que son tratamientos seguros, de bajo riesgo y por la facilidad que tienen para su adquisición.

Las afecciones bucodentales como son la caries y la enfermedad periodontal, se encuentran entre las de mayor prevalencia en el ámbito mundial, no respetan raza, sexo, edad, posición social, ni ubicación geográfica ⁽²⁾.

Ambos problemas de salud bucal son los que provocan mayor mortalidad dentaria durante la vida del individuo, pues son de alta incidencia, prevalencia y

severidad; en ausencia de tratamiento progresan y destruyen los tejidos dentarios con pérdida de estos elementos. ⁽²⁾

Las afecciones bucales sin atención evolucionan hasta que representen una incapacidad oral parcial o permanente, que en la actualidad representan un 40% de las causas por motivo de consulta de la demanda espontánea, variando de una comunidad a otra en relación a los factores culturales, económicos y epidemiológicos, lo que trae como consecuencia la necesidad de un servicio de mayor costo como lo son las especialidades, mismo que no puede ser satisfecho y ni siquiera solicitado, porque se ofrece solo a nivel privado, convirtiéndose en inaccesible para la mayor parte de la población y esto trae como consecuencia una odontología mutiladora, no deseable por nadie.

Por tal motivo se buscaron soluciones efectivas de bajo costo que contribuyeran a disminuir los factores que causan las afecciones bucales de mayor prevalencia para la población en general y sobre todo para las comunidades que no tienen acceso a los servicios odontológicos; por lo que tomando en consideración la confianza que depositan la mayor parte de la población en el uso de la medicina alternativa y complementaria, se propuso la presente investigación del compuesto denominado hierbas suecas para medir científicamente sus potenciales terapéuticos en el tratamiento de algunas afecciones bucales.

1.1 MEDICINA ALTERNATIVA Y COMPLEMENTARIA

Por medicina alternativa y complementaria se considera al “conjunto diverso de disciplinas terapéuticas y diagnósticas que existen fuera de las instituciones que no se consideran parte de la medicina convencional” ⁽³⁾ como la acupuntura, la quiropráctica, la homeopatía etc. así lo define el *Centro Nacional de Medicina Complementaria y Alternativa*, (NCCAM conocido *por sus siglas en inglés*). La gente emplea terapias de medicina complementaria y alternativa de diversas formas y aunque están agrupadas, son diferentes una de otra. Cuando se usan solas suele llamárseles "alternativas". Cuando se usan junto con la medicina convencional, suele llamárseles "complementarias". ^(3,5, 8)

Entre los cinco campos existentes de la Medicina Alternativa y Complementaria, clasificados por el NCCAM, el cuarto grupo es el más utilizado mundialmente y es el de las Terapias basadas en la biología, entre las cuales se encuentran los productos herbolarios (motivo de este estudio) y las vitaminas.

La Organización Mundial de la Salud, a partir de la declaración de Alma Ata, propuso apoyar la utilización de los recursos tradicionales de la medicina del mundo biomédico, a este tipo de medicina, por lo que hoy en día se aprecia una aceptación parcial por parte del modelo hegemónico médico, así como un incremento en su uso por la población ⁽¹³⁾.

Aunque hay evidencia científica con respecto a algunas terapias de la medicina complementaria y alternativa, para la mayoría de ellas hay preguntas clave que todavía están por aclararse por medio de estudios científicos bien diseñados, como: si ¿estas terapias no perjudican? y si ¿funcionan para enfermedades o situaciones médicas para las que se usan?.

La lista de terapias de lo que se considera medicina complementaria y alternativa es muy grande y cambia continuamente, ya que una vez que se comprueba que una terapia determinada es eficaz e inocua, ésta debe incorporarse al tratamiento convencional de la salud, dejando de ser alternativa, ⁽⁴⁾ al igual que cuando surgen enfoques nuevos para la atención sanitaria.

El uso actual de esta clase de medicina está muy extendido en el mundo industrial como en el preindustrial, ya no es patrimonio de sociedades con historia cultural tradicional como la nuestra, ⁽⁴⁾ por ejemplo, en una encuesta realizada en los estados unidos, un tercio de los encuestados refirió haber usado al menos una terapia no convencional en un período de doce meses, ⁽⁵⁾ así mismo se ha calculado que el número de visitas a establecimientos de medicina alternativa en estados unidos, ascendió a 425 millones, cifra que supera al número de visitas a los consultorios médicos convencionales (388 millones) ⁽⁵⁾

Parte del creciente uso de las terapias alternativas y complementarias, se deben a su reciente validación profesional. Muchos textos de divulgación

general, claman y justifican su uso, basándose en información académica, no necesariamente de rigor científico ⁽³⁾.

En México se desconocen los datos en cuanto al total de la población mexicana, mas diversos estudios realizados en diferentes épocas en Estados Unidos como el realizado en 1993, David Einsenberg ⁽⁵⁾ reportó que el 34 % de la población de Estados Unidos habría utilizado una o mas formas de medicina alternativa complementaria invirtiendo mas de 13.7 billones de dólares en 1992, un año anterior. En 1997 repite el estudio y encontró que el número de pacientes había aumentado de 33.8 por ciento en 1990 a 42.1 por ciento en 1997 ⁽¹⁴⁾ con un incremento en el total de visitas de 427 millones a 629 millones y un gasto de \$27 billones de dólares. Sin embargo, un análisis de datos de la National Health Interview Survey de 1999 indicó que solo 28.9 por ciento de los adultos de Estados Unidos (18 años de edad y más) han usado al menos una terapia de medicina complementaria y alternativa en el año anterior ⁽¹⁵⁾. Otro estudio realizado acerca del uso de la medicina complementaria y alternativa en pacientes con diferentes tipos de cáncer encontró que 69 % de 453 pacientes con cáncer habían usado al menos una terapia de medicina complementaria y alternativa como parte de su tratamiento para el cáncer ⁽¹⁶⁾

El Centro Nacional para Medicina Complementaria y Alternativa de los Institutos Nacionales de la Salud, publicó una encuesta en mayo de 2004 ⁽¹⁶⁾ que mostró que el 36 % de los adultos de los EE.UU. habían utilizado algún tipo de remedio. La encuesta, que se administró a más de 31.000 adultos, se realizaron preguntas sobre 27 tipos de terapias de medicina complementaria y alternativa de uso común como las vitaminas, acupuntura y el cuidado quiropráctico entre otras.

El uso de plantas como recurso terapéutico natural se remonta a tiempos muy antiguos, la medicina realmente como la conocemos hoy, es de aparición reciente, quizá apenas dos siglos y sin embargo hoy en día es la ciencia, quien confirma la presencia en las plantas, de compuestos químicos con acciones farmacológicas denominados principios bioactivos, que constituyen muchas veces los ingredientes primarios utilizados por laboratorios farmacéuticos como punto de partida en el desarrollo de formas comerciales que serán patentadas

para su uso en la terapéutica alopática. También se pueden usar los recursos vegetales con propiedades medicinales para la preparación de extractos estandarizados de plantas o de sus órganos o partes y son denominados fitofármacos, ⁽⁷⁾ los cuales alcanzan un rol relevante en la terapéutica moderna cuando cuentan con un respaldo basado en estudios preclínicos y clínicos a partir de los cuales es posible establecer la terapia racional; esto es, que pueden ser utilizados con fines preventivos o de tratamiento de las más diversas patologías y apoyado en lo que se conoce como la medicina basada en la evidencia ^(8,10). Cabe señalar que la investigación científica hoy en día está dedicando numerosos recursos a la medicina alternativa y algunos resultados han sido favorables como lo son los metanálisis recientes donde se refieren a algunos efectos terapéuticos de la homeopatía que no han sido atribuibles al efecto placebo ⁽⁹⁾.

Actualmente la búsqueda de alternativas de origen natural para la terapéutica de numerosas enfermedades ha constituido una razón de ser para muchos investigadores y aunque parezca que la investigación y desarrollo de productos medicinales a partir de plantas es una tarea novedosa, la realidad es que estamos viviendo una etapa de auge que inició en todo el mundo hace aproximadamente 25 a 30 años ⁽⁷⁾

Los antecedentes que han determinado la situación presente en nuestro país se debe a los esfuerzos de algunos grupos que han desarrollado este tipo de medicamentos, con frecuentes discusiones de carácter metodológico que persisten en la evaluación preclínica y clínica de este tipo de productos y el "Compuesto de Hierbas Suecas" o gotas de Amargo Sueco, motivo de este estudio, no ha sido la excepción en cuanto a debate, y si bien, reconozcámoslo "son usados por todos" al final del día, difícilmente resultan aprobados por el cuerpo médico ⁽⁶⁾.

1.2 LAS HIERBAS SUECAS

El "elixir amargo" al que también se conoce como "gotas de amargo sueco" o "hierbas suecas", es una formulación muy antigua y respetada a nivel mundial, originaria de Suecia que se incorporó a la tradición naturista europea en el siglo

XIX y ha permanecido hasta nuestros tiempos demostrando su efectividad como una de las mejores formulas herbolarias.

En la actualidad la comercializan varios laboratorios y ha sido precisamente su eficacia lo que le ha asegurado la supervivencia hasta nuestros días. Cualquiera que sea su historia, se trata sin duda de una herramienta para la preservación de la salud. ⁽¹¹⁾

El Dr. Samst, de padres y abuelos longevos, falleció a los 104 años, fue un célebre médico y Decano de la Facultad de Medicina de Suecia. La receta de este medicamento fue descubierta entre sus escritos después de su muerte y poco después, la herborista María Treben comenzó a recomendar con gran entusiasmo este remedio al haber experimentado personalmente la cura del tifus y otros padecimientos que la aquejaban. Ella popularizó esta excelente mezcla de hierbas medicinales a través de su libro "Salud de la Botica del Señor" hace más de 50 años. ⁽¹¹⁾ .

1.3 INGREDIENTES

El origen de las Hierbas Suecas se remonta al Siglo XVI y la receta de este elixir es atribuida a Paracelso, el gran reformador de la medicina y consiste en una combinación cuidadosa de plantas y raíces medicinales.

Ingredientes

10g de Aloe*

5g de Mirra

0.2g de Azafrán

10g de hojas de Sen

10g de Alcanfor**

10g de raíces de Riubardo

10g de raíces de Cedroaria

10g de Maná

10g de Triaca (Teriaca) Veneciana o de Andrómaco

5g de raíces de Carlina

10g de raíces de Angélica

*En vez de Aloe se puede tomar Ajenjo en polvo.

** Sólo se debe tomar Alcanfor natural y únicamente el chino.

Las hierbas suecas, elaboradas siguiendo la formula nos habla de once componentes herbolarios, solo uno de ellos llamado Theriaca o Triaca (conocido como el antídoto universal de la antigüedad) esta formada por 70 sustancias distintas. Analizando las propiedades más importantes y mencionando algunos de los estudios científicos de esos componentes; se puede decir lo siguiente:

Aloe.- Se le atribuyen propiedades como emoliente, cicatrizante, coagulante, hidratante, antialérgica, desinfectante, antiinflamatoria, astringente, anticancerígena, colerética y laxante. Entre lo mas destacado de sus usos ha sido para la diabetes tipo dos, estudios preliminares demuestran que el zumo de aloe puede ayudar a bajar los niveles de azúcar en la sangre ⁽¹⁷⁾, y de igual manera se destaca como efecto anticancerígeno ⁽¹⁸⁾ estudios en laboratorio con animales indican que sustancias activas contenidas en la hoja de la planta *podrían tener efectos inmunológicos y anti-cancerígenos, información que utilizan para personas con cáncer donde combinan la hoja de aloe, miel y ginebra.* ⁽¹⁹⁾

Mirra.- Por sus propiedades analgésicas y bacteriostáticas se emplea como antiséptico en enjuagues bucales y dentífricos, también se utiliza para hacer gárgaras, para el dolor de muelas, dolor en las encías, ⁽²¹⁾ aftas en la boca, lengua y garganta. Promueve la absorción de nutrientes y aumenta el número de glóbulos blancos.

Azafrán.- Por sus propiedades analgésicas se utiliza la infusión de azafrán en gingivitis, y odontalgias y en la fase de erupción de dentición infantil y mixta se frota la encía para mitigar el dolor. Entre otras propiedades, estudios científicos han demostrado que los carotenoides que componen el azafrán contienen propiedades anticancerígenas ⁽²³⁾, antimutágenas e inmunomoduladoras. Se usa también como antídoto contra los envenenamientos.

Hojas de Sen.- Poseen propiedades estimulantes del sistema digestivo, y son utilizadas para vaciado intestinal, ⁽²⁴⁾ en estudios radiográficos durante los procesos pre y postoperatorios.

Alcanfor.- Tiene propiedades analgésicas, antiespasmódicas, antiinflamatorias, antisépticas, antivirales, bactericidas, expectorantes, estimulantes y desodorantes. A nivel físico estimula el corazón, la respiración y la circulación, eficaz en casos de hipotensión⁽²⁵⁾, facilita la respiración y se utiliza como inhalatorio.

Ruibarbo.- Tiene propiedades antiinflamatorias y astringentes, se utiliza en dosis muy bajas para gastritis y enteritis⁽²⁶⁾.

Zedoaria.- Tiene propiedades medicinales^(27,28). Investigaciones en animales y en laboratorio han demostrado propiedades anticancerígenas^(30,35,37,38), antioxidantes, antiinflamatorias y analgésicas; mejora la circulación sanguínea, ayuda en cólicos abdominales, amenorrea, y dolores reumáticos^(31,32) es antídoto pues es efectiva contra mordeduras y picaduras de criaturas venenosas.

Teriaca.- Es un preparado farmacológico con más de 70 componentes⁽⁴⁰⁾, tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas, anticancerígenas, antisépticas, antioxidantes⁽⁴²⁾ y refuerza el sistema inmunológico de una manera increíble y extraordinaria, es un preparado que tiene la virtud de contraveneno actuando como un extraordinario antídoto, *“La causa del mal lo cura”⁽⁴¹⁾ “cuya teoría es que lo semejante cura lo semejante”*,

Raíces de Carlina.- La Carlina⁽⁴³⁾ Los principios activos de esta planta contienen aceites esenciales destilados de su raíz que contienen flavonoides y sustancias antibióticas, sobre todo contra bacterias Gram.

Raíces de Angélica.- Tiene propiedades digestivas y carminativas, es un gran tónico y estimulante de las funciones del aparato digestivo y es sedativo, Por su contenido en taninos, de carácter astringente se utiliza en forma de gargarismos en tratamientos de angina y faringitis.

1.4 PREPARACIÓN

Estas hierbas se meten en una botella de cuello ancho, se cubren de 1\5 litros de aguardiente (38-40°) y se maceran durante 15 días al sol o cerca de la lumbre. Se agita cada día; lo mismo se hace antes de colarlo y antes de cada uso. Primero se puede llenar solo una botellita para el primer uso; el resto se guarda el tiempo que se quiera sin colarlo. Las Hierbas Suecas se guardan en

botellitas bien tapadas en un lugar fresco. Así se conserva este elixir muchos años. Cuanto más viejo se hace más eficaz es.

1.5 ANTIGUO MANUSCRITO

Los beneficios que aportan las Hierbas Suecas se encuentran en el libro conocido como “Antiguo Manuscrito” en donde mencionan los beneficios para salud que se le atribuyen, entre ellos las propiedades antibióticas, desinflamantes, cicatrizantes y analgésicas y muchas mas referidas en los 46 puntos los cuales no han sido demostrados bajo el método de producción de nuevos conceptos científicos a partir de productos teóricos existentes, que finalmente es el objetivo de este estudio.

De la reproducción textual referente a la información que ha circulado durante años como el: “ANTIGUO MANUSCRITO” ⁽¹¹⁾

Se cita solo los apartados 4, 5 y 6 concernientes a los objetivos de éste trabajo “Las virtudes curativas de las Hierbas Suecas”.

No se tiene constancia total de las propiedades que se le atribuyen

4. Contra el dolor de muelas se disuelve una cucharada de estas gotas en un poco de agua y se deja todo actuar un rato en la boca o se aplica una gasa empapada sobre la muela dolorida. El dolor se calma y la infección se cura.

5. Las ampollas y las otras afecciones de la lengua se curan en poco tiempo untándolas con las gotas.

6. Cuando la garganta esté irritada o llagada de tal manera que casi no se pueda tragar la bebida o la comida, se toman por la mañana, al mediodía y por la noche, una gotas y se dejan pasar lentamente por la garganta; así se calma la irritación y se cura la garganta.

1.6 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿QUÉ SUCEDE CUANDO UN PACIENTE NECESITA UN SERVICIO DENTAL?

Cualquier individuo, en cualquier ámbito y esfera social, si se les hiciera inesperadamente un examen oral, se encontraría que al menos 9 de cada 10 necesitarían mínimo de un servicio de atención bucal como una limpieza cuyo

valor diagnóstico es la gingivitis; sin embargo ¿Por qué las personas dejan que las afecciones bucales evolucionen sin atención, hasta que representen una incapacidad oral parcial o permanente, que en la actualidad representan un 40% de las causas por motivo de consulta de la demanda espontánea, variando de una comunidad a otra en relación a los factores culturales, económicos y epidemiológicos, lo que trae como consecuencia la necesidad de un servicio de de mayor costo como lo son las especialidades, mismo que no puede ser satisfecho y ni siquiera solicitado, porque se ofrece solo a nivel privado, convirtiéndose en inaccesible para la mayor parte de la población y esto trae como consecuencia una odontología mutiladora, no deseable por nadie.

Por tal motivo se buscan soluciones efectivas de bajo costo que contribuyan a disminuir los factores que causan las afecciones bucales de mayor prevalencia para la población en general y sobre todo para las comunidades que no tienen acceso a los servicios odontológicos, motivo por el cual se plantea la siguiente pregunta: ¿Puede el compuesto de “Hierbas Suecas” tener efectos terapéuticos en el tratamiento de algunas afecciones bucales?

Las plantas medicinales como el compuesto “hierbas Suecas” representan una poderosa fuente para la búsqueda de nuevos y efectivos agentes terapéuticos. Actualmente es explorada por muchos grupos de investigación a lo largo del mundo, de los cuales un importante número se ha centrado particularmente en la búsqueda de sustancias con actividad antiinflamatoria. Los estudios en animales sugieren que los extractos son eficientes y aprovechan la sinergia de los compuestos. Por otro lado, aunque menos sistemáticos que los experimentos con animales, los estudios en humanos confirman la eficacia anti-inflamatoria de los extractos y llaman la atención sobre la ausencia de efectos secundarios, gastrointestinales o de otra índole. Motivo por el cual nos volvemos a cuestionar.

¿Puede el compuesto de “Hierbas Suecas” tener efectos terapéuticos en el tratamiento de algunas afecciones bucales?

Objetivos

2

2. OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICACIÓN

La necesidad de encontrar compuestos bioactivos para el desarrollo de nuevos medicamentos como innovación farmacológica, la necesidad que tiene la misma sociedad de disponer de medicamentos cada vez más seguros y eficaces y de encontrar nuevos tratamientos para enfermedades que todavía no disponen de él y tomando en consideración la confianza que depositan la mayor parte de la población en el uso de la medicina alternativa y complementaria, se propone la presente investigación del compuesto denominado hierbas suecas para el tratamiento de algunas afecciones bucales.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos terapéuticos (antisépticos, antiinflamatorios y analgésicos) del compuesto “hierbas suecas” en las afecciones bucales.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.3.1 Determinar el efecto antiinflamatorio a partir de la producción de óxido nítrico por macrófagos peritoneales de ratones balb/c inducidas por el compuesto hierbas suecas como medida para demostrar efecto antiinflamatorio “in vitro.

2.3.2 Determinar el efecto antiséptico “in Vitro” a partir de cultivos puros de los microorganismos *Prevotella Intermediu*, *Bacteroides Forsythy* *Porphyromona gingivalis*, *Streptococcus Intermediu* presentes en cavidad bucal y muestras control, del Compuesto “Hierbas Suecas” en diferentes concentraciones.

2.3.3” Determinar el efecto antiséptico “in Vitro” a partir de muestras clínicas de microorganismos presentes en cavidad bucal obtenidas de los pacientes que acuden a consulta odontológica y grupo control, del Compuesto de “Hierbas Suecas” en diferentes concentraciones.

2.3.4. Determinar el efecto analgésico del Compuesto de “Hierbas Suecas” a partir de la utilización de la técnica Analgesia Química.

Material y Métodos

3

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El tipo de estudio es experimental, abierto, prospectivo, longitudinal y comparativo

3.2 LA MUESTRA

El trabajo de investigación se basa en un estudio experimental comparativo para medir los potenciales terapéuticos antiinflamatorios y antimicrobianos in Vitro y el efecto de analgesia será medido en animales vivos, de tal forma que el muestreo para la comprobación de la hipótesis se realizó a partir de cada uno de ellos según el caso.

3.2.1 Determinación del tamaño de la muestra

3.2.1.1 Efecto Antiinflamatorio

La muestra se basaba en la cantidad de ratones Balb/c que se requerían para obtener suficientes macrófagos que permitieran medir el efecto terapéutico antiinflamatorio, para lo cual se requerían de 4 ratones en cada experimento, que con sus tres repeticiones se utilizaron un total de 12.

3.2.1.2 Efecto Antibiótico o antimicrobiano

El tamaño de la muestra se determinó de dos maneras; a partir de Cultivos puros y a partir de muestras clínicas tomadas de la cavidad oral de pacientes.

✦ **En cultivos puros:** para la comprobación del efecto antiséptico a partir de cultivos puros, la muestra estaba compuesta de 4 tipos de microorganismos que son los más representativos de la microflora bucal y entre ellos estaban los microorganismos anaerobios *Prevotella intermedia*, *Bacteroides Forsythy*, *Porphyromona gingivalis* y el microorganismo aerobio facultativo *Streptococo Intermedius*.

En muestras clínicas: para la comprobación del efecto antiséptico a partir de muestras clínicas obtenidas de pacientes que acudieron a la consulta odontológica en el posgrado de Periodoncia y de la clínica de integral, la muestra estaba compuesta de tal manera que reuniera todas las condiciones y características de la población y que fuera lo mas pequeña posible, sin perder exactitud ni precisión, por lo que se hizo aplicándose

- ✦ un muestreo de proporciones. La muestra de los pacientes se eligió de aquellos que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión determinados y que se presentaron en el periodo de tiempo establecido para el trabajo de investigación.

Considerando que las variables a evaluar son solo las relacionadas con la medición de la acción antimicrobiana de las gotas de amargo sueco, a partir de muestras de pacientes, fueron muestras que se determinaban con la aplicación de la siguiente fórmula general:

$$n = \frac{z^2 pq}{e^2}$$

Donde:

n= número buscado de elementos de la muestra

z= nivel de confianza elegido

p= Proporción de efectividad mínima estimada (antimicrobiana, antiinflamatoria y analgésica)

q= Proporción de no efectividad mínima estimada (antimicrobiana, antiinflamatoria y analgésica)

e= error de estimación permitido

Para el presente proyecto se han determinado los siguientes valores que serán aplicados para determinar el tamaño de la muestra.

z= 90% de nivel de confiabilidad

p= 88% de proporción con algún grado de enfermedad oral

q= 12 % de proporción con ningún grado de enfermedad dental

e= 10% de error de estimación permitido

El tamaño de la muestra obtenido substituyendo los valores

$$n = \frac{(1.64)^2 (0.88)(0.12)}{(0.10)^2} \quad n = \frac{0.2840}{0.001} \quad n = 28.40 \approx 29$$

El tamaño de la muestra quedaba conformada de la siguiente manera::

- ✦ 29 Muestras clínicas de cavidad oral de pacientes para la evaluación antimicrobiana

3.2.1.3 Efecto Analgésico

Para la medición del efecto analgésico la muestra se determinó a partir del número de ratones balb/c que se requerían para el cumplimiento del protocolo de medición de la analgesia química por ácido acético, la que estaba conformada por 56 ratones que se subdividirían en grupos de 4 incluyendo las repeticiones.

3.3 CRITERIOS

Los Criterios de inclusión, exclusión y eliminación se realizaron solo en la fase de medición del efecto antimicrobiano, para la recolección de muestras clínicas de microorganismos derivados de pacientes que acudieron a la consulta dental en las clínicas de Integral y Posgrado de Periodoncia y que presenten las afecciones de caries dental y enfermedad periodontal.

3.3.1. Criterios de Inclusión

Pacientes del género masculino y femenino

Pacientes de primera vez en la consulta

Pacientes subsecuentes que no hayan recibido aún, tratamiento por caries enfermedad periodontal

Que presenten las afecciones de caries y enfermedad periodontal

Que acepten participar en el protocolo.

3.3.2 Criterios de exclusión

Pacientes ya tratados

Que no presentes afecciones en cavidad oral

3.3.3 Criterios de eliminación

Pacientes que no asistan a más de 2 citas de control

Pacientes no cooperadores

3.4 PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS

Para la recogida de datos a pacientes se realizó solo para el procedimiento de la medición del efecto antimicrobiano a partir de muestras clínicas tomadas a

pacientes que presentaron caries y problema periodontal, tomándose en cuenta las siguientes variables:

7.4.1 Definición de variables

Independientes/ Causa		Dependientes./Efecto	
Variable	Escala	Variable	Escala
Edad	En años cumplidos	Antiséptico/Cultivo puro	Colorimetría
Sexo	Masculino/Femenino	Antiséptico/muestras Clínicas	Tamaño del halo
Tipo de Caries	De 1º y 2º grado	Antiinflamatorio	Inhibición de producción de óxido nítrico
Profundidad/bolsa periodontal	Bolsas de 3 a 5 mm. y mas de 5mm	Analgésico	Retardo de respuesta de dolor.

Tabla 1. Definición de variables

A todos los pacientes se les proporcionó la información necesaria de los propósitos de la investigación para obtener su consentimiento.

3.5 EJECUCION DEL PROYECTO / Descripción de Procedimientos

El estudio se realizó en varias etapas según los procesos a desarrollar para la comprobación de los efectos terapéuticos, primeramente hubo la necesidad de llevar a cabo el proceso de Liofilización, que consiste en la separación del vehículo de las sustancias activas y así poder manejar las diferentes concentraciones.

3.5.1 Liofilización. Procedimiento para el aislamiento de sustancias bioactivas del compuesto Hierbas Suecas.-

Se pesaron 16 viales de vidrio de 5ml estériles sin tapón realizando las debidas anotaciones, se etiquetaron y se depositaron en ellos 2ml del filtrado previamente obtenido. Posteriormente se congelaron utilizando hielo seco en acetona, procurando que el filtrado haya quedado adherido a las paredes del vial. Inmediatamente después se sometieron al proceso de liofilización, en este caso se utilizó la Liofilizadora marca labconco, el proceso duró aproximadamente cuatro horas. Una vez obtenido el liofilizado se pesaron de nuevo los viales sin tapón y se calculó la cantidad del extracto obtenido. Se refrigeraron los viales hasta su uso posterior, procurando evitar contaminación, en este caso se sellaron con parafilm.

3.5.2 Preparación del Extracto.- Procedimiento Para La Preparación del Extracto de Hierbas Suecas.

Se pesaron 10 mg. del polvo del extracto de hierbas suecas en 10 ml de tripticaseína de soya (TCS) quedando a una concentración final de 1 mg/ml, se filtró con un filtro millex con un tamaño de .22 μm para esterilizar el extracto de hierbas y mantenerlo libre de patógenos.

A partir de esta preparación se iniciaron los experimentos para medir los efectos terapéuticos

3.5.3 Efecto Antiinflamatorio Procedimiento para medir el efecto del extracto de Hierbas Suecas en la viabilidad y producción de óxido nítrico de los macrófagos intraperitoneales murinos

Para este procedimiento realizaron los siguientes experimentos:

- Obtención de Macrófagos Peritoneales Murinos
- Producción de óxido nítrico por los macrófagos estimulados por Lipopolisacáridos LPS.
- Determinación de la viabilidad de macrófagos por el método de reducción de bromuro 3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil- 2H tetrazolio (MTT).

3.5.3.1 Los reactivos y los medios de cultivo

Los medios de cultivo son el RPMI-1640 y AIM-V y se obtuvieron de Life Technologies (Grand Island, NY). El suero fetal bovino (SFB), metanol, buffer de lisis para eritrocitos, bromuro de 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolio (MTT), y filtros millipore de 0.8 μm se compraron en Sigma Aldrich (Louis, MO).

3.5. 3.2 Animales de experimentación

- Se emplearon ratones hembras Balb/c de 2 a 3 meses de edad, las cuales se obtuvieron en Harlan México.
- Se mantuvieron en un ambiente libre de patógenos y de estrés a 24 ° C, bajo un ciclo luz-oscuridad (fase lumínica, 06:00-18:00 horas). y se les proporcionó agua purificada y alimento (Purina, México) *ad libitum*

3.5.3.3 Obtención de Macrófagos Peritoneales Murinos

Los animales se sacrificaron por fractura cervical e inmediatamente se procedió a coleccionar las células residentes en la cavidad peritoneal con medio RPMI 1640 frío. Las suspensiones celulares se lavaron una vez con este medio, se resuspendieron y ajustaron en medio AIM-V a una densidad de 2×10^6 células/ml. Alícuotas de 100 μ l/pozo de ésta suspensión celular se incubaron durante 2 horas en placas de 96 pozos con fondo plano (Becton Dickinson, Cockeysville, MD). Las células no adherentes se removieron y las células adherentes (aproximadamente 70% de las células sembradas o casi 1×10^6 células/ml) se incubaron durante la noche en 100 μ l/pozo de medio AIM-V en la presencia o ausencia de los extractos evaluados ⁽⁵⁷⁾

Ejecución del procedimiento

Evaluación de las funciones a partir de ratón hembra balb-c

1. Preparación de la mesa de trabajo colocando un campo en el área, el hielo en una vasija y se colocó un tubo de 50ml con medio RPMI-1640 sin SFB y un tubo para depositar los macrófagos.
2. Se sacrifica el ratón por fractura cervical.
3. Se rocía con alcohol al 70%.
4. Se descubre la cavidad abdominal.
6. Se toma medio de cultivo RPMI 1640 frío
7. Se introduce con jeringas en la cavidad peritoneal
8. Se desprenden los macrófagos de cavidad peritoneal.
9. Con jeringa se retira el medio ya con los macrófagos
10. las suspensiones celulares se lavaron una vez con este medio, se resuspendieron y ajustaron en medio AIM-V a 1.7×10^6 cel/ml.
11. Las células no adherentes se removieron y las células adherentes se incubaron durante 2 horas en 100 μ L/pozo de medio AIME-V en presencia o ausencia del extracto a evaluar.

3.5.3.4 Producción de óxido nítrico por los macrófagos estimulados por Lipopolisacáridos LPS

Se emplearon la acumulación de nitritos en el sobrenadante de los cultivos de macrófagos como un indicador de la producción de óxido nítrico por células residentes o activadas. Los cultivos de macrófagos tratados con o sin extracto durante la noche anterior se lavaron dos veces con medio RPMI a 37 °C

Se ajustó el volumen de los macrófagos a 200 μ l/pozo con medio AIM-V

Los macrófagos se activarán con LPS 3 ug/ml en un volumen final de 200 medio AIM- V Las placas se incubarán por 72 horas a 37 ° C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire. Al final del periodo se transferirán 50 μl/pozo (controles y tratamientos) a una placa nueva. A estas alícuotas se les agregara 50 μl/pozo del reactivo de Griess se empleara Na NO₂ como estándar. Las placas se incubarán a temperatura ambiente por 10 minutos y se medirán las absorbancias a 570 nm en un lector de microplacas (Molecular Devices Corporation) como se muestra en la imagen.

Ejecución del Procedimiento

- 1) Se emplearon la acumulación de nitritos en el sobrenadante de los cultivos de macrófagos como un indicador de la producción de óxido nítrico por células residentes o activadas.
- 2) Los cultivos de macrófagos tratados con o sin extracto durante la noche anterior se lavaron dos veces con medio RPMI a 37 ° C
- 3) Se ajustó el volumen de los macrófagos a 200 ul/pozo con medio AIM-V. l/pozo en μ
- 4) Los macrófagos se activarán con LPS 0.02 ug/ml en un volumen final de 200 medio AIM-V.
- 5) Las placas se incubarán por 72 horas a 37 ° C en una atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire.
- 6) Al final del periodo se transferirán 50 ml/pozo (controles y tratamientos) a una placa nueva.
- 7) A estas alícuotas se les agregara 50 ml/pozo del reactivo de Griess¹⁵, se empleara Na NO₂ como estándar.
- 8) Las placas se incubaron a temperatura ambiente por 10 minutos y se midieron las absorbancias a 540 nm en un lector de microplacas (Molecular Devices Corporation).

3.5.3.5 Determinación de la viabilidad de macrófagos por el método de reducción de bromuro 3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil- 2H tetrazolio (MTT).

El efecto de extractos de plantas o sustancias bioactivas en la viabilidad de los macrófagos se determinará mediante el método de reducción del

bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-yl]-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Para dicho método se incuban macrófagos residentes o activados con LPS en medio AIM-V en presencia o ausencia del extractos o sustancias bioactivas (7.8-500 µg/ml) y/o LPS 3 µg/ml) por 72h. Al terminar el período de incubación, las monocapas de macrófagos se incuban con MTT a una concentración final de 0.5 mg/ml por 4 h a 37°C. Al finalizar la incubación, se remueve el medio de cultivo y se añaden 100 µl de dimetilsulfóxido (DMSO) a todos los pozos para solubilizar los cristales de formazán. Las densidades ópticas se miden a 570 nm en un lector de microplacas ⁽⁵⁷⁾

3.5.4 Efecto antibiótico. Procedimiento para medir la actividad in vitro del extracto hierbas suecas contra de microorganismos presentes en cavidad bucal a partir de muestras clínicas de pacientes y cultivos puros.

Se procedió a realizar una clasificación de acuerdo al método de obtención de los microorganismos para medir la actividad antibiótica a partir de muestras clínicas de pacientes y por la colección de cultivos puros.

3.5.4.1 Efecto antibiótico Para Muestras Clínicas de pacientes

Se procedió a medir:

El Efecto antibiótico de Hierbas Suecas contra bacterias de pacientes midiendo la reducción del bromuro de (3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil- 2H tetrazolio (MTT)

3.5.4.1.1 Obtención de los Microorganismos a partir de muestras clínicas de pacientes

Se procedió a tomar muestras clínicas de los pacientes que acudieron a la consulta del posgrado de Periodoncia y a la clínica de Integral, previo consentimiento de los mismos. Cada muestra se tomó con una sonda periodontal y/o cucharilla de dentina, a partir de la remoción del contenido bacteriano del surco gingival en bolsas desde 3 hasta 7 milímetros de los pacientes que acudieron a la clínica de periodoncia y de las caras masticatorias de los dientes que presentaban caries dental de los pacientes de la Clínica de Integral.

Cada muestra se inoculó en viales con medio de cultivo líquido de TCS tripticaseína de soya y se dejó incubar a 37 ° C por 7 días, posteriormente se refrigeraron hasta el inicio del experimento.

3.5.4.1.2 Activación de bacterias de pacientes

Se tomaron 100 µl en 5 ml de medio de TCS, se dejaron en incubación a 37° C durante las horas necesarias a que se forme turbidez (- de 24 horas).

Métodos

A partir de la activación de bacterias se procedió a trabajar:

- a) Por el Método de colorimetría con el Lector de Placas
- b) Por el Método de difusión en agar de tripticaseína de soya en placas de petri a partir de diferentes diluciones del compuesto “hierbas Suecas”, puestas en discos de papel filtro que se colocaron en las placas de petri sembradas previamente en el agar.

Para ambas clasificaciones se siguió un mismo protocolo en cuanto a la activación de bacterias y ajuste y conteo celular.

LA CÁMARA NEUBAVER.

También conocida como hemocitómetro, consta de un cubreobjetos de cuarzo y un portaobjetos de un grosor mayor a los de uso común. En la parte superior del portaobjetos se encuentra cuatro canales longitudinales y uno transversal central.

Determinación de la densidad celular.

La densidad celular de la suspensión se calcula de la siguiente forma:

En caso de haber empleado los cuadrantes de 0,04 mm².

Núm. células en 0,1 mm³ = (núm. total células contadas/núm. cuadros 0,04 mm²).

Esto dará el número total de células por 0,1 mm³ (volumen obtenido de multiplicar el área de 1 mm² x 0,1 mm de profundidad de la cámara).

El número de células por ml se obtendrá de multiplicar el valor obtenido anteriormente por 10³

Núm. Células por ml = núm. Células en 0.1mm³ x 10 000

2. En caso de haber empleado los cuadrantes de 1 mm².

núm. células en 0,1 mm³ = núm. total células contadas / núm. cuadros 1 mm² contados

Este valor corresponderá al número total de células en 0,1 mm³. Para obtener el número por ml se multiplica por 10 000.

3.5.4.1.3 Conteo y Ajuste Bacteriano de Muestras de Pacientes

Se realizó el conteo y ajuste bacteriano para cada uno de los pacientes y así se determinó el número de células por microlito.

Tabla 2. Conteo y Ajuste Bacteriano de Muestras de Pacientes Ajuste De Cálculos / Según Paciente

Paciente	Cuenta Cámara de Neubauer	Bacterias/ mililitros	Despeje de Fórmula	Volumen final
Num. 1	(25)(25)(16)(10 000)	1x10 ⁸ c	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1 \times 10^8}$	0.0005 ml = .5 µl
Num. 2	(20)(16)(25)(10 000)	8x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{8 \times 10^7}$.00006 ml = .06 µl
Num. 3	(20)(16)(25)(10 000)	8x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{8 \times 10^7}$.00006 ml = .06 µl
Num. 4	(20)(16)(25)(10 000)	8x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{8 \times 10^7}$.00006 ml = .06 µl
Num. 5	(25) (16)(25)(10 000)	1x10 ⁸	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1 \times 10^8}$	0.00005ml = 0. µl
Num. 6	(30)(16)(25)(10 000)	1.2 x 10 ⁸	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^8}$	0.0000 4ml = 0.04 µl
Num. 7	(7)(16)(25)(10 000)	2.8 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.8 \times 10^7}$.00017 = .17 µl
Num. 8	12)(16)(25)(10 000)	4.8 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{4.8 \times 10^7}$.0001 ml = .1 µl
Num. 9	(8)(16)(25)(10 000)	3.2 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{3.2 \times 10^7}$.0001 ml = .15 µl
Num. 10	(8)(16)(25)(10 000)	3.2 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{3.2 \times 10^7}$.0001 ml = .15 µl
Num. 11	(5)(16)(25)(10 000)	2 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2 \times 10^7}$.00025 ml = .25 µl
Num. 12	(7)(16)(25)(10 000)	2.8 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.8 \times 10^7}$.00017 ml = .17 µl
Num. 13	(6)(16)(25)(10 000)	2.4 x 10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.4 \times 10^7}$.0002 ml=.2µl
Num. 14	(3)(16)(25)(10 000)	1.2x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^7}$	0.0004 ml = 0.4 µl
Num. 15	(3)(16)(25)(10 000)	1.2x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^7}$	0.0004 ml = 0.4 µl
Num. 16	(3)(16)(25)(10 000)	1.2x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^7}$	0.0004 ml = 0.4 µl
Num. 17	(30)(16)(25)(10 000)	1.2 x 10 ⁸	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^8}$	0.00004 ml = 0.04 µl
Num. 18	(4)(16)(25)(10 000)	1.6x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.6 \times 10^7}$	0.00031 ml = 0.31 µl
Num. 19	(4)(16)(25)(10 000)	1.2x10 ⁷	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^7}$	0.00031 ml = 0.31 µl

Num. 20	(4)(16)(25)(10 000)	1.2×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.2 \times 10^7} =$	0.00031 ml = 0.31 μl
Num. 21	(2)(16)(25)(10 000)	8×10^6	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{8 \times 10^6} =$.00062 ml = .62 μl
Num. 22	(4)(16)(25)(10 000)	1.6×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{1.6 \times 10^7} =$.000031 ml = 0.31 μl
Num. 23	(24)(16)(25)(10 000)	96×10^6	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{6 \times 10^6} =$.00005 ml = .05 μl
Num. 24	(8)(16)(25)(10 000)	3.2×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{3.2 \times 10^7} =$.0001 ml = .15 μl
Num. 25	(6)(16)(25)(10 000)	2.4×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.4 \times 10^7} =$.0002 ml = .2 μl
Num. 26	(7)(16)(25)(10 000)	2.8×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.8 \times 10^7} =$	00017 ml = .17 μl
Num. 27	(6)(16)(25)(10 000)	2.4×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{2.4 \times 10^7} =$.0002 ml = .2 μl
Num. 28	(10)(16)(25)(10 000)	4×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{4 \times 10^7} =$.0001 ml = .1 μl
Num. 29	(10)(16)(25)(10 000)	4×10^7	$\frac{(1 \times 10^3)(5 \text{ml})}{4 \times 10^7} =$.0001 ml = .1 μl

3.5.4.1.4 Método Colorimétrico MTT

Después de la activación de cepas y del conteo y ajuste bacteriano, tanto para cultivos puros como para las muestras de pacientes se procedió con la continuación de los pasos del proceso colorimétrico

1. En placas de 96 pozos fondo plano, a la fila A se le agregaron 100 μl del extracto a 1 mg /ml.
2. Al resto de la placa se agregaron 50 μl de caldo TCS tripticaseína de soya.
3. Realización de diluciones 1:2 en orden descendente, 1:2 partiendo de 125 a 7.8 $\mu\text{g/ml}$
4. Se corren controles, uno negativo que es el medio TCS de soya + bacterias y como control positivo tetraciclina a una concentración de 3 mg/ml.
5. Se realizó el conteo y ajuste de bacterias.- 50ml de las bacterias ajustadas a 1×10^3 bacterias/ml.
6. Incubación por menos de 24 horas a 37 grados hasta visualizar la turbidez
7. Transcurrido el tiempo se añadió 15 μl de MTT (5mg/ml), se incubó a 37 grados por 15 a 20 minutos.

8. Se agregaron 80ml de dimetil sulfoxide (DMSO) para para solubilizar los cristales de tetrazolium disolver el formazan
9. Se realizaron lecturas de absorbancia en un Lector de Microplacas a 570 nm. (Multimode Detection Software DTX 880).
10. Se hizo el análisis estadístico de las lecturas de absorbancias para la interpretación de los mismos.
 - La distribución de los datos se realizo por el método estadístico de la T de Student, y análisis de varianza pos la nova.
 - La prueba se utilizó para determinar diferencias en el grupo control y tratamientos.

3.5.4.2 Efecto antibiótico Para cultivos puros

Se procedió a medir:

El Efecto antibiótico de Hierbas Suecas contra *Prevotella intermedia*, *Bacteroides Forsythy*, *Phorfyromona gingivalis* y *streptococo Intermediu* midiendo la reducción del bromuro de (3-4, 5 dimetil -2 tiazol)-2,5 difenil-2H tetrazolio (MTT)

3.5.4.2.1 Activación de bacterias *Prevotella intermedia*, *Bacteroides Forsythy*, *Phorfyromona gingivalis* y *streptococo Intermediu*

Se tomaron 100 µl en 5 ml de medio de TCS, se dejaron en incubación a 37 °C durante las horas necesarias a que se forme turbidez (menor de 24 horas).

3.5.4.2.2 Conteo y Ajuste Bacteriano de Muestras de Cultivos Puros

Se realizó también el conteo y ajuste bacteriano para cada uno de los cultivos puros y así se determinó el número de células por microlito para cada una de las bacterias.

Prevotella Intermedia

✓
Pi – $2.4 \times 10^7 = 0.0005 \text{ ml} = .5 \mu\text{l}$

$$\frac{(10\text{ml})(1 \times 10^3)}{2.4 \times 10^7} = .5 \mu\text{l}$$

Phorfyromona Gingivalis

✓
Pg $2 \times 10^7 \text{ } 0.0005 \text{ ml} = .5 \mu\text{l}$

$$\frac{(10\text{ml})(1 \times 10^3)}{2 \times 10^7} = .5 \mu\text{l}$$

**Bacteroides Forsytensis.-
intermedios**

✓ x

$$\text{Tf } 1 \times 10^7 = 0.0001 \text{ ml} = .1 \mu\text{l}$$
$$\frac{(10\text{ml})(1 \times 10^3)}{1 \times 10^7} = 0.00/\text{ml}$$

Streptococcus

x

$$\text{Si } 1 \times 10^5 = 0.100 \text{ ml} = 100 \mu\text{l}$$
$$\frac{(10\text{ml})(1 \times 10^3)}{1 \times 10^5} = 0.1 \text{ ml}$$

En la activación de las Células de cultivos puros se presentó el siguiente desarrollo

- ✓ Rápido crecimiento
- x Lento crecimiento

3.5.4.2.3 Método Colorimétrico MTT

Después de la activación de cepas y del conteo y ajuste bacteriano para los cultivos puros de *Provotella intermediu*, *Bacteroides Forsythy*, *Phofirromona gingivalis* y *streptococo Intermediu*, se procedió con la continuación del proceso colorimétrico de la misma manera que en el punto y se procedió con la realización de las lecturas de absorbancia en un Lector de Microplacas a 570 nm. Y realización de análisis estadísticos para la interpretación de los mismos.

Es un aparato detector que permite medir las observancias, luminiscencia en los ensayos de microplaca

3.5.4.3 Efecto antibiótico por Difusión en Placas de Petri. Procedimiento para medir la sensibilidad in Vitro del extracto hierbas suecas contra de microorganismos de muestras clínicas de pacientes a partir del Método de Difusión en Cajas de Petri.

Prueba de sensibilidad in Vitro a los antimicrobianos

Este Procedimiento de la sensibilidad in vitro a los microorganismos de pacientes permite determinar la resistencia o el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos.

Método de Difusión en Cajas de Petri.

La medición se realizó utilizando el método cualitativo, que consistió en la técnica en la cual sobre el medio de cultivo incluido en una placa de Petri con un inóculo bacteriano estandarizado, se colocaron discos del compuesto de Hierbas Suecas con diferentes concentraciones y según el diámetro de los halos de inhibición medidos en milímetros se obtienen diferentes resultados:

Sensible, intermedia y resistente.

Ejecución Del Procedimiento

3.5.4.3.1 Activación De Cepas de Muestras Clínicas de Pacientes

Después de la activación de cepas de cada uno de los pacientes se procedió a trabajar sembrando en placas de agar de TCS por el método de inoculación con .5ml de la suspensión con los microorganismos.

Se hizo girar la placa para que a través de una espátula de Drigalsky de vidrio se distribuyera en toda la superficie.

Se dejó secar de 3 a 5 minutos, con una pinza estéril de puntas finas, se colocaron en forma de estrella los discos de papel embebidos con las diferentes concentraciones de antimicrobiano (CAS), 1.2, 1.4, 1.8, 1.16, 1.32, 1.64, 1.128 y el control y fueron depositados y presionados suavemente, en la placa sembrada de cada muestra activada del paciente en el agar de TCS. Previamente se marco la placa con las diluciones en sus diferentes concentraciones.

Se utilizaron discos de papel de 7 mm. Con un espesor de .02 mm.

Se dejó la placa a temperatura ambiente poco menos de media hora

3.5.4.3.2 Conteo y Ajuste Bacteriano de Muestras Clínicas de Pacientes

Se realizó el conteo y ajuste bacteriano para cada uno de los pacientes y así se determinó el número de células por microlitro

Discos de papel embebidos con las diferentes concentraciones.

(CAS), 1.2, 1.4, 1.8, 1.16, 1.32, 1.64, 1.128 y el control dispuestos en forma de estrella en la placa de agar de Tripticaseína de Soya.

Se incubaron las placas por 24 horas a 37⁰ C en posición invertida

Interpretación de Resultados: Sensible.- La falta de desarrollo alrededor del disco indica bacteria sensible.

- **Resistente.-** Crecimiento del microorganismo alrededor del disco

Ejecución del Procedimiento

3.5.5 Efecto Analgésico: Procedimiento de la determinación del la analgesia in vivo del compuesto hierbas Suecas a partir de la administración de ácido acético.

La actividad analgésica de una sustancia se puede determinar mediante pruebas antinociceptivas que se basan en la aplicación de un estímulo doloroso (algésico) y la aparición de cambios típicos observables en la conducta del

animal. No se puede asegurar en estas pruebas que el animal tenga la sensación dolorosa de la misma manera que en el ser humano.

3.5.5.1 Analgesia Química / Animales de experimentación:

Ratones albinos raza Swiss (25 – 30 g), elegidos aleatoriamente distribuidos en lotes de 10.

Agente analgésico: Solución acuosa al 3% de ácido acético.

3.5.5.2 Protocolo Experimental

Los extractos, la sustancia de referencia y el vehículo se inyectan por vía intraperitoneal (i.p) un volumen de 0.25 ml o por vía oral (p.o) un volumen de 0.5 ml, 30 minutos y 1 hr. respectivamente antes de la inyección i.p de 0.25 ml de una solución acuosa de ácido acético al 3%. El fármaco patrón es el ácido acetilsalicílico a una dosis de 100 mg/kg (i.p) y 200 mg/kg (p.o). Los extractos se ensayan a diferentes dosis: 50, 100 y 200 mg/kg (i.p) y 100, 200 y 400 mg/kg (p.o). Siempre que sea posible se elige el agua como vehículo. Cuando ello no es posible se utiliza una mezcla Tween 80-EtOH-Agua (2:2:20).

Inmediatamente después de la administración del agente algésico, cada animal se aísla en una jaula individual para observar el número de retorcimientos y estiramientos que realiza el animal durante 20 minutos. Se obtiene la media aritmética para cada lote, con su correspondiente error que determina el tanto por ciento de analgesia. Para ello se calcula la diferencia entre el número de retorcimientos obtenido con el grupo que recibe solamente el ácido acético (valor 100) y el ha para el grupo problema.

Con la finalidad de establecer un modelo experimental de analgesia que nos proporcione parámetros posibles de medir, se utilizó el modelo experimental en ratones Balb/c utilizando dos concentraciones del extracto hierbas suecas de 100 y 400 µg/Kg (peso del ratón) que se administro por vía oral y como control positivo se utilizo ácido acetil salicílico 100 y 400 mg/Kg (peso del ratón) y para

inducir el dolor se utilizo una solución acuosa al 3% de ácido acético que se inoculo por vía intraperitoneal .

Como vehículo se utilizo la solución conteniendo 40% de alcohol que se administro por vía oral.

Los cálculos para la concentración del extracto hierbas suecas se determinaron en base al peso del ratón

Se tomó en cuenta el peso estándar del ratón 30 g

✦ **Concentraciones de 400 mg/kg**

$$400 \text{ mg/kg} - 1000\text{g} \times 30\text{g} = 12 \text{ mg /raton } 30 \text{ g}$$

$$12 \text{ mg} - 20 \text{ ml} \cdot 4 \text{ mg} \times X = .7 \text{ ml} \times 30 \text{ g}$$

$$= .023 \text{ ml /g peso del animal}$$

Los cálculos para la concentración del ácido acetil salicílico se determinaron en base al peso del ratón

Se tomó en cuenta el peso estándar del ratón 30 g

✦ **Concentraciones de 200 mg/kg**

$$1000 \text{ mg} - 1000\text{g}$$

$$200 \text{ mg} - 1000 \text{ g} \times 1 \text{ g} = .2 \text{ mg/g}$$

$$200 \text{ mg} - 20 \text{ mL} \cdot 2 \text{ mg} - X = .02 \text{ ml/g peso del animal}$$

Ejemplo:

$$\text{Peso del animal: } 30\text{g} \times .02 \text{ mL} = .6\text{ml}$$

Grupo	Tratamiento	Descripción del tratamiento
I.	Control negativo	Ratones sin tratar
II.	Vehículo	Se administro vía <i>oral un volumen de .023 ml/g</i> (peso del ratón) la solución conteniendo 40% de alcohol, y .25 ml. de ácido acético por vía intraperitoneal.
III.	Hierbas suecas	Se administro vía oral el compuesto un volumen de .023 ml/g (peso del ratón) disuelto en aguardiente al 40 % y .25 ml de ácido acético por vía intraperitoneal
IV.	Control positivo	Se administro vía <i>oral el compuesto analgésico ácido acetil salicílico</i> , un volumen de .023 ml/g (peso del ratón) disuelto en solución salina y .25 ml. de ácido

		acético por vía intraperitoneal.
v	Control ácido acético	Se administro .25 ml. de ácido acético por vía intraperitoneal .

Tabla 3. Ejecución del protocolo experimental
Inmediatamente después de la administración del agente analgésico, cada animal se aisló para observar el **número** de retorcimientos y estiramientos que realiza el animal durante 20 min. Para ello se calcula la diferencia entre el número de retorcimientos obtenido con el grupo que recibe solamente el ácido acético.

Tabla 4. Clasificación de Ratones

Anillos	Peso
1 anillo	31.64
2 anillos	15.58
3 anillos	19.25
4 anillos	14.59

Anillos	Peso
1 anillo	16.74
2 anillos	27.91
3 anillos	29.95
4 anillos	12.73

Anillos	Peso
1 anillo	32.00
2 anillos	19.70
3 anillos	14.91
4 anillos	16.50

Anillos	Peso
1 anillo	12.26
2 anillos	18.72
3 anillos	18.20
4 anillos	30.43

Anillos	Peso
1 anillo	12.72
2 anillos	33.56
3 anillos	18.39
4 anillos	16.83

Anillos	Peso
1 anillo	13.23
2 anillos	29.24
3 anillos	13.72
4 anillos	18.25

Procedimiento

Para el modelo experimental *in vivo*

Se utilizaron 5 grupos de ratones Balb/c

Grupo I Control negativo

Grupo II Vehículo

Grupo III Extracto Hierbas Suecas

Grupo IV. Control positivo (ácido acetilsalicílico)

Control ácido acético

Se pesó cada uno de los ratones para calcular la concentración del tratamiento que se va administrar.

Tratamientos ya ajustados ala concentración deseada

Preparación del ácido acético que se va a inocular por vía intraperitoneal
Se administro 25 ml. de ácido acético por via intraperitoneal

Se administro vía oral el compuesto hierbas suecas, un volumen de .023 ml/gl
Grupo tratados bajo observación
Se aísla para observar el número de retorcimientos y estiramientos que realiza el animal durante 20 min.

3.5.6 Instalaciones

Las instalaciones para el desarrollo de la parte experimental y proceso de planteamiento y término de tesis doctoral de la Universidad Autónoma de Nuevo León, fueron:

- Laboratorio de Biología Molecular - Facultad de Odontología
- Laboratorio Cuatro - Instituto de Biotecnología
- Laboratorio de Inmunobiología y Acarreadores - Facultad de Biología

3.5.7 Consideraciones éticas

"Todos los procedimientos están de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. El documento con el dictamen de la Comisión de Bioética puede consultarse en el apartado de anexos.

Resultados

4

4. RESULTADOS

Los Resultados del presente trabajo de investigación se presentan de acuerdo al propósito planteado acerca de la determinación de los potenciales terapéuticos (antisépticos, antiinflamatorios y analgésicos) del compuesto “Hierbas Suecas” en el tratamiento de algunas afecciones bucales y para comprobación de la hipótesis.

4.1 EFECTO ANTIINFLAMATORIO IN VITRO

El extracto de amargo sueco fue sometido a diversas pruebas orientadas a evaluar su efecto antiinflamatorio a través de los métodos descritos en la ejecución de los procedimientos, en donde se realizaron experimentos con y sin estimulación de la producción de óxido nítrico por Lipolizacáridos (LPS),

ANÁLISIS DEL EXTRACTO DE HIERBAS SUECAS SOBRE LA ESTIMULACIÓN DE MACRÓFAGOS PERITONEALES EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE LPS *IN VITRO*

Para la estimulación de macrófagos se utilizó el método en el cual se extrajeron las células de la cavidad peritoneal del ratón y se sometieron a diferentes concentraciones del extracto con o sin activación del LPS, utilizando el reactivo de Griess se determinó la cantidad de nitritos presentes, mientras que mediante el uso del reactivo de MTT se determinó la viabilidad celular.

Análisis del extracto de Hierbas Suecas sobre la estimulación de macrófagos peritoneales en ausencia de LPS *in vitro*

Tabla 6.
Efecto Antiinflamatorio del Extracto de Amargo Sueco sin LPS
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancia 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad
500	0.33	0.00	0.00	98.69	1.30	0.99
250	0.33	0.02	0.01	98.39	1.60	0.98
125	0.31	0.04	0.03	94.20	5.79	0.94
62.5	0.33	0.01	0.00	100.30	-0.03	1.00
31.2	0.32	0.04	0.03	95.22	4.77	0.95
15.6	0.33	0.01	0.01	98.49	1.50	0.98
7.8	0.36	0.03	0.02	109.73	-9.73	1.10
3.9	0.32	0.02	0.02	97.48	2.51	0.97
0	0.332	0.004	0.003	100	0	1

Fuente: Pruebas de laboratorio

El extracto de hierbas suecas, mostró una reducción significativa ($p < .05$) en la cantidad de nitritos a la concentración de 62.5 y 500 μ g/mL, manteniendo la viabilidad de los macrófagos entre 98% \pm 2 %

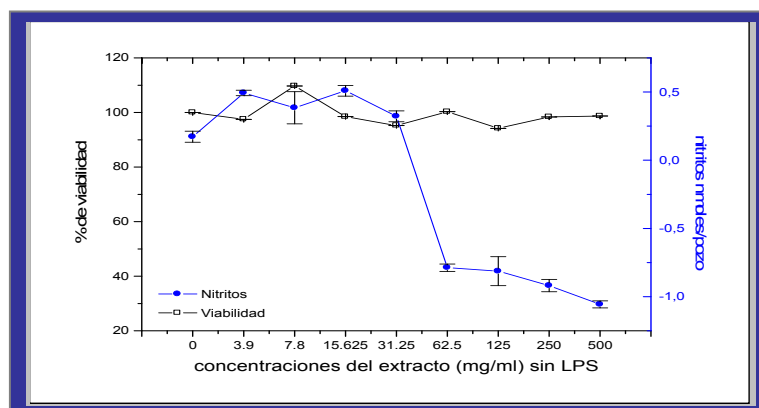


Figura 10. Efecto de las hierbas suecas en la producción de nitritos por macrófagos peritoneales en ausencia de LPS.

Los macrófagos (1.7×10^6 células/mL) fueron incubados en presencia de los extractos a diferentes concentraciones (500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, 3.9 μ g/mL), después los cultivos se lavaron y se incubaron con medio AIM-V. Se obtuvieron alícuotas del sobrenadante para determinar la producción de nitritos

con reactivo de Griess y a lo restante se le agregó MTT para medir la viabilidad celular. Las densidades ópticas se leyeron a 570nm en un lector de microplacas.

Los datos representan la media \pm el error estándar de tres experimentos independientes con tres réplicas por cada experimento. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ comparado con el control sin tratar.

4.1.2 Análisis del extracto de Hierbas Suecas sobre la estimulación de macrófagos peritoneales en presencia de LPS *in vitro*

Tabla 7.

Efecto Antiinflamatorio del Extracto de Amargo Sueco con LPS

Modelo Estadístico según concentración

Absorbancia 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad
500	0.35	0.05	0.03	140.34	-40.34	1.40
250	0.35	0.01	0.01	138.80	-38.80	1.39
125	0.34	0.02	0.01	135.92	-35.92	1.36
62.5	0.34	0.02	0.01	135.69	-35.69	1.36
31.2	0.40	0.07	0.05	159.11	-59.11	1.59
15.6	0.34	0.02	0.02	136.98	-36.98	1.37
7.8	0.31	0.00	0.00	125.76	-25.76	1.26
3.9	0.32	0.01	0.01	128.21	-28.21	1.28
0	0.249	0.010	0.007	100	0	1

El extracto de hierbas suecas, mostró disminución en la producción de nitritos por los macrófagos en presencia de LPS, manteniendo la viabilidad de los macrófagos en más del 100 %

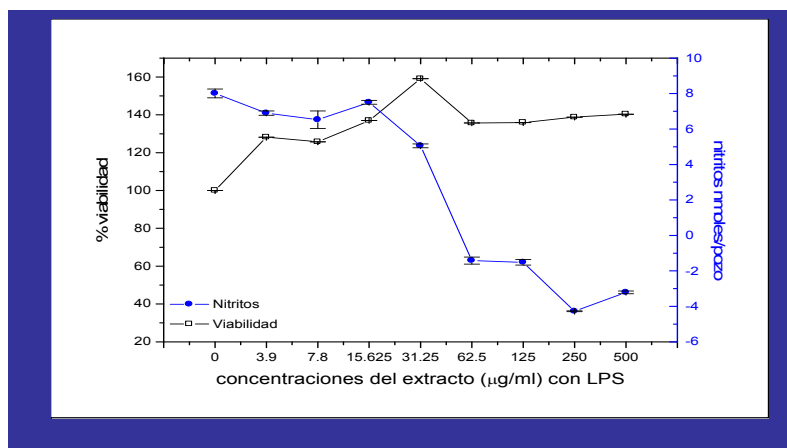
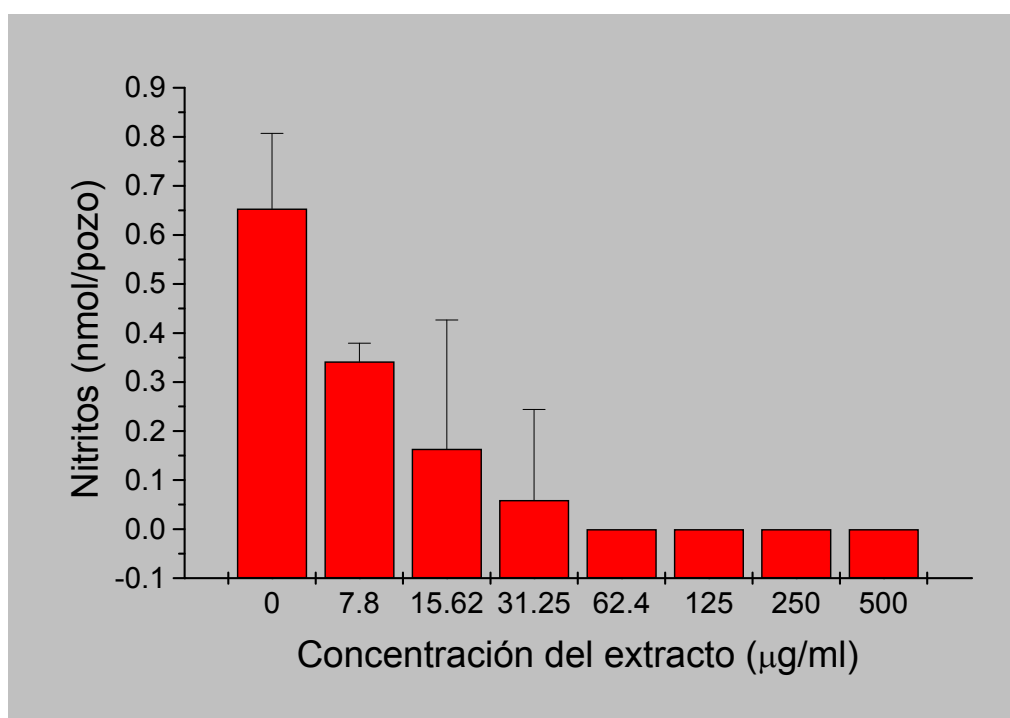


Figura 11. Efecto del extracto de Hierbas Suecas sobre la producción de nitritos por macrófagos peritoneales en presencia de LPS.

Los macrófagos (1.7×10^6 células/mL) fueron incubados en presencia de los extractos a diferentes concentraciones (500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6, 7.8, $3.9 \mu\text{g/mL}$), después los cultivos se lavaron y se incubaron con medio AIM-V. Se obtuvieron alícuotas del sobrenadante para determinar la producción de nitritos con reactivo de Griess y a lo restante se le agregó MTT para medir la viabilidad celular. Las densidades ópticas se leyeron a 570nm en un lector de microplacas.

Los datos representan la media \pm el error estándar de tres experimentos independientes con tres réplicas por cada experimento. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ comparado con el control sin tratar.



Gráfica 3. Efecto antiinflamatorio

Se puede observar que el extracto redujo significativamente la producción de óxido nítrico, que se determina por la acumulación de nitritos en el medio de cultivo de macrófagos peritoneales de ratón, al compararse con el control sin tratar.

Por lo tanto, de las pruebas realizadas in vitro se determina una acción con resultados significativos en el TX. Antiinflamatorio desde una concentración de 62.4 .

El extracto de amargo sueco fue sometido a pruebas orientadas a evaluar su efecto antiinflamatorio, en donde en un primer ensayo se realizaron experimentos estimulando la producción de óxido nítrico con Lipolizacáridos (LPS), en ellas se observaron diversos promedios de inhibición con referencia al control negativo y a los presentados en cada una de las diferentes concentraciones (7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 mg/ml).

4.2 EFECTO ANTIBIÓTICO IN VITRO POR EL MÉTODO MTT

4.2.1 PARA CULTIVOS PUROS

Se procedió con la evaluación del efecto antibiótico en cultivos puros de los microorganismos mas representativos de cavidad oral.:

4.2.1.1 Microorganismo *Provotella Intermediu*

De los cultivos puros se inició con la evaluación de la *provotella Intermediu* para determinar el efecto Antibiótico del extracto de amargo sueco en contra de esa bacteria y se pudieron observar los resultados de inhibición menores al grupo control lo que nos dice que tuvieron una diferencia estadísticamente significativa (Prueba t entre 0.01 y 0.05) en todas las concentraciones consideradas fueron de 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 µg/ml, las cuales presentaron promedios de inhibición entre 0.38 y 0.46 con una desviación estándar desde 0.03 hasta 0.08.

Los porcentajes de Viabilidad observados en cada una de las concentraciones fluctuaron entre el 70.93 y 85.92% para presentar proporciones de citotoxicidad entre el 14.07 y 29.06%.

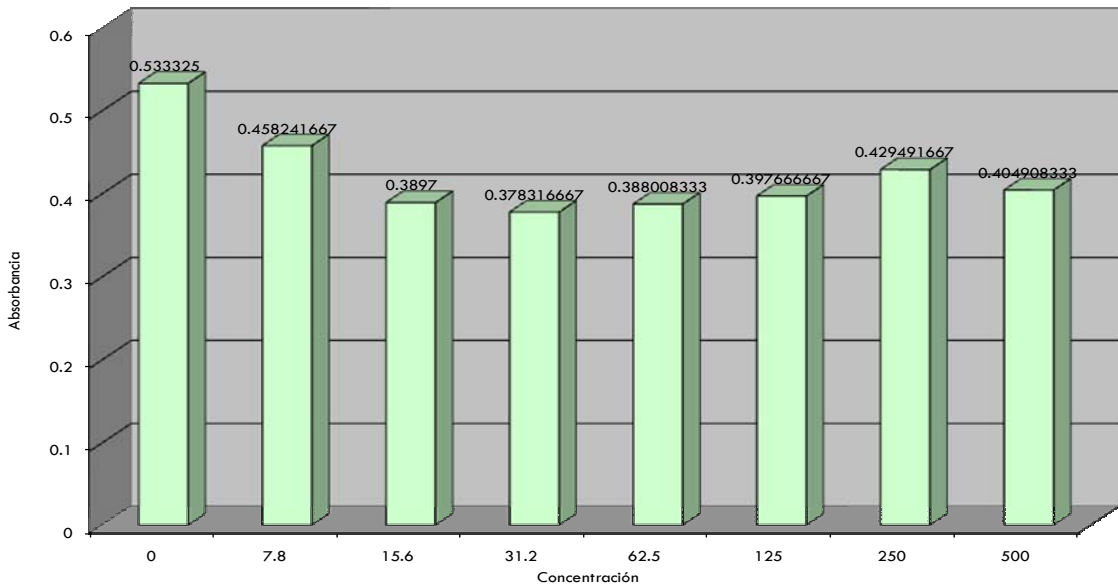
Tabla 8.
Efecto Antibiótico del Extracto de Amargo Sueco contra *Provotella Intermediu*
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
---------------------------------------	-------	------------------------	-------------------	-----------------	--------------------	-------------------------	----------

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.41	0.03	0.02	75.92	24.07	0.76	0.01
250	0.43	0.05	0.03	80.53	19.46	0.81	0.04
125	0.40	0.08	0.05	74.56	25.43	0.75	0.05
62.5	0.39	0.06	0.03	72.75	27.24	0.73	0.02
31.2	0.38	0.05	0.03	70.93	29.06	0.71	0.02
15.6	0.39	0.06	0.03	73.07	26.93	0.73	0.02
7.8	0.46	0.03	0.02	85.92	14.07	0.86	0.02
0	0.533	0.000	0.000	100	0	1	0

Fuente: Pruebas de laboratorio

Gráfica No. 3
Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Provotella Intermediu* según concentración, Junio de 2008
 Valores presentados en absorbancias 570 nm



Gráfica 4. Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Provotella Intermediu*

4.2.1.2 Microorganismo *Bacteroides Forsythy*

Otra de las evaluaciones realizadas fue la confrontación a la *Bacteroides Forsythy* para identificar el efecto antibiótico del extracto amargo sueco, aquí también fueron observados promedios de inhibición menores al control negativo desde las concentraciones de 500 hasta 31.2 siendo estadísticamente significativas excepto en la concentración de 15.6 y 7.8 µg/ml).

En lo que respecta a la media del control negativo fue de 0.45, presentó diferencias con los promedios de cada una de las concentraciones que se presentaron desde los 0.37 hasta los 0.40 con desviaciones estándar entre 0.01 y 0.06, éstas diferencias, según la prueba t (entre 0.01 y 0.05 para cada una de las diferentes concentraciones), fueron estadísticamente significativas excepto por el .08 hasta .15

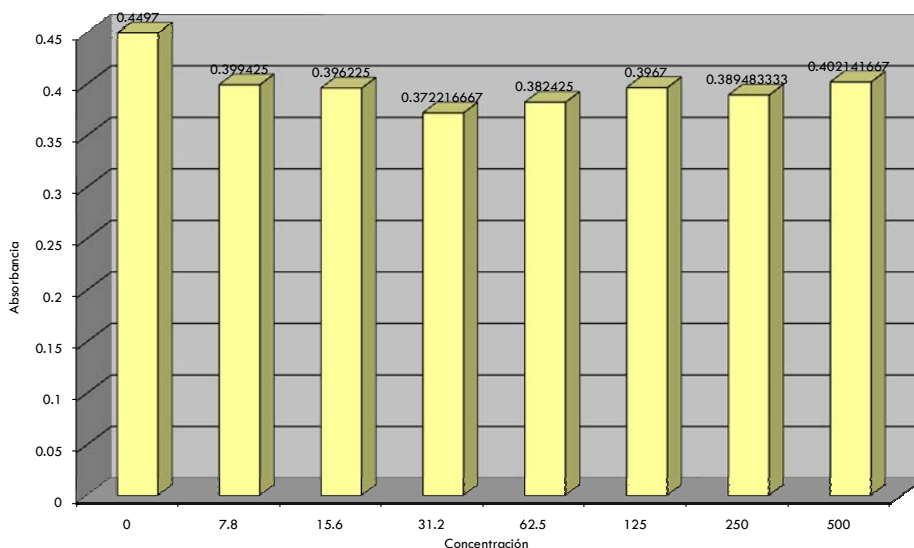
Los porcentajes de citotoxicidad de las diferentes concentraciones presentaron proporciones entre 11.18 y 17.23% en contraparte a los porcentajes de Viabilidad que para este ensayo oscilñaron entre 82.77 y 89.42

Tabla 9.
Efecto Antibiótico del Extracto de Amargo Sueco contra *Bacteroides Forsythy*
Modelo Estadístico según concentración
Absorbancias 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.40	0.03	0.02	89.42	10.57	0.89	0.05
250	0.39	0.01	0.01	86.61	13.39	0.87	0.01
125	0.40	0.01	0.01	88.21	11.78	0.88	0.01
62.5	0.38	0.01	0.00	85.04	14.96	0.85	0.00
31.2	0.37	0.03	0.02	82.77	17.23	0.83	0.02
15.6	0.40	0.04	0.03	88.10	11.89	0.88	0.08
7.8	0.40	0.06	0.04	88.20	11.18	0.89	0.15
0	0.450	0.000	0.000	100	0	1	0

Fuente: Pruebas de laboratorio

Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Bacteroides Forsythy* según concentración, Junio de 2008
Valores presentados en absorbancias 570 nm



Gráfica 5. Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Bacteroides Forsythy*

4.2.1.3 Microorganismo *Phorfiromona Gingivalis*

Otro de los efectos antibióticos que se consideró para el presente estudio fue la bacteria *Phorfiromona gingivalis*, donde se observó que los promedios de las diferentes concentraciones del extracto de amargo sueco fueron menores al grupo control solo en las concentraciones de 500, 250 y 62.5 (Prueba t entre 0.01 y 0.05) siendo estadísticamente significativas y no sucedió así para las concentraciones de 7.8, 15.6, 31.2, y 125 $\mu\text{g/ml}$, que les correspondieron promedios entre 0.10 hasta 0.23 con desviaciones estándar entre 0.01 hasta 0.03.

Dichas diferencias entre el valor del control negativo y los de las diferentes concentraciones no llegaron a ser estadísticamente significativas excepto para las de 500, 250 y 62.5.

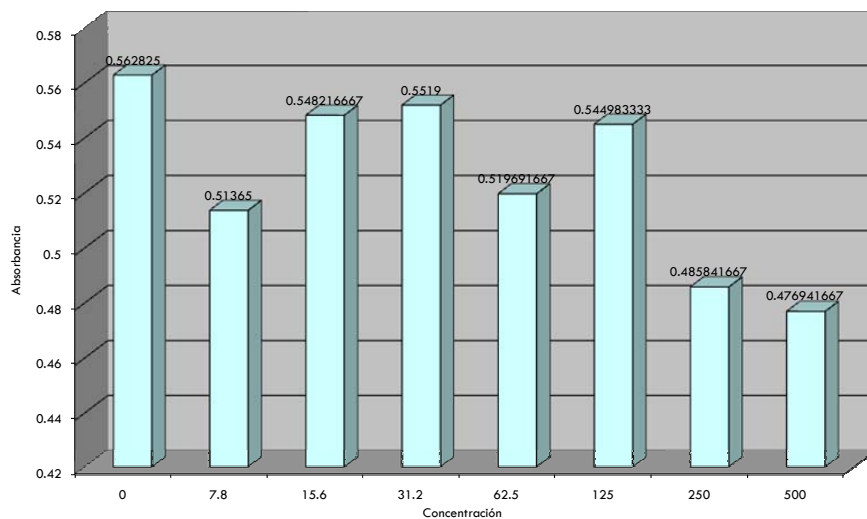
Los porcentajes de citotoxicidad del extracto de amargo sueco a la *Phorfiromona gingivalis* considerados en las diferentes concentraciones fueron desde 1.94 hasta 15.26% correspondiéndoles proporciones de Viabilidad entre 84.74 y 98.08%.

Tabla 10
Efecto Antibiótico del Extracto de Amargo Sueco contra *Phorfiromona Gingivalis*
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.48	0.01	0.01	84.74	15.26	0.85	0.00
250	0.49	0.02	0.01	86.32	13.68	0.86	0.01
125	0.55	0.04	0.02	96.83	3.17	0.97	0.23
62.5	0.52	0.02	0.01	92.34	7.66	0.92	0.03
31.2	0.55	0.01	0.00	98.06	1.94	0.98	0.22
15.6	0.55	0.03	0.02	97.40	2.60	0.97	0.22
7.8	0.51	0.05	0.03	91.26	8.74	0.91	0.10
0	0.563	0.000	0.000	100	0	1	0

Fuente: Pruebas de laboratorio

Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Phorfiromona gingivalis* según concentración, Junio de 2008
 Valores presentados en absorbancias 570 nm



Gráfica6. Efecto Antibiótico del Extracto de Hierbas contra *Phorfiromona Gingivalis*

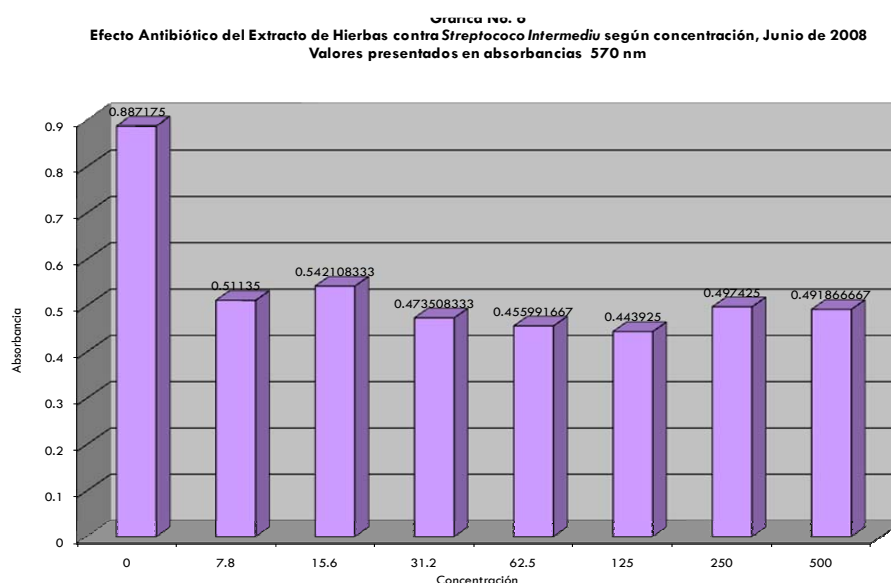
4.2.1.4 Microorganismo *Streptococo Intermediu*

Las pruebas realizadas al extracto de amargo sueco para medir su efecto antibiótico contra *Streptococo Intermediu*, obtuvieron resultados altamente significativos con valores de prueba t de student entre 0.000 y 0.001 y con una media del control (0.887) y los promedios de las concentraciones 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 µg/ml (media desde 0.44 hasta 0.54 con desviaciones estándar entre 0.00 y 0.02) fueron estadísticamente significativos. Los porcentajes de citotoxicidad del extracto de amargo sueco al *Streptococo Intermediu* se presentaron entre el 38.90 y 49.97% con proporciones de Viabilidad con relación al control entre 50.03 y 61.10%

Tabla 11

Efecto Antibiótico del Extracto de Amargo Sueco contra *Streptococo Intermediu*
Modelo Estadístico según concentración
Absorbancias 540 nm, Junio de 2008

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.49	0.02	0.01	55.42	44.58	0.55	0.001
250	0.50	0.04	0.02	56.06	43.94	0.56	0.001
125	0.44	0.00	0.00	50.03	49.97	0.50	0.000
62.5	0.46	0.01	0.01	51.39	48.61	0.51	0.000
31.2	0.47	0.03	0.02	53.37	46.63	0.53	0.001
15.6	0.54	0.03	0.02	61.10	38.90	0.61	0.001
7.8	0.51	0.03	0.02	57.63	42.37	0.58	0.001
0	0.887	0.000	0.000	100	0	1	0



Gráfica 7. Efecto Antibiótico del Extracto de Amargo Sueco contra *Streptococo Intermediu*

4.2.1.5 Concentrado del Efecto antibiótico en Cultivos puros del Extracto amargo sueco

La presente sección tiene como objetivo determinar a través de un concentrado, si existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios del efecto antibiótico para los cultivos puros (para *Provotella intermediu*, *Bacteroides Forsythy*, *Phorfiromona gingivalis* y *streptococo Intermediu*) del extracto de amargo sueco a diferentes concentraciones.

Para la presente prueba se determinó el valor estadísticamente significativo a través de la t de student de las 4 bacterias a 540 nm de antibiótico del extracto

de hierbas suecas para las concentraciones 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 µg/ml, los cuales son expuestos en la tabla siguiente:

ANÁLISIS DE RESULTADOS

La presente sección tiene como objetivo determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios del efecto antiinflamatorio (en dos ensayos) y el efecto antibiótico (para *Provotella intermediu*, *Bacteroides Forsythy*, *Phorfiromona gingivalis* y *streptococo Intermediu*) del extracto de amargo sueco a diferentes concentraciones.

Datos

Para la presente prueba se determinaron los promedios y desviaciones estándar de las absorbancias a 540 nm de cada uno de los efectos antiinflamatorio y antibiótico del extracto de hierbas suecas para las concentraciones 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 mg/ml, los cuales son expuestos en la siguiente tabla:

Tabla 12
Concentrado del Efecto antibiótico contra bacterias de cultivos Puros
Modelo Estadístico según concentración
Absorbancias 540 nm, Junio de 2008

Ensayo con Cultivos Puros			
<i>Provotella Intermediu</i>	<i>Bacteroides Forsythy</i>	<i>Phorfiromona gingivalis</i>	<i>Streptococo Intermediu</i>
0.01	0.05	0.00	0.001
0.04	0.01	0.01	0.001
0.05	0.01	0.23	0.000
0.02	0.00	0.03	0.000
0.02	0.02	0.22	0.001
0.02	0.08	0.22	0.001
0.02	0.15	0.10	0.001
0	0	0	0

4.3 EFECTO ANTIBIÓTICO CONTRA BACTERIAS DE MUESTRAS CLÍNICAS DE PACIENTES POR EL MÉTODO DE MTT

Para la determinación del efecto antibiótico en muestras clínicas de 29 pacientes por el método MTT, se realizaron pruebas con 9 repeticiones cada una, de donde se sacó la media de los experimentos de cada paciente y se procedió a realizar un análisis estadístico a través de la prueba "t" de student para así demostrar la inhibición del compuesto amargo sueco contra las bacterias.

Tabla 13.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 1

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.1307	0.0328	0.0109	102.6885	-2.6885	1.0269	0.3465
250	0.1421	0.0461	0.0154	111.6446	-11.6446	1.1164	0.1117
125	0.1302	0.0327	0.0109	102.2608	-2.2608	1.0226	0.3905
62.5	0.1516	0.0628	0.0209	119.0904	-19.0904	1.1909	0.1184
31.2	0.1383	0.0334	0.0111	108.6505	-8.6505	1.0865	0.1493
15.6	0.1581	0.0541	0.0180	124.2144	-24.2144	1.2421	0.0168
7.8	0.1453	0.0250	0.0083	114.1498	-14.1498	1.1415	0.0935
0	0.1273	0.0294	0.0098	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Se observa que el paciente 1 solo presentó diferencia significativa (eficacia del tratamiento) en la concentración a 15.6

Tabla 14.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 2

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0783	0.0066	0.0022	90.9607	9.0393	0.9096	0.0098
250	0.0814	0.0109	0.0036	95.3670	4.6330	0.9537	0.0451
125	0.0860	0.0067	0.0022	100.7808	-0.7808	1.0078	0.4161
62.5	0.0846	0.0139	0.0046	99.1150	0.8850	0.9912	0.4024
31.2	0.0798	0.0106	0.0035	93.5190	6.4810	0.9352	0.0384
15.6	0.0847	0.0098	0.0033	99.2582	0.7418	0.9926	0.3715
7.8	0.0860	0.0067	0.0022	100.7808	-0.7808	1.0078	0.0074
0	0.0854	0.0078	0.0026	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 2 presentó resultados significativos en concentraciones 7.8 y 500, el resto de las concentraciones no demostraron eficacia en el tratamiento

Tabla 15.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 3

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0767	0.0063	0.0021	61.7229	38.2771	0.6172	0.0001
250	0.0812	0.0086	0.0029	65.3905	34.6095	0.6539	0.0004
125	0.0764	0.0050	0.0017	61.5440	38.4560	0.6154	0.0006
62.5	0.0770	0.0122	0.0041	61.9823	38.0177	0.6198	0.0004
31.2	0.0812	0.0086	0.0029	65.3905	34.6095	0.6539	0.0005
15.6	0.0937	0.0140	0.0047	75.4092	24.5908	0.7541	0.0067
7.8	0.0767	0.0063	0.0021	61.7229	38.2771	0.6172	0.0038
0	0.1242	0.0265	0.0088	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 3 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones consideradas demostrando la eficacia del tratamiento

Tabla 16.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 4

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0668	0.0055	0.0018	59.1115	40.8885	0.5911	0.0006
250	0.0778	0.0058	0.0019	68.8421	31.1579	0.6884	0.0012
125	0.0786	0.0083	0.0028	69.5203	30.4797	0.6952	0.0025
62.5	0.0776	0.0074	0.0025	68.6357	31.3643	0.6864	0.0017
31.2	0.0962	0.0106	0.0035	85.1288	14.8712	0.8513	0.0506
15.6	0.0979	0.0148	0.0049	86.6228	13.3772	0.8662	0.0770
7.8	0.0961	0.0160	0.0053	85.0010	14.9990	0.8500	0.0921
0	0.1130	0.0287	0.0096	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 4 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones a partir de 31.2, demostrando la eficacia del tratamiento en dichas concentraciones

Tabla 17.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 5

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0786	0.0378	0.0126	39.3111	60.6889	0.3931	0.0040
250	0.0930	0.0094	0.0031	46.5222	53.4778	0.4652	0.0016
125	0.0937	0.0154	0.0051	46.8333	53.1667	0.4683	0.0009
62.5	0.0922	0.0149	0.0050	46.0778	53.9222	0.4608	0.0008
31.2	0.1182	0.0232	0.0077	59.1000	40.9000	0.5910	0.0036
15.6	0.1261	0.0512	0.0171	63.0556	36.9444	0.6306	0.0014
7.8	0.1814	0.0704	0.0235	90.7222	9.2778	0.9072	0.2819
0	0.2000	0.0802	0.0267	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 5 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones a partir de 15.6, demostrando la eficacia del tratamiento en dichas concentraciones

Tabla 18.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 6

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0907	0.0156	0.0052	71.6694	28.3306	0.7167	0.0151
250	0.0934	0.0124	0.0041	73.8298	26.1702	0.7383	0.0199
125	0.0896	0.0080	0.0027	70.8088	29.1912	0.7081	0.0124
62.5	0.1017	0.0455	0.0152	80.3460	19.6540	0.8035	0.1070
31.2	0.0932	0.0122	0.0041	73.6717	26.3283	0.7367	0.0102
15.6	0.0870	0.0093	0.0031	68.7363	31.2637	0.6874	0.0051
7.8	0.1064	0.0173	0.0058	84.1310	15.8690	0.8413	0.0714
0	0.1265	0.0415	0.0138	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 6 en cuanto el efecto antibiótico presentó una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de 500, 250, 125, 31.2, y 15.6 con valores de 00 a 01, excepto en las concentraciones de 62.5 y 7.8 donde hubo valores de .07 a .10.

Tabla 19.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes

Modelo Estadístico según concentración
Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 7

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0835	0.0071	0.0024	43.9177	56.0823	0.4392	0.0060
250	0.0873	0.0043	0.0014	45.9169	54.0831	0.4592	0.0075
125	0.0855	0.0060	0.0020	44.9991	55.0009	0.4500	0.0064
62.5	0.0975	0.0361	0.0120	51.2714	48.7286	0.5127	0.0024
31.2	0.1042	0.0192	0.0064	54.8372	45.1628	0.5484	0.0099
15.6	0.1261	0.0392	0.0131	66.3354	33.6646	0.6634	0.0342
7.8	0.1387	0.0373	0.0124	72.9643	27.0357	0.7296	0.0473
0	0.1901	0.1001	0.0334	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 7 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones consideradas demostrando la eficacia del tratamiento ($p < 0.05$)

Tabla 20.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes

Modelo Estadístico según concentración
Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 8

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Variabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0845	0.0072	0.0024	34.5754	65.4246	0.3458	0.0000
250	0.0904	0.0081	0.0027	36.9610	63.0390	0.3696	0.0000
125	0.0872	0.0073	0.0024	35.6614	64.3386	0.3566	0.0000
62.5	0.0922	0.0132	0.0044	37.7198	62.2802	0.3772	0.0000
31.2	0.0934	0.0120	0.0040	38.2151	61.7849	0.3822	0.0000
15.6	0.1620	0.0645	0.0215	66.2380	33.7620	0.6624	0.0004
7.8	0.1968	0.0699	0.0233	80.4653	19.5347	0.8047	0.0157
0	0.2445	0.0556	0.0185	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 8 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones consideradas demostrando la eficacia del tratamiento ($p < 0.05$)

Tabla 21.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 9

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0802	0.0085	0.0028	75.8273	24.1727	0.7583	0.0250
250	0.0820	0.0176	0.0059	77.4976	22.5024	0.7750	0.0171
125	0.0856	0.0163	0.0054	80.9749	19.0251	0.8097	0.0201
62.5	0.0852	0.0133	0.0044	80.5967	19.4033	0.8060	0.0187
31.2	0.0973	0.0293	0.0098	91.9845	8.0155	0.9198	0.1901
15.6	0.1181	0.0605	0.0202	111.6714	-11.6714	1.1167	0.2797
7.8	0.0931	0.0292	0.0097	88.0345	11.9655	0.8803	0.1352
0	0.1058	0.0330	0.0110	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 9 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones a partir de 62.5, demostrando la eficacia del tratamiento en éstas concentraciones

Tabla 22.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 10

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0842	0.0064	0.0021	47.4561	52.5439	0.4746	0.0056
250	0.0876	0.0145	0.0048	49.3985	50.6015	0.4940	0.0031
125	0.0885	0.0160	0.0053	49.9248	50.0752	0.4992	0.0028
62.5	0.0975	0.0347	0.0116	54.9749	45.0251	0.5497	0.0040
31.2	0.1148	0.0489	0.0163	64.7118	35.2882	0.6471	0.0110
15.6	0.1272	0.0583	0.0194	71.7105	28.2895	0.7171	0.0052
7.8	0.1315	0.0623	0.0208	74.1729	25.8271	0.7417	0.0171
0	0.1773	0.0837	0.0279	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 10 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones consideradas demostrando la eficacia del tratamiento ($p < 0.05$)

Tabla 23.
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 11

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.1172	0.0227	0.0076	35.6163	64.3837	0.3562	0.0016
250	0.1221	0.0337	0.0112	37.1260	62.8740	0.3713	0.0011
125	0.1509	0.0797	0.0266	45.8595	54.1405	0.4586	0.0021
62.5	0.1651	0.0870	0.0290	50.1925	49.8075	0.5019	0.0011
31.2	0.1896	0.1171	0.0390	57.6393	42.3607	0.5764	0.0040
15.6	0.2446	0.1387	0.0462	74.3533	25.6467	0.7435	0.0355
7.8	0.2508	0.1759	0.0586	76.2242	23.7758	0.7622	0.0950
0	0.3290	0.1704	0.0568	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 11 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones a partir de 15.6, demostrando la eficacia del tratamiento en éstas concentraciones

Tabla 24
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 12

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0776	0.0108	0.0036	64.7375	35.2625	0.6474	0.0090
250	0.0808	0.0111	0.0037	67.4179	32.5821	0.6742	0.0091
125	0.0809	0.0135	0.0045	67.5478	32.4522	0.6755	0.0070
62.5	0.0806	0.0175	0.0058	67.2695	32.7305	0.6727	0.0063
31.2	0.0834	0.0191	0.0064	69.5882	30.4118	0.6959	0.0055
15.6	0.0876	0.0168	0.0056	73.0848	26.9152	0.7308	0.0139
7.8	0.1124	0.0608	0.0203	93.8416	6.1584	0.9384	0.2910
0	0.1198	0.0465	0.0155	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 12 presentó una diferencia significativa en todas las concentraciones a partir de 15.6, demostrando la eficacia del tratamiento en éstas concentraciones

Tabla 25
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 13

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0842	0.0196	0.0065	43.1990	56.8010	0.4320	0.0005
250	0.0843	0.0125	0.0042	43.2446	56.7554	0.4324	0.0005
125	0.0948	0.0267	0.0089	48.6011	51.3989	0.4860	0.0003
62.5	0.1296	0.0762	0.0254	66.4482	33.5518	0.6645	0.0129
31.2	0.1604	0.0690	0.0230	82.2725	17.7275	0.8227	0.0281
15.6	0.2069	0.1324	0.0441	106.1086	-6.1086	1.0611	0.3800
7.8	0.2205	0.1106	0.0369	113.0720	-13.0720	1.1307	0.1148
0	0.1950	0.0756	0.0252	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

En cuanto al paciente 13 se observa que presentó una diferencia significativa en las concentraciones a partir de 31.2, demostrando la eficacia del tratamiento en éstas concentraciones con valores de .00 a .02.

Tabla 26
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 14

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0894	0.0069	0.0023	44.2427	55.7573	0.4424	0.0025
250	0.0903	0.0097	0.0032	44.6993	55.3007	0.4470	0.0022
125	0.1115	0.0225	0.0075	55.1906	44.8094	0.5519	0.0043
62.5	0.1371	0.0426	0.0142	67.8990	32.1010	0.6790	0.0104
31.2	0.1891	0.0753	0.0251	93.6403	6.3597	0.9364	0.2190
15.6	0.1886	0.0887	0.0296	93.3597	6.6403	0.9336	0.2100
7.8	0.1990	0.0786	0.0262	98.5476	1.4524	0.9855	0.4363
0	0.2020	0.0917	0.0306	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 14 presentó eficacia en el tratamiento en las pruebas a partir de la concentración 62.5 o superiores.

Tabla 27
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 15

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0827	0.0062	0.0021	47.3647	52.6353	0.4736	0.0006
250	0.0847	0.0063	0.0021	48.5105	51.4895	0.4851	0.0004
125	0.0951	0.0228	0.0076	54.4558	45.5442	0.5446	0.0004
62.5	0.0986	0.0215	0.0072	56.5054	43.4946	0.5651	0.0001
31.2	0.1266	0.0360	0.0120	72.5525	27.4475	0.7255	0.0082
15.6	0.1354	0.0663	0.0221	77.5939	22.4061	0.7759	0.0338
7.8	0.1659	0.0570	0.0190	95.0350	4.9650	0.9504	0.2796
0	0.1746	0.0542	0.0181	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 15 presentó eficacia en el tratamiento en las pruebas a partir de la concentración 15.6 o superiores.

Tabla 28
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 16

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0906	0.0117	0.0039	46.4048	53.5952	0.4640	0.0028
250	0.0916	0.0246	0.0082	46.9115	53.0885	0.4691	0.0014
125	0.1092	0.0361	0.0120	55.9465	44.0535	0.5595	0.0063
62.5	0.1538	0.0647	0.0216	78.8272	21.1728	0.7883	0.0349
31.2	0.1803	0.0644	0.0215	92.3940	7.6060	0.9239	0.2596
15.6	0.1988	0.0705	0.0235	101.8673	-1.8673	1.0187	0.4273
7.8	0.2187	0.1208	0.0403	112.0410	-12.0410	1.1204	0.2973
0	0.1952	0.0920	0.0307	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 16 presentó eficacia en el tratamiento en las pruebas a partir de la concentración 62.5 o superiores.

Tabla 29
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 17

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.0983	0.0202	0.0067	43.6332	56.3668	0.4363	0.0054
250	0.1028	0.0166	0.0055	45.5953	54.4047	0.4560	0.0045
125	0.1298	0.0323	0.0108	57.6041	42.3959	0.5760	0.0162
62.5	0.1490	0.0482	0.0161	66.1228	33.8772	0.6612	0.0410
31.2	0.1946	0.1013	0.0338	86.3495	13.6505	0.8635	0.1634
15.6	0.2334	0.1455	0.0485	103.5593	-3.5593	1.0356	0.4438
7.8	0.2679	0.1007	0.0336	118.8563	-18.8563	1.1886	0.1065
0	0.2254	0.1156	0.0385	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

El paciente 17 presentó eficacia en el tratamiento en las pruebas a partir de la concentración 31.2 o superiores.

Tabla 30
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 18

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.1055	0.0121	0.0040	55.5796	44.4204	0.5558	0.0264
250	0.1060	0.0186	0.0062	55.8195	44.1805	0.5582	0.0218
125	0.1208	0.0330	0.0110	63.6082	36.3918	0.6361	0.0355
62.5	0.1319	0.0453	0.0151	69.4657	30.5343	0.6947	0.0476
31.2	0.1794	0.0964	0.0321	94.4760	5.5240	0.9448	0.3688
15.6	0.2049	0.1075	0.0358	107.8998	-7.8998	1.0790	0.2126
7.8	0.1952	0.0965	0.0322	102.8205	-2.8205	1.0282	0.3922
0	0.1899	0.1165	0.0388	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas con el paciente 18 a partir de la concentración 62.5 o superior demostraron ser las más significativas ($p < 0.05$)

Tabla 31
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 19

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.1079	0.0067	0.0022	39.4546	60.5454	0.3945	0.0239
250	0.1195	0.0245	0.0082	43.7175	56.2825	0.4372	0.0217
125	0.1429	0.0700	0.0233	52.2676	47.7324	0.5227	0.0179
62.5	0.1985	0.1461	0.0487	72.6024	27.3976	0.7260	0.1125
31.2	0.2116	0.1527	0.0509	77.3854	22.6146	0.7739	0.0097
15.6	0.2090	0.1144	0.0381	76.4467	23.5533	0.7645	0.1319
7.8	0.2758	0.1922	0.0641	100.8615	-0.8615	1.0086	0.4757
0	0.2734	0.2137	0.0712	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas con el paciente 19 a partir de la concentración 31.2 o superior demostraron ser las más significativas ($p < 0.05$)

Tabla 32
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 20

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.1100	0.0164	0.0055	25.3936	74.6064	0.2539	0.0021
250	0.1948	0.0971	0.0324	44.9664	55.0336	0.4497	0.0016
125	0.2667	0.1673	0.0558	61.5544	38.4456	0.6155	0.0032
62.5	0.2945	0.2351	0.0784	67.9548	32.0452	0.6795	0.0074
31.2	0.3194	0.2023	0.0674	73.7140	26.2860	0.7371	0.0710
15.6	0.4203	0.2197	0.0732	96.9922	3.0078	0.9699	0.3557
7.8	0.4001	0.2450	0.0817	92.3355	7.6645	0.9234	0.0720
0	0.4333	0.2553	0.0851	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas con el paciente 20 a partir de la concentración 62.5 o superior demostraron ser las más significativas ($p < 0.05$)

Tabla 33
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 21

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.5428	0.0566	0.0200	83.2533	16.7467	0.8325	0.0052
250	0.5136	0.0365	0.0129	78.7662	21.2338	0.7877	0.0004
125	0.5484	0.0970	0.0343	84.1091	15.8909	0.8411	0.0131
62.5	0.5231	0.1684	0.0595	80.2308	19.7692	0.8023	0.0421
31.2	0.5446	0.1700	0.0601	83.5282	16.4718	0.8353	0.0630
15.6	0.5187	0.1261	0.0446	79.5541	20.4459	0.7955	0.0181
7.8	0.5484	0.0970	0.0453	84.1091	15.8909	0.8411	0.0182
0	0.6520	0.0627	0.0222	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 21 demostraron que fueron estadísticamente significativas en todas las concentraciones de 500 hasta 7.8 ($p < 0.05$) excepto en la concentración 31.2 que fue de .06

Tabla 34
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 22

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.2527	0.0575	0.0203	80.6158	19.3842	0.8062	0.0332
250	0.2524	0.0449	0.0159	80.5440	19.4560	0.8054	0.0145
125	0.3375	0.0681	0.0241	107.6859	-7.6859	1.0769	0.1753
62.5	0.3238	0.0491	0.0173	103.3065	-3.3065	1.0331	0.3036
31.2	0.2524	0.0449	0.0475	80.5440	19.4560	0.8054	0.1270
15.6	0.3150	0.0372	0.0131	100.5026	-0.5026	1.0050	0.4725
7.8	0.2527	0.0575	0.0178	80.6158	19.3842	0.8062	0.1102
0	0.3134	0.0422	0.0149	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 22 demostraron que fueron estadísticamente significativas solo en las concentraciones de 500 y 250 ($p < 0.05$)

Tabla 35
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 23

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.4085	0.0364	0.0129	99.3343	0.6657	0.9933	0.4497
250	0.3970	0.0503	0.0178	96.5376	3.4624	0.9654	0.3162
125	0.4364	0.0569	0.0201	106.1193	-6.1193	1.0612	0.1694
62.5	0.4383	0.0799	0.0283	106.5996	-6.5996	1.0660	0.2318
31.2	0.4056	0.0448	0.0158	98.6321	1.3679	0.9863	0.3859
15.6	0.3801	0.0479	0.0169	92.4429	7.5571	0.9244	0.1076
7.8	0.3964	0.0486	0.0172	96.4038	3.5962	0.9640	0.2689
0	0.4112	0.0376	0.0133	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 23 demostraron que no hubo diferencia estadísticamente significativa a ninguna concentración.

Tabla 36
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 24

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	1.3401	0.0982	0.0347	102.3514	-2.3514	1.0235	0.2848
250	1.2981	0.1529	0.0541	99.1370	0.8630	0.9914	0.4544
125	1.3019	0.0787	0.0278	99.4339	0.5661	0.9943	0.4615
62.5	1.2861	0.0974	0.0344	98.2272	1.7728	0.9823	0.3520
31.2	1.2111	0.0978	0.0346	92.4925	7.5075	0.9249	0.1341
15.6	1.3384	0.0889	0.0314	102.2206	-2.2206	1.0222	0.3238
7.8	1.2913	0.1007	0.0356	98.6243	1.3757	0.9862	0.3818
0	1.3094	0.1642	0.0581	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 24 demostraron que no hubo diferencia estadísticamente significativa a ninguna concentración.

Tabla 37
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 25

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.4718	0.0749	0.0265	88.4906	11.5094	0.8849	0.0509
250	0.5105	0.0784	0.0277	95.7493	4.2507	0.9575	0.2090
125	0.5032	0.0743	0.0263	94.3778	5.6222	0.9438	0.1276
62.5	0.4765	0.0445	0.0157	89.3745	10.6255	0.8937	0.0332
31.2	0.4715	0.0478	0.0169	88.4320	11.5680	0.8843	0.0202
15.6	0.4897	0.0696	0.0246	91.8433	8.1567	0.9184	0.0420
7.8	0.5194	0.0981	0.0347	97.4233	2.5767	0.9742	0.3442
0	0.5332	0.0411	0.0145	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 25 demostraron que fueron estadísticamente significativas en las concentraciones de 500, 62.5, 31.2 y 15.6

Tabla 38
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 26

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.6259	0.0932	0.0329	96.8716	3.1284	0.9687	0.3004
250	0.6535	0.0484	0.0171	101.1492	-1.1492	1.0115	0.3923
125	0.6710	0.0518	0.0183	103.8558	-3.8558	1.0386	0.1231
62.5	0.6922	0.0889	0.0314	107.1332	-7.1332	1.0713	0.0801
31.2	0.6608	0.1011	0.0358	102.2694	-2.2694	1.0227	0.3803
15.6	0.7117	0.0971	0.0343	110.1532	-10.1532	1.1015	0.0405
7.8	0.7146	0.0940	0.0332	110.6021	-10.6021	1.1060	0.0444
0	0.6461	0.0624	0.0221	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 26 demostraron que solo en las concentraciones 15.6,y 7.8 fueron estadísticamente significativas y de las concentraciones de 500 hasta 31.2 no fueron estadísticamente significativas

Tabla 39
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 27

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.5268	0.0919	0.0325	61.3106	38.6894	0.6131	0.0009
250	0.5891	0.1158	0.0410	68.5620	31.4380	0.6856	0.0010
125	0.6691	0.2370	0.0838	77.8822	22.1178	0.7788	0.0290
62.5	0.7439	0.1211	0.0428	86.5812	13.4188	0.8658	0.0912
31.2	0.8538	0.1676	0.0593	99.3715	0.6285	0.9937	0.4441
15.6	0.8537	0.1646	0.0582	99.3642	0.6358	0.9936	0.4687
7.8	0.9171	0.2119	0.0749	106.7436	-6.7436	1.0674	0.1232
0	0.8592	0.1682	0.0595	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 27 demostraron que fueron estadísticamente significativas solo en las concentraciones de 500, 250 y 125.

Tabla 40
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 28

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.5797	0.1032	0.0365	125.9000	-25.9000	1.2590	0.0113
250	0.5229	0.0442	0.0156	113.5744	-13.5744	1.1357	0.0057
125	0.5372	0.0836	0.0296	116.6775	-16.6775	1.1668	0.0281
62.5	0.4924	0.1040	0.0368	106.9528	-6.9528	1.0695	0.2121
31.2	0.5773	0.1222	0.0432	125.3869	-25.3869	1.2539	0.0210
15.6	0.5372	0.0836	0.0296	116.6775	-16.6775	1.1668	0.0281
7.8	0.5983	0.1185	0.0419	129.9397	-29.9397	1.2994	0.0070
0	0.4604	0.0235	0.0083	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 28 demostraron que fueron estadísticamente significativas en todas las concentraciones excepto en la concentración 62.5

Tabla 41
Efecto Antibiótico contra bacterias tomadas de muestras clínicas de pacientes
 Modelo Estadístico según concentración
 Absorbancias 540 nm, Junio de 2009

PACIENTE 29

Tratamiento Concentración mg/ml	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	% Viabilidad	% Citotoxicidad	Índice de Viabilidad	Prueba t
500	0.2907	0.0729	0.0258	183.3281	-83.3281	1.8333	0.0010
250	0.3285	0.1036	0.0366	207.1811	-107.1811	2.0718	0.0013
125	0.3227	0.0703	0.0249	203.4684	-103.4684	2.0347	0.0002
62.5	0.3537	0.1346	0.0476	223.0648	-123.0648	2.2306	0.0025
31.2	0.3238	0.0951	0.0336	204.2172	-104.2172	2.0422	0.0009
15.6	0.3573	0.0726	0.0257	225.3114	-125.3114	2.2531	0.0000
7.8	0.3114	0.0635	0.0224	196.3976	-96.3976	1.9640	0.0001
0	0.1586	0.0083	0.0029	100.0000	0.0000	1.0000	

Fuente: Pruebas de laboratorio

Las pruebas realizadas para determinar el efecto antibiótico contra las bacterias de la muestra clínica del paciente 29 demostraron en todas sus concentraciones en lo estadístico ser altamente significativas.

Conclusiones estadísticas

- Existe evidencia significativa para considerar el efecto antibiótico del extracto de hierbas suecas a condentraciones de 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 µg/ml, en pruebas realizadas con la muestra de pacientes.
- Existe evidencia significativa para considerar el efecto antibiótico para *Provotella intermediu*, y *streptococo Intermediu*, *Bacteroides Forsythy*, *Phofiromona gingivalis* del extracto de hierbas suecas a condentraciones de 7.8, 15.6, 31.2, 62.5, 125 y 500 mg/ml.
- Es posible asegurar que existe diferencia estadísticamente significativa en el efecto antiinflamatorio, evaluado con la producción de óxido nítrico sin LPS y con LPS, al evaluar las concentraciones a 31.5, 62.5, 125, 250 y 500 mg/ml del extracto de amargo sueco.

4.4 EFECTO ANTIBIÓTICO EN CONTRA DE BACTERIAS DE MUESTRAS CLÍNICAS DE PACIENTES POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR.

Prueba de χ^2

Se utilizó una prueba de chi cuadrada para verificar la presencia de relación entre la concentración y la efectividad antiséptica del experimento

Conclusión estadística

Se rechaza hipótesis nula, por lo tanto se asegura con un 95% de confiabilidad que existe relación estadísticamente significativa entre la concentración y el efecto antiséptico de la prueba

Descripción de los datos

Concentración	Sensible	Resistente
CAS	22	7
1.2	16	13
1.4	12	17
1.8	15	14
1.16	5	24
1.32	10	29
1.64	6	23

Tabla 42. Descripción de datos

Estadística de prueba calculada

Se ha obtenido un valor de 34 como resultado de la aplicación de la fórmula donde se analizaron las frecuencias observadas y las esperadas, éste valor se determina χ^2_c , Ji cuadrada calculada. (P<0.05)

Conclusión estadística

Se rechaza hipótesis nula, por lo tanto se asegura con un 95% de confiabilidad que existe relación estadísticamente significativa entre la concentración y el efecto antiséptico de la prueba.

4.5 EFECTO ANALGÉSICO IN VIVO POR EL MÉTODO DE ANALGESIA QUÍMICA.

Al medirse el efecto analgésico del compuesto Hierbas Suecas por el método de Analgesia Química según Dr. Luis San Román del Barrio y col, del Manual de Técnicas de Investigación, Págs., 99 a 100 los resultados fueron los siguientes:

- Después de la administración de los tratamientos a los 20 min. se observaron los retorcimientos y estiramientos y lo que cada ratón mostraba y fue lo siguiente:

Grupo	Tratamiento	Descripción del tratamiento	Resultados de las Observaciones
I.	Control negativo	Ratones sin tratar .25 ml. de ácido acético por vía intraperitoneal.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mostraron retorcimientos y estiramientos en 10 minutos ➤ Luego Mostraron aletargamiento ➤ Fueron muriendo una a una con una variabilidad en el tiempo, a las 12, 24, y 48 hrs.
II.	Vehículo	Se administro vía oral un volumen de .023 ml/g (peso del ratón) la solución conteniendo 40% de alcohol, y .25 ml. de ácido acético por vía intraperitoneal.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mostraron inactividad ➤ Fueron muriendo una a una con una variabilidad en el tiempo, a las 12, 24, y 48 hrs.
III.	Hierbas suecas	Se administro vía oral el compuesto un volumen de .023 ml/g (peso del ratón) y .25 ml de ácido acético por vía intraperitoneal	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Sufrieron aletargamiento pero conforme pasaba el tiempo fueron mejorando hasta que se recuperaron ➤ No murieron
IV.	Control positivo	Se administro vía oral el compuesto analgésico ácido acetil salicílico, un volumen de .023 ml/g (peso del ratón) disuelto en solución salina y .25 ml. de ácido acético por vía intraperitoneal.	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Se observó inactividad de los animales ➤ Mostraron aletargamiento ➤ Fueron muriendo una a una con una variabilidad en el tiempo, a las 12, 24, y 48 hrs.

- La efectividad analgésica del compuesto Hierbas Suecas no se pudo determinar por el método de Analgesia Química ⁽⁶³⁾ en dos repeticiones de los 12 grupos de ratones de 4.
- Murieron los ratones de los grupos control negativo, como el control positivo con ácido acetil salicílico y el grupo en el que se utilizó el vehículo que se les inoculó ac. Acético y no se les administró amargo sueco.
- Vivieron los ratones que se les inoculó ac. Acético y se les administró amargo sueco

Discusión

5

5. DISCUSIÓN

Uno de los primeros problemas que nos enfrentamos al analizar la medicina alternativa es cómo definirla, así lo demuestra la variedad de propuestas en prestigiosas publicaciones y según autores independientes la definen como las disciplinas terapéuticas y diagnósticas fuera del sistema de salud convencional (3, 5,6).

Aunque hay alguna evidencia científica con respecto a algunas terapias de la medicina complementaria y alternativa, para la mayoría de ellas hay preguntas clave que todavía están por aclararse por medio de estudios científicos bien diseñados. Hay preguntas tales como ¿si estas terapias no perjudican? y de si funcionan para enfermedades o situaciones médicas para las que se usan. ⁽³⁾.

La lista de lo que se considera medicina complementaria y alternativa cambia continuamente, ya que una vez se comprueba que una terapia determinada es eficaz e inocua, ésta debe incorporarse al tratamiento convencional de la salud, dejando de ser alternativa, al igual que cuando surgen enfoques nuevos para la atención sanitaria. ⁽³⁾

Este debate sobre la medicina alternativa se complica aún más por la diversidad de tratamientos que son categorizados como «alternativos” que incluyen prácticas que incorporan fundamentos espirituales, metafísicos o religiosos, así como tradiciones médicas no occidentales, enfoques de la curación recién desarrollados y varios otros. Los partidarios de un tipo de medicina alternativa pueden rechazar otros, por este motivo es importante que la misma evaluación científica rigurosa usada para evaluar los métodos convencionales se use para evaluar las terapias de la medicina complementaria y alternativa. ⁽⁴⁾

Sin embargo desde tiempos muy remotos siempre las plantas han sido empleadas para aliviar los males de la humanidad. En la actualidad se llevan a cabo descubrimientos científicos que confirman este enorme potencial curativo que posee el mundo vegetal y que están transformando la medicina convencional al intervenir en las respuestas biológicas, como potenciar la

respuesta inmunológica, actividad anticancerígena, antimicrobiana, reparación de heridas, y muchos efectos benéficos para los cuales se han estado utilizando las plantas en la medicina tradicional..

Por mencionar ejemplos el extracto del ajo tiene actividad directa contra microorganismos como *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *S. enterica*, entre otros microorganismos ⁽⁵⁸⁾ mientras que otros extractos pueden ser usados en conjunto con otros tratamientos para estimular el sistema inmune ⁽⁵⁹⁾ Quizás el más amplio campo de investigación de los extractos de plantas es el efecto sobre los microorganismos, ya que se conoce una gran cantidad de compuestos vegetales que tienen actividad antimicrobiana, debido a que estos los produce la planta para su defensa del ataque de patógenos como virus, bacterias, hongos y protozoarios y se puede decir que son compuestos que la planta sintetiza como parte normal de su ciclo celular o al ser atacada por patógenos ⁽⁶⁰⁾

Un número reducido de terapias de medicina complementaria y alternativa que originalmente se consideraban puramente métodos alternativos están encontrando su lugar en el tratamiento para el cáncer—no para su curación, sino como terapias complementarias que pueden ayudar a los pacientes a sentirse mejor y a recuperarse más pronto. Un ejemplo es la acupuntura. De acuerdo a un grupo de expertos participantes en una Conferencia de Consenso de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), en noviembre de 1997, se encontró que la acupuntura era efectiva para el manejo de náuseas y vómitos relacionados con la quimioterapia y para controlar el dolor relacionado con la cirugía ⁽⁶⁸⁾

Las plantas han sido empleadas para aliviar los males de la humanidad desde tiempos remotos. En la actualidad se llevan a cabo descubrimientos científicos que confirman el enorme potencial curativo que posee el mundo vegetal y que están transformando la fitoterapia en una práctica muy distinta a la de nuestros antepasados.

Los fotoquímicos pueden intervenir en las respuestas biológicas, como potenciar la respuesta inmunológica, actividad anticancerígena, antimicrobiana, reparación de heridas, y muchos efectos benéficos para los cuales se han estado utilizando las plantas en la medicina tradicional

En congruencia con ello, el presente estudio definió el efecto antibiótico de las hierbas de amargo sueco en cultivos puros como la *Provotella Intermediu*, *Bacteroides Forsythy*, *Phorfiromona gingivalis* y *Streptotocus Intermediu* al observar resultados de inhibición en cuanto a los controles.

Porqué tenemos claro que esta es la Medicina del nuevo milenio, que cuenta con una base científica muy firme gracias a los grandes avances tecnológicos y con un equipo médico que pretende rescatar los principios hipocráticos y preocuparse del enfermo y no de la enfermedad.

Trabajando entonces bajo estas consideraciones se podrán lograr curaciones a más corto plazo, con menos efectos colaterales y con un menor costo bajo todo punto de vista.

Tomando en cuenta que existe este tipo de sabiduría, este otro tipo de conocimiento por el que la población se interesa y que si ha sobrevivido hasta la actualidad se debe precisamente a los beneficios y seguridad que provee a la comunidad, por lo que es importante que se rescaten mas oportunidades para que estos compuestos en los que confía la gente, puedan ser estudiados y comprobados bajo la metodología científica y así sean incorporados a las terapias convencionales con las ventajas ya conocidas por la sociedad. Siendo éste trabajo de investigación propiamente un caso.

El presente trabajo se enfocó en probar la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y analgésica, de un extracto llamado hierbas suecas que ha sido utilizado durante siglos por la humanidad y que es un preparado a base de plantas maceradas en aguardiente y que según la única literatura existente, que se basa en un antiguo manuscrito de 46 párrafos y hasta hace 50 años apenas, el libro escrito por María Treben, donde mencionan que es un compuesto efectivo para aliviar grandes enfermedades, entre ellas las

afecciones bucales, por lo que se dirigió este estudio en comprobar algunos de estos beneficios de salud, utilizándose ratones in vivo y también para trabajo in Vitro como herramienta para la identificación de los efectos terapéuticos.

De manera significativa se confirmó el potencial del compuesto amargo sueco en cuanto al efecto antiinflamatorio y antibiótico, y no se pudo comprobar el efecto analgésico, al menos por el método químico (por lo que se recomienda el método de la placa caliente); sin embargo hubo dos resultados colaterales no esperados, el primero de ellos fue que al realizar el experimento para el efecto antiinflamatorio, en todas sus repeticiones se encontró que el extracto de hierbas suecas aumenta la viabilidad de los macrófagos en un 149 %, por lo que se puede afirmar que el compuesto refuerza el sistema inmunológico; el segundo resultado encontrado es que al realizar el experimento del efecto analgésico, los ratones objeto de este experimento murieron por efecto tóxico del ácido acético inoculado intraperitonealmente, exceptuando a los que anticipadamente se les administró oralmente el compuesto de hierbas suecas, todos vivieron probablemente por un efecto antitóxico.

Lo que conlleva a un doble efecto antiinflamatorio, antibiótico y refuerza el sistema inmune. Por lo que se comprueba de la eficacia y de la potenciación de estos beneficios inducidos por los extractos de plantas, lo que podría ser relevante en la clínica odontológica como coadyuvantes en la terapia de enfermedades como infecciones y procesos antiinflamatorios.

Conclusiones

6

6. CONCLUSIONES

1. Se confirma el efecto antiinflamatorio “in vitro” del extracto Hierbas Suecas desde una concentración de 62.5 hasta 500 µg/ml. al reducir significativamente la producción de óxido nítrico por macrófagos peritoneales de ratón, con aumento de la viabilidad hasta en un 140 % al compararse con el control.
2. Se confirma el efecto antibiótico del extracto Hierbas Suecas contra las bacterias provenientes de cultivos puros como la *provotella Intermediu* y *Streptococcus Intermediu*, al observar en ambas resultados de inhibición menores al grupo control en todas las concentraciones; de la bacteria *Bacteroides Forsythy* al observar resultados de inhibición menores del control desde las concentraciones de 31.2 hasta 500 µg/ml y de la bacteria *Phorfiromona gingivalis*, al observar resultados de inhibición menores del control en las concentraciones de 62.5, 250 y 500 µg/ml.
3. Se confirma el efecto antibiótico del extracto Hierbas Suecas contra las bacterias obtenidas de muestras clínicas tomadas a 29 pacientes al haber inhibición desde las concentraciones de 62.5 hasta 500 µg/ml por el método MTT, y en la prueba in vitro realizada por el método de difusión en las placas de Agar con un 95 % de confiabilidad.
4. No se determinó el potencial analgésico del extracto hierbas suecas para el tratamiento de algunas afecciones bucales por el método de analgesia química.

Por lo tanto:

- El extracto de la formula de hierbas suecas tiene efecto terapéutico antiinflamatorio y antibiótico para el tratamiento de algunas afecciones bucales.

Bibliografía

7

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. [R. González y col.](#), Use Of Alternative And Complimentary Medicine In The Treatment Of Oral Diseases. IADR. International Association Medical Research.
2. F. Zambrano y col. Relación Entre Las Actividades Realizadas Según El Diagnóstico Por Motivo De Consulta Y Las Actividades Programadas De Atención Odontológica Investigación En Salud Del Estado De Nuevo León SSA. 2003.
3. What is complementary and alternative medicine (CAM)? 2002 (<http://www.nccam.nih.gov/health/whatiscam/sup1>) National Center of complementary and alternative medicine
4. Adolfo Peña y col An Fac Med Lima 2007; 68(1) ISSN 1025 – 5583 pags. 87-96
5. Eisenberg DM y col, Unconventional medicine in the United States – Prevalence, costs, and patterns of use. N Engl J Med 1993;328:246-52.
6. Zollman C, Vickers A. ABC of Complementary medicine;What is the Complementary Medicine? BMJ. 1999;319:693-6
7. Xavier Losoya., Resumen Ibero América en el Desarrollo mundial de fitomedicamentos. de la Unidad de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Centro Médico Nacional “Siglo XXI” IMSS.
8. The Cochrane Collaboration (sede Web) . New Jersey: John Wiley and Sons; c2000-2007(citado el 10 de Agosto de 2002) disponible www.Cochrane.org

9. Vandenbroucke JP, de Craen AJ Alternative medicine: a Mirror image for scientific reasoning in conventional medicine. Ann Inter Med. 2001; 135:507-13.
10. PL07 Tamayo C Fitoterapia basada en evidencia
11. Treben, María Salud De La Botica Del Señor. ISBN: 3850681254 ISBN-13: La botica del Señor.
12. Treben, María Salud De La Botica Del Señor. ISBN: 3850681254 ISBN-13: La botica del Señor.
13. Revista de Fitoterapia (España) 1(2): 95-105, 2000. M.A. Morales et al., Bases farmacológicas de las aplicaciones del extracto de Vitis vinifera en diferentes patologías asociadas al estrés oxidativo.
14. OPS, Oficina Sanitaria Panamericana: Desarrollo y Fortalecimiento de los Sistemas Locales de Salud” Oficina Regional de la OMS EUA 1993.
15. Eisenberg D.M., Davis R.B., Ettner S.L., Appel S., Wilkey S., Kessler R.C: Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: Results of a follow-up national survey. JAMA, 280:1569-1575. 1998
16. The Nation's Health 34(6), 2004. © 2004 American Public Health Association
17. Donya C. Arias: Alternative medicine's popularity prompts concern: use of alternative and complementary remedies of the rise. The Nation's Health. 34(6), 2004 American Public Health Association.
18. Tanaka M, Misawa E, Ito Y, Habara N, Nomaguchi K, Yamada M, Toida T, Hayasawa H, Takase M, Inagaki M, Higuchi R (2006). «Identification of five phytosterols from Aloe vera gel as anti-diabetic compounds» Biol. Pharm. Bull.. Vol. 29. n.º 7. pp. 1418–22. [PMID 16819181](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16819181/).

19. Richardson J, Smith JE, McIntyre M, Thomas R, Pilkington K (2005). «Aloe vera for preventing radiation-induced skin reactions: a systematic literature review» Clin Oncol (R Coll Radiol). Vol. 17. n.º 6. pp. 478–84. [PMID 16149293](#).
20. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://www.primicias.com.do/articulo,14131,html>
21. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://es.wikipedia.org/wiki/Mirra>.
22. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://www.hierbitas.com/nombrecomun/MIRRA.htm>
23. [http://es.wikipedia.org/wiki/Comercio_y_uso_del_azafra%C3%A1n#Uso medicinal](http://es.wikipedia.org/wiki/Comercio_y_uso_del_azafra%C3%A1n#Uso_medicinal)
24. Abdullaev, FI (2002), [*"Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron \(Crocus sativus L.\)"*](#), Experimental Biology and Medicine, vol. 227, no. 1 [[1 de marzo](#) de [2006](#)].
25. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://www.botanical-online.com/medicinalcasia.htm>
26. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://es.wikipedia.org/wiki/Alcanfor#Usos>
27. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio http://es.wikipedia.org/wiki/Rheum_rhabarbarum.
28. Dr. Berdonces I Serra. . *Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales* págs. 980. Tikal ediciones [ISBN 84-305-8496-X](#).

29. [Curcuma zedoaria](#)». [Royal Botanic Gardens, Kew](#): *World Checklist of Selected Plant Families*. octubre de 2009.
30. Brinkhaus B, Hentschel C, Von Keudell C, et al. Herbal medicine with curcuma and fumitory in the treatment of irritable bowel syndrome: a randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Scand J Gastroenterol* 2005 Aug;40(8):936-43.
31. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti Ac. Anticancer potencial of curcumin: preclinical and clinical Studies. *Anticancer Res* 2003;23 (1^a):363-398.
32. Deodhar SD, Sethi R, Srimal RC. Preliminary study on antirheumatic activity of curcumin (diferuloyl methane). *Indian J Med Res* 1980;71:632-634.
33. Kulkarni RR, Patki PS, Jog VP, et al. Treatment of osteoarthritis with a herbomineral formulation: a double-blind, placebo-controlled, cross-over study. *J Ethnopharmacol* 1991;33(1-2):91-95.
34. Kositchaiwat C, Kositchaiwat S, Havanondha J. *Curcuma longa* Linn. in the treatment of gastric ulcer comparison to liquid antacid: a controlled clinical trial. *J Med Assoc Thai* 1993;76(11):601-605.
35. Nishiyama T, Mae T, Kishida H, et al. Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice. *J Agric Food Chem* 2-23-2005;53(4):959-963.
36. Prusty BK, Das BC. Constitutive activation of transcription factor AP-1 in cervical cancer and suppression of human papillomavirus (HPV) transcription and AP-1 activity in HeLa cells by curcumin. *Int J Cancer* 3-1-2005;113(6):951-960.

37. Rithaporn T, Monga M, Rajasekaran M. Curcumin: a potential vaginal contraceptive. *Contraception* 2003;68(3):219-223.
38. Taher MM, Lammering G, Hershey C, et al. Curcumin inhibits ultraviolet light induced human immunodeficiency virus gene expression. *Mol Cell Biochem* 2003;254(1-2):289-297.
39. Limtrakul P, Anuchapreeda S, Buddhasukh D. Modulation of human multidrug-resistance MDR-1 gene by natural curcuminoids. *BMC Cancer* 4-17-2004;4(1):13.
40. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio www.theriaca.es
41. Anastasio Chinchilla: [*Anales históricos de la medicina en general*](#)
42. Esteban de Sagrera [*Historia de la farmacia* ISBN 84-458-1424-9](#)
43. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://es.wikipedia.org/wiki/Triaca>
44. Content source : Enciclopedia Wikipedia. Disponible en el sitio <http://es.wikipedia.org/wiki/Carlina>.
45. Drs Guillermo Buggedo, Samuel Torregrosa.
Departamento de Anestesiología y Programa de Medicina Intensiva
46. Guyton AC, 1992. Tratado de Fisiología Médica 8ª Edición 1992 Mc Graw. Hill Interamericana pp 531-555
47. Content source: Inmunologiaonline, J. Peña Martínez, A Celada Universidad de Córdoba España , 2003, sitio Disponible: <http://www.uco.es/grupos/inmuloqia-molucular/inmunologia>.

48. Goldsby RA, Kindt TJ. Osborne BA y Kuby J 2004. Inmunología 5ª Edición
Mc Graw. Hill Interamericana
49. Gray, 1967 DF, Inmunología, Editorial Acribia Zaragoza España
pp70_75
50. José Liébano Ureña Microbiología Oral 2ª Edición Nolte
51. Macouzet Olivar 2ª Edición de Anestesiología Local en Odontología
52. Ferrante FM. Patient-controlled analgesia. Anesthesiology Clin North Am
1992;10: 287-298
53. Gilmore, William. Odontología Operatoria, Editorial Interamericana.
México. 1996
54. J. L. Giunta. Patología Bucal Editorial Interamericana-McGraw-Hill.
México. 1976.
55. Sydney B. Finn Odontología Pediátrica. Editorial Panamericana
56. Michel G. Newman, Henry H, Takei. Fermín A. Carranza
Periodontología Clínica 9ª Edición, editorial Mc Graw Hill.
57. Araujo Contreras Tiburcio CP., La Aplicación de la epidemiología en las
universidades “práctica Odontológica”, volumen 5 num 9; México 1984.
58. Gómez Flores R., Calderón CL , Tamez- Guerra P., Rodríguez Padilla C,
Tamez Guerra Activación de Weber 2001 Activación de Macrófagos y
Linfocitos Ciencia UANL 4 (3) 304 – 313
59. Domingo D y López Brea M, 2003. Plantas con acción microbiana. Rev
Esp Quimioterapia.

60. Kaufman PB, Cseke LJ, Waber S Duke JA, Brielmann HL. 1999. Natural products plants CRC Press, USA pp 88, 125, 153, 158.
61. Murphy CM 1999 Plant products and antimicrobial agents. Clinical Microb Rev. 12(\$): 564-582
62. Content source (<http://www.saludparati.com/plantasmedi1.htm>).
63. Donya C. Arias: Alternative medicine's popularity prompts concern: use of alternative and complementary remedies of the rise. The Nation's Health. 34(6), 2004 American Public Health Association.
64. Dr. Luis San Román del Barrio y col, del Manual de Técnicas de Investigación, Págs., 99 a 100

Anexos

8

ANEXO I. Informes del Comité de Ética



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN □ ODONTOLOGÍA

COMITÉ DE BIOÉTICA

Comisión de Revisión Bioética

Para: Dra. en C. Myriam A. De La Garza-Ramos
Fecha de recepción: Abril 2007
Titulo: "Determinación de los Efectos Terapéuticos (Antisépticos, Antiinflamatorios y Analgésicos) del Compuesto "Hierbas Suecas" para el Tratamiento de Algunas Afecciones Bucales"
Para: C.D. Rosalva González Meléndez

El presente es referencia para el protocolo de investigación mencionado en la parte superior.

En la deliberación de este comité, los procedimientos en dicha aplicación conformada por las reglas y el reglamento de el DHHS y de la FDA en relación con los temas de uso humano. La aprobación se otorga durante un año. La siguiente revisión será en Abril de 2008.

Como condición para aprobar la investigación, el Responsable de la Investigación debe de haber leído, establecido, y firmado el escrito adjunto de nuestro Documento Federal de Seguridad

Además el Responsable de la Investigación acuerda lo siguiente:

- 1.- A dar información mediante un reporte de revisión periódica, necesaria para la revisión de este protocolo por parte del comité, en intervalos apropiados para evitar el riesgo y asegurar que el protocolo esta siendo guiado con las recomendaciones y la supervisión del comité, pero dichos intervalos no deben de tener mas de un año desde su inicio.
- 2.- Proveer al comité la forma del reporte periódico de revisión, así como el reporte final cuando concluya su proyecto.
- 3.- El uso como documento de consentimiento informado para este estudio, el reporte final aprobado por el comité IRB impreso definiendo su periodo de aprobación
- 4.- Reportar cualquier evento adverso relacionado con el estudio, y que pudiera afectar la salud mental y física del paciente.
- 5.- Este estudio esta sujeto a registro durante este periodo de tiempo.

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175

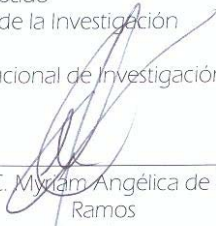


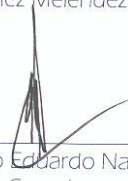
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN □ ODONTOLÓGÍA

Los registros relacionados con las acciones del comité referentes a este protocolo están en el archivo en la oficina de División de Estudios Superiores y de Investigación de esta Facultad.

Fecha de aprobación Abril del 2007
Periodo aprobado Abril del 2007 a Abril del 2008
Responsable de la Investigación C.D. Rosalva González Meléndez
Coautor
Comité Institucional de Investigación


Dra. en C. Myriam Angélica de la Garza
Ramos
Presidente


MEO Sergio Eduardo Nakagoshi
Cepeda


M en F Martha Elena García Martínez


M en O. Hilda Torre Martínez

La siguiente información describe las responsabilidades tomadas del Documento de archivo de Múltiple Seguridad, de La Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología, junto con la Ley federal de Salud en Materia de Investigación para la Salud (SS,1987) ANEXO I

La aprobación del protocolo esta sujeta a estas reglas.

- a) Los investigadores declaran y aceptan su responsabilidad para la protección de los derechos y el bienestar del humano así como garantizar su integridad
- b) Los investigadores que intenten involucrar investigaciones con humanos no estarán exentos de la aplicación de nuestras leyes federales y universitarias.
- c) Los investigadores son responsables de otorgar una copia de la aprobación del IRB firmada, y el documento de consentimiento de cada periodo de tiempo, a menos que el IRB elimine este requerimiento. Todos los documentos de consentimiento firmados serán guardados en la oficina administrativa de investigación.
- d) Los investigadores reportaran con rapidez los cambios propuestos en las actividades de investigación relacionados con humanos al IRB. Los cambios

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175



propuestos no deberán de iniciar sin la supervisión y la aprobación del IRB, excepto cuando sea necesario eliminar un inminente daño.

- e) Los investigadores son responsables para reportar el progreso de la investigación a la oficina de administrativa de investigación, tan a menudo como se describe en las bases de riesgos del IRB, pero no menos de una vez al año.
- f) Los investigadores deberán reportar inmediatamente los daños y/o problemas que sean riesgo para los sujetos y para otros miembros de la comunidad
- g) Ni el investigador, ni asociados interinstitucionales, no institucionales en acuerdos de investigación podrán buscar para su beneficio, obtención de créditos, la utilización de la información de las intervenciones con el paciente que constituyan una violación a las garantías de su atención médica, sin la aprobación del IRB. Un medico deberá proveer seguridad ética/médica al paciente con la revisión y aprobación del IRB, exigido por la ley.
- h) Los investigadores deberán notificar al IRB, a la oficina de Investigación Administrativa y a las instituciones oficiales el intento para la admisión de Material humano que vayan a ser utilizados en los protocolos de investigación.

Capítulo 1, Capítulo 13. Prevalecerá el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, por lo cual se solicitará a los pacientes su aprobación voluntaria.

Artículo 14. Fracción V. Se contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación, en este caso se solicitará el consentimiento informado del paciente previo a la aplicación de los instrumentos.

Fracción VI. Todos los estudios serán realizados por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano, bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud.

Fracción VII y VIII. Se contará con el dictamen favorable de la Comisión de Investigación y Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León; la colecta de los datos se realizará solo cuando se cuente con dicha autorización.

Artículo 16. Se protegerá la privacidad del sujeto investigado, ya que no se solicitará identificación.

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175



UANL

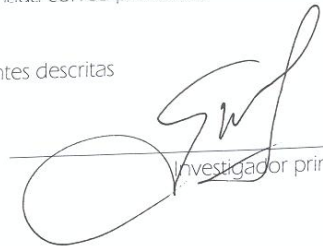
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN □ ODONTOLOGÍA

Artículo 17. Fracción I Esta investigación (es) debe de considerarse como riesgo mínimo:

Artículo 18 y 21 .Para considerar existente el consentimiento informado del sujeto de investigación recibirá una explicación clara y completa de lo siguiente:

- 1) Justificación de los objetivos de investigación
- 2) Los procedimientos que vayan a usarse y su propósito, incluyendo la identificación de los procedimientos que son experimentales
- 3) Las molestias o riesgos esperados
- 4) Los beneficios que pueda obtener
- 5) Los procedimientos alternativos que pudieran ser verificados por el sujeto.
- 6) La garantía de recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación en el tratamiento del sujeto.
- 7) La libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello creen prejuicios para continuar su cuidado y tratamiento
- 8) La seguridad de que no se identificara al sujeto y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad

He leído y comprendido mis responsabilidades antes descritas


Investigador principal

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175



COMITÉ DE BIOÉTICA

Comisión de Revisión Bioética

Para: Dra. en C. Myriam A. De La Garza-Ramos
Fecha de recepción: Abril 2008
Título: "Determinación de los Efectos Terapéuticos (Antisépticos, Antiinflamatorios y Analgésicos) del Compuesto "Hierbas Suecas" para el Tratamiento de Algunas Afecciones Bucales"
Para: C.D. Rosalva González Meléndez

El presente es referencia para el protocolo de investigación mencionado en la parte superior.

En la deliberación de este comité, los procedimientos en dicha aplicación conformada por las reglas y el reglamento de el DHHS y de la FDA en relación con los temas de uso humano. La aprobación se otorga durante un año. La siguiente revisión será en Abril de 2009.

Como condición para aprobar la investigación, el Responsable de la Investigación debe de haber leído, establecido, y firmado el escrito adjunto de nuestro Documento Federal de Seguridad

Además el Responsable de la Investigación acuerda lo siguiente:

- 1.- A dar información mediante un reporte de revisión periódica, necesaria para la revisión de este protocolo por parte del comité, en intervalos apropiados para evitar el riesgo y asegurar que el protocolo esta siendo guiado con las recomendaciones y la supervisión del comité, pero dichos intervalos no deben de tener mas de un año desde su inicio.
- 2.- Proveer al comité la forma del reporte periódico de revisión, así como el reporte final cuando concluya su proyecto.
- 3.- El uso como documento de consentimiento informado para este estudio, el reporte final aprobado por el comité IRB impreso definiendo su periodo de aprobación
- 4.- Reportar cualquier evento adverso relacionado con el estudio, y que pudiera afectar la salud mental y física del paciente.
- 5.- Este estudio esta sujeto a registro durante este periodo de tiempo.

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175

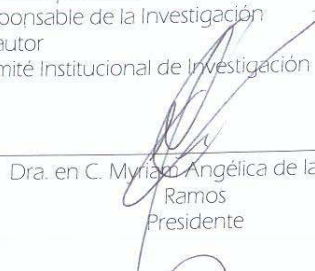


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN □ ODONTOLOGÍA

Los registros relacionados con las acciones del comité referentes a este protocolo están en el archivo en la oficina de División de Estudios Superiores y de Investigación de esta Facultad.

Fecha de aprobación Abril del 2008
Periodo aprobado Abril del 2008 a Abril del 2009
Responsable de la Investigación C.D. Rosalva González Meléndez
Coautor
Comité Institucional de Investigación


Dra. en C. Myriam Angélica de la Garza
Ramos
Presidente


Esp. Gloria Martínez de Zambrano


Dra. Paula Palomares Gorham


Esp. Carlos Macouzet Olivar

La siguiente información describe las responsabilidades tomadas del Documento de archivo de Múltiple Seguridad, de La Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología, junto con la Ley federal de Salud en Materia de Investigación para la Salud (SS, 1987) ANEXO I

La aprobación del protocolo esta sujeta a estas reglas.

- i) Los investigadores declaran y aceptan su responsabilidad para la protección de los derechos y el bienestar del humano así como garantizar su integridad
- jj) Los investigadores que intenten involucrar investigaciones con humanos no estarán exentos de la aplicación de nuestras leyes federales y universitarias.
- k) Los investigadores son responsables de otorgar una copia de la aprobación del IRB firmada, y el documento de consentimiento de cada período de tiempo, a menos que el IRB elimine este requerimiento. Todos los documentos de consentimiento firmados serán guardados en la oficina administrativa de investigación.
- ll) Los investigadores reportaran con rapidez los cambios propuestos en las actividades de investigación relacionados con humanos al IRB. Los cambios

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175



propuestos no deberán de iniciar sin la supervisión y la aprobación del IRB, excepto cuando sea necesario eliminar un inminente daño.

- m) Los investigadores son responsables para reportar el progreso de la investigación a la oficina de administrativa de investigación, tan a menudo como se describe en las bases de riesgos del IRB, pero no menos de una vez al año.
- n) Los investigadores deberán reportar inmediatamente los daños y/o problemas que sean riesgo para los sujetos y para otros miembros de la comunidad
- o) Ni el investigador, ni asociados interinstitucionales, ni institucionales en acuerdos de investigación podrán buscar para su beneficio, obtención de créditos, la utilización de la información de las intervenciones con el paciente que constituyan una violación a las garantías de su atención medica, sin la aprobación del IRB. Un medico deberá proveer seguridad ética/medica al paciente con la revisión y aprobación del IRB, exigido por la ley.
- p) Los investigadores deberán notificar al IRB, a la oficina de Investigación Administrativa y a las instituciones oficiales el intento para la admisión de Material humano que vayan a ser utilizados en los protocolos de investigación.

Capitulo 1, Capitulo 13. Prevalecerá el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, por lo cual se solicitara a los pacientes su aprobación voluntaria.

Artículo 14. Fracción V. Se contara con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación, en este caso se solicitara el consentimiento informado del paciente previo a la aplicación de los instrumentos.

Fracción VI. Todos los estudios serán realizados por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano, bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud.

Fracción VII y VIII. Se contara con el dictamen favorable de la Comisión de Investigación y Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León; la colecta de los datos se realizara solo cuando se cuente con dicha autorización.

Artículo 16. Se protegerá la privacidad del sujeto investigado, ya que no se solicitara identificación.

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN □ ODONTOLOGÍA

Artículo 17. Fracción I Esta investigación (es) debe de considerarse como riesgo mínimo.

Artículo 18 y 21 .Para considerar existente el consentimiento informado del sujeto de investigación recibirá una explicación clara y completa de lo siguiente:

- 9) Justificación de los objetivos de investigación
- 10) Los procedimientos que vayan a usarse y su propósito, incluyendo la identificación de los procedimientos que son experimentales
- 11) Las molestias o riesgos esperados
- 12) Los beneficios que pueda obtener
- 13) Los procedimientos alternativos que pudieran ser verificados por el sujeto.
- 14) La garantía de recibir respuesta a cualquier pregunta y aclaración de los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación en el tratamiento del sujeto.
- 15) La libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello creen prejuicios para continuar su cuidado y tratamiento
- 16) La seguridad de que no se identificara al sujeto y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad

He leído y comprendido mis responsabilidades antes descritas



Investigador principal

Dr. E. Aguirre Pequeño y Silao
Col. Mitras Centro
Monterrey, Nuevo León, México.
Tels. (81) 83480173 - 83475175