



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA
EFEECTO ANTIBACTERIANO, *IN VITRO*, DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO FRENTE A
***STREPTOCOCCUS MUTANS* 25175, TRUJILLO-2021**
TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA

AUTOR

REYES RENGIFO, MARITZA VIOLETA
ORCID: 0000-0001-5756-7786

ASESOR

HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA
ORCID: 0000-0003-0723-3491

TRUJILLO – PERÚ

2023

1. TÍTULO DE LA TESIS

**EFECTO ANTIBACTERIANO, *IN VITRO*, DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL PROPÓLEO FRENTE A *STREPTOCOCCUS*
MUTANS ATCC 25175, TRUJILLO – 2021**

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Reyes Rengifo, Maritza Violeta

ORCID: 0000-0001-5756-7786

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita

ORCID: 0000-0003-0723-3491

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
la Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

De La Cruz Bravo, Juver Jesús

ORCID:0000-0002-9237-918X

Chafloque Coronel, César Augusto

ORCID:0000-0001-5996-1621

Loyola Echeverría, Marco Antonio

ORCID:0000-0002-5873-132X

3.FIRMA DE JURADO Y ASESOR

Mgtr.De La Cruz Bravo, Juver Jesús

Presidente

Mgtr.Chafloque Coronel, César Augusto

Miembro

Mgtr.Loyola Echeverría, Marco Antonio

Miembro

Mgtr.Honores Solano, Tammy Margarita

Asesor

4. Agradecimiento y dedicatoria

Agradezco a Dios por la bendición de la vida y por ser el forjador de mi camino, a mi padre celestial, el que me acompaña y siempre me levanta de mi continuo tropiezo.

A mis padres Antonia y Alcides, que son el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes están siempre a mi lado en mis días y noches más difíciles durante mis horas de estudio.

A mi querida hija Brisa, que con su afecto y cariño me incentivó a esforzarme, para ir en busca de mis sueños y buscar lo mejor para ella.

A mis hermanos Roxana, Cindy, Rodolfo por ser parte importante en mi vida y en mi formación profesional

A mi querido novio Royer, por su apoyo constante en mi formación profesional, gracias por estar siempre allí.

A mis amigos Enrique, Daniel, Sheyla agradecerles por su apoyo y constancia, al estar en los momentos más difíciles a mi lado.

A mis docentes gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación, perseverancia y tolerancia.

Dedicatoria

Agradecer a Dios por haberme dado la vida y permitirme haber
llegado hasta este momento tan importante de mi formación
profesional.

A mis padres: Antonia y Alcides por ser el pilar más importante en
mi vida, gracias por el apoyo incondicional, por siempre
impulsarme a ser mejor y lograr mis objetivos

A mi hija Brisa por ser mi motor y motivo en este trayecto de mi
vida y mi formación profesional.

A mis hermanos Roxana, Cindy, Rodolfo, que junto a mis padres
han sido mi apoyo y fuente de inspiración para lograr mis metas
trazadas.

A mi novio Royer, por darme fortaleza, por creer en mí y decirme a
diario que sí podía lograrlo. Este logro también es tuyo.

A mis amigos Enrique, Daniel, Sheyla por su apoyo y cariño en
este trayecto de mi vida y formación profesional.

5. RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** El tipo de investigación fue experimental, cuantitativa, prospectiva, transversal, analítica: de nivel explicativo y diseño experimental: experimento puro ; la población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans*, con una muestra de 16 placas Petri con agar sangre, donde se cultivó la cepa bacteriana colocándose discos de papel Whatman N°1 embebidos con extracto etanólico de propóleo al 25%,50%,75%,100%, así como gluconato de clorhexidina 0.12% como control positivo. Método de Kirby-Bauer. Para la lectura de los halos de inhibición se utilizó una regla milimetrada. **Resultados:** Se observó el promedio de halos de inhibición para las distintas concentraciones, indicando que el extracto del propóleo al 25% presentó un halo de inhibición nula; el extracto al 50% presentó un halo promedio de 8,63mm; el extracto al 75% un halo promedio de 9,56 mm, el extracto al 100% presentó un halo promedio de 13,75mm; el grupo control con clorhexidina exhibió un halo de 15,31mm. Asimismo, al comparar los promedios de los halos de inhibición se encontró que existe una diferencia significativa entre las concentraciones al 25, 50, 75 y 100%. **Conclusión:** El extracto etanólico del propóleo al 100% mostró efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*, siendo sensible| según la escala de Duraffourd.

Palabras clave: Antibacteriano, Propóleo, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial effect, in vitro, of the ethanolic extract of propolis against *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Methodology:** The type of research was experimental, quantitative, prospective, cross-sectional, analytical: explanatory level and experimental design: pure experiment; The population consisted of strains of *Streptococcus mutans*, with a sample of 16 Petri dishes with blood agar, where the bacterial strain was cultivated by placing Whatman No. 1 paper discs soaked with 25%, 50%, 75% ethanolic extract, 100%, as well as 0.12% chlorhexidine gluconate as a positive control. Kirby-Bauer method. A millimeter ruler was used to read the inhibition halos. **Results:** The average inhibition halos were observed for the different concentrations, indicating that the 25% propolis extract presented a null inhibition halo; the 50% extract presented an average halo of 8.63mm; the 75% extract had an average halo of 9.56 mm, the 100% extract presented an average halo of 13.75 mm; the control group with chlorhexidine exhibited a halo of 15.31mm. Likewise, when comparing the averages of the inhibition halos, it was found that there is a significant difference between the concentrations at 25, 50, 75 and 100%. **Conclusion:** The 100% ethanolic extract of propolis showed an antibacterial effect against *Streptococcus mutans*, being sensitive according to the Duraffourd scale.

Keywords: Antibacterial, Propolis, *Streptococcus mutans*

6. CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de Trabajo.....	iii
3. Agradecimiento y dedicatoria	iv
4. Resumen y abstract.....	v
5. Contenido.....	vii
6. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	2
2.1 Antecedentes.....	3
2.2 Bases teóricas.....	25
2.2.1 Caries Dental.....	26
2.2.2 Propóleo.....	28
III. Hipótesis.....	31
IV. Metodología.....	31
4.1 Diseño de la investigación.....	32
4.2 Población y muestra.....	34
4.3 Definición y operacionalización de las variables.....	35
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	35
4.5 Plan de análisis.....	36
4.6 Matriz de consistencia.....	38
4.7 Principios éticos.....	39
V. Resultados.....	40
5.1 Resultados.....	41
5.2 Análisis de los resultados.....	43
VI. Conclusiones.....	45
Aspectos complementarios	46
Referencias bibliográficas	47
ANEXOS.....	48

6. Índice de gráficos y tablas

Índice de tablas

Tabla 1.- Evaluación del efecto antibacteriano, <i>in vitro</i> , del extracto etanólico del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo -2021.....	41
Tabla 2.- Prueba Post hoc Duncan. comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del extracto etanólico del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo - 2021	42
Tabla 3.- Concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo -2021.....	43
Tabla 3.- Concentración mínima bactericida del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo -2021.....	44

Indice de gráficos

Gráfico 1.- Evaluación del efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo 202141

Gráfico 2.- Concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.....43

Gráfico 3.- Concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.....44

.

I. Introducción

La caries dental es una de las enfermedades infecciosas orales más frecuentes, caracterizada por la destrucción de los tejidos duros del diente debido a la presencia de ácidos producidos por bacterias de la placa bacteriana, depositados en las superficies dentales. La aparición de caries está influenciada con la dieta, el consumo de bebidas azucaradas y hábitos de higiene oral del huésped. La biopelícula dental dominada por microorganismos constituye un factor de virulencia para la caries dental. Si no es tratada la caries dental puede provocar pulpitis, gingivitis e incluso la pérdida de dientes.^{1,2}

El género *Streptococcus* representa una gran proporción de todos los microorganismos supragingivales presentes en las biopelículas orales, el *Streptococcus mutans* es uno de los patógenos que desempeña un papel clave en la etiología de la caries dental humana y las infecciones periimplantarias. El *Streptococcus mutans* habita en la biopelícula de la placa puede fermentar rápidamente varios carbohidratos, producir grandes cantidades de ácido, disminuir el pH local y causar fracturas locales del tejido duro y caries patológicas. Son microorganismos cocos Gram+ acondicionados en redes diminutas de 4 a 6 cocos, los cuales miden de 0.5 a 0.8µm de diámetro.^{1,2}

La Apiterapia es la materia que estudia el cuidado de la salud, tratamiento y alivio de las enfermedades mediante la adquisición y empleo de productos derivados de la colmena de las abejas con fines terapéuticos y preventivos.²

El propóleo es un elemento complejo de procedencia vegetal que producen las abejas a partir del acopio de resinas elaboradas en algunos árboles, por ende, la constitución del propóleo cambia de acuerdo a la región, época de cosecha, entorno ecológico y las especies vegetales de las cuales se extraen las resinas. Las abejas revisten las paredes internas de sus colmenas con una fina capa de propóleo con el objetivo de reparar o

proteger la colmena de invasores; dado que el propóleo es una sustancia embalsamadora, responsable de la baja incidencia de bacterias dentro de la colmena. La acción bactericida que se le asigna al propóleo es debido a la abundancia y al tipo de compuestos fenólicos que lo conforman, los cuales están representados por las agliconas de flavonoides, ácidos fenólicos o sus ésteres, ya que muchos flavonoides son conocidos por conferir resistencia frente al ataque de microorganismos. Los flavonoides han demostrado tener las mayores propiedades antimicrobianas contra *Streptococcus mutans*, debido a su disposición de inhibir las glucosiltransferasas, asimismo, evita la síntesis de glucanos y pueden influir en la composición química y microbiana de la placa dental.^{3,4}

Para prevenir la caries dental hay diferentes estrategias, como una correcta higiene oral, el uso de productos que contienen xilitol y un adecuado porcentaje de flúor, así como también el consumo de sal fluorada y reducir el consumo de carbohidratos, para ello se está proponiendo la búsqueda de agentes naturales con el objetivo de comprobar su efectividad frente a *Streptococcus mutans* y otras bacterias precursoras de la caries dental. El Perú es un país con una gran diversidad de recursos naturales dentro de los cuales podemos resaltar el propóleo que es una resina elaborada por las abejas la cual es obtenida de los brotes de las flores, plantas, arbustos y que es empleada para la protección de las colmenas.⁷

A nivel mundial, Dziedzic A, et al¹⁰ efectuaron un estudio titulado efecto antibacteriano del propóleo polaco frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, concluyendo que existe una influencia inhibidora positiva del extracto etanólico de propóleo polaco frente al crecimiento de microorganismos orales; mientras que en un estudio realizado por Ghada A et al¹¹ encontró que los valores de CMI del propóleo de Nueva Zelanda fueron

inferiores a los valores de CMI del propóleo Egipcio, lo que demuestra que el propóleo de Nueva Zelanda posee un mayor efecto antimicrobiano.

Un estudio realizado en Perú por Checalla J, Sánchez M.¹³ (Tacna, 2021) evidenció que el EEP mostró efecto antibacteriano frente a *S. mutans*; sin embargo, fue inferior al compararlo con clorhexidina al 0,12 %.

De acuerdo a lo descrito, se planteó el siguiente problema ¿Cuál es el efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto, etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo - 2021?; cuyo objetivo general es : Evaluar el efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2021; y sus objetivos específicos: Determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2021.

El presente trabajo tiene importancia teórica porque permitió determinar el efecto antimicrobiano del propóleo sobre cepas de *Streptococcus mutans* y del mismo modo, sirve como fuente de información para futuras investigaciones, en el aspecto social beneficia a los pacientes, ya que este tipo de estudios contribuyen a la utilización de productos naturales como agentes prometedores para el control de la placa dental y la caries, incluido el efecto cariostático.

La metodología fue experimental, cuantitativa, prospectiva, transversal, analítica; de nivel explicativo; la población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans*, con una muestra de 16 placas Petri con agar sangre, donde se cultivó la cepa bacteriana situando discos de papel Whatman N°1 impregnados con extracto etanólico de propóleo al 25%,50%,75%,100 %,así como gluconato de clorhexidina 0.12% como control

positivo. Se utilizó el método de Kirby-Bauer. Midiendo los halos de inhibición con una regla milimetrada. Al comparar los promedios de los halos de inhibición se encontró que existe una diferencia significativa entre las concentraciones al 25% y 100%. Concluyendo que el extracto etanólico del propóleo al 100% mostró efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*, siendo sensible según la escala de Duraffourd.

El presente trabajo consta de los siguientes capítulos: Introducción, revisión de la literatura , planteamiento de una hipótesis, metodología se hace una revisión de tipo, nivel, diseño, población y muestra, los resultados se presentan en resultados de la investigación, análisis de los resultados y culminando con las conclusiones y recomendaciones.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Internacionales

Yuan J, Wenqin Y, Yuyang G, Qian W, Wang F, Hongzhuan X.⁷ (China, 2022). Realizaron un estudio titulado “Actividades del aceite esencial de propóleo del álamo chino contra *Streptococcus mutans*.” **Objetivo:** Determinar las propiedades antibacterianas del aceite esencial de propóleo chino contra *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Experimental, prospectivo, analítico y transversal. **Resultados:** Indicaron que PEO inhibía significativamente a *S. mutans*. El valor de PEO (24,5mm) fue mayor que el de gentamicina (22,5 mm), ampicilina (11,0mm) y vancomicina (8,5mm). Los valores de CMI y CMB de PEO contra *S. mutans* fueron 0,625 y 1,8 µL/mL, respectivamente. **Conclusión:** El aceite esencial de propóleo (PEO) tiene una excelente actividad antibacteriana contra *S. mutans*, el cual inhibe la viabilidad celular dentro de la biopelícula, al disminuir el total de biomasa de la biopelícula y al destruir la estructura de la biopelícula. También notamos que la PEO reduce la adherencia bacteriana, reduciendo la producción de polisacáridos extracelulares al inhibir la actividad de los GTF. Además, la PEO no tuvo citotoxicidad en las células orales normales.

Hegde K, Bhat S, Rao A, Sain, S.⁸ (India, 2018) Desarrollaron un estudio titulado “Efecto del propóleo en los recuentos de *Streptococcus mutans*”. **Objetivo:** Evaluar la acción antibacteriana del propóleo sobre la concentración de *Streptococcus mutans* colonizadores de la cavidad bucal de los niños. **Metodología:** Experimental, prospectivo, transversal y analítico. Se recolectó saliva de treinta niños en dos momentos: antes de usar el producto, 1 hora después del enjuague: realizaron los enjuagues, sin otras modificaciones en sus hábitos de higiene bucal y dietéticos. **Resultados:** Hubo una reducción en el recuento de *Streptococcus mutans* en comparación con las muestras obtenidas al inicio. Se observaron reducciones significativas al final de 1 hora. El resultado fue estadísticamente significativo. No hubo efectos secundarios en los tejidos blandos y duros de la boca. **Conclusión:** El propóleo posee actividad antimicrobiana in vivo contra *Streptococcus mutans* presente en la cavidad oral y podría ser utilizado como medida para prevenir la caries dental.

Airen B, Sarkar P, Tomar U, Bishen K.⁹ (India, 2018) Realizaron un estudio titulado “Efecto antibacteriano del propóleo derivado de la región tribal sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*”. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de propóleos (EEP) y el extracto acuoso de propóleos contra dos patógenos orales cariogénicos: *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. **Metodología:** Experimental, prospectivo, analítico y transversal. El propóleo se obtuvo de colmenas en la región de Jhabua de la India. Los extractos etanólicos y acuosos se prepararon a concentraciones de 5% y 20% peso/volumen (p/v). Para apoyar los resultados, se utilizó un control positivo (clorhexidina 0,2%) y un control negativo (agua

destilada) **Resultados:** Mostraron que las concentraciones al 5% y 20%, fueron eficaces *contra S. mutans y L. acidophilus*. La mayor actividad antibacteriana fue con clorhexidina (0,2%) con zonas medias de inhibición de 13,9mm y 15,1mm frente a *S. mutans y L. acidophilus*. **Conclusión:** El propóleo extraído de las regiones tribales de Jhabua posee eficacia antibacteriana *contra S. mutans y L. acidophilus*.

Dziedzic A, Kubina R, Wojtyczka R, Kabała A, Tanasiewicz M, Morawiec T.¹⁰ (Polonia, 2013). Realizaron un estudio titulado “Efecto antibacteriano de propóleo Polaco frente a *Streptococcus mutans y Lactobacillus*”. **Objetivo:** Determinar las propiedades antibacterianas del extracto etanólico de propóleo, recolectado en Polonia, *contra las principales bacterias cariogénicas: Streptococcus mutans y Lactobacillus*. **Metodología:** Experimental, prospectivo, analítico y transversal . Para el aislamiento de las bacterias *Streptococcus mutans y Lactobacillus* se realizó mediante deslizamiento de inmersión de bacterias CRT. Se utilizó el método de difusión de caldo y ensayo Alamar Blue para evaluar la actividad antimicrobiana de EEP, con la estimación de su concentración inhibitoria mínima y concentración bactericida mínima. **Resultados:** Se encontró que los valores medios de CMI y CMB de EEP, en concentraciones que varían de 25 mg / ml a 0.025 mg / mL, para SM y LB fueron 1.10 mg / mL versus 0.7 mg / mL y 9.01 mg / ml versus 5.91 mg / mL, respectivamente. **Conclusión:** Existe una influencia inhibidora positiva del extracto etanólico de propóleo polaco con respecto al crecimiento de microorganismos orales. El efecto antibacteriano del propóleo parece ser una representación de la actividad sinérgica de los polifenólicos y otros ingredientes

orgánicos. Las medidas locales, por ejemplo, pastillas y enjuagues bucales que contengan propóleos, serían agentes prometedores para el control de la placa dental y la caries, incluido el efecto cariostático.

Ghada A, Imana I.¹¹(Egipto, 2012) Realizaron un estudio titulado “Comparación del efecto antimicrobiano del propóleo Egipcio frente al propóleo de Nueva Zelanda sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en saliva” **Objetivo:**

Evaluar el efecto antimicrobiano del propóleo Egipcio frente al propóleo de Nueva Zelanda sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en saliva.

Metodología: Experimental, longitudinal, prospectivo y comparativo. Las cepas utilizadas para el experimento se aislaron de 12 pacientes que tenían un alto índice de caries. Las propiedades antimicrobianas de los dos tipos de propóleos y sus fracciones en *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* se examinaron por separado determinando la concentración inhibitoria mínima (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Se obtuvieron doce aislados clínicos de la saliva recolectada de todos los pacientes, uno (*Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*) de cada paciente, para las pruebas de susceptibilidad.

Resultados: Los valores de CMI del propóleo de Nueva Zelanda fueron más bajos que los valores de CMI del propóleo Egipcio, lo que indica que el propóleo de Nueva Zelanda y las fracciones de hexano (H-fr) en general tenían efectos antimicrobianos más fuertes. Además, su acción antimicrobiana fue mayor sobre *S. mutans* que sobre *Lactobacillus*. **Conclusión:** La fracción de hexano de propóleo comercial de Nueva Zelanda tuvo la acción antimicrobiana más fuerte. La EEP tuvo un efecto antimicrobiano más potente sobre *S. mutans* que sobre *Lactobacillus*.

Leitão D, Filho A, Polizello A, Bastos J, Spadaro A.¹²(Brasil, 2004) Realizaron un estudio titulado “Evaluación comparativa de los efectos *in vitro* de los extractos de propóleo verde brasileño y *Baccharis dracunculifolia* sobre los factores cariogénicos de *Streptococcus mutans*”. **Objetivo:** Evaluar los efectos *in vitro* de los extractos de propóleo verde brasileño y *Baccharis dracunculifolia* sobre los factores cariogénicos de *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Experimental, longitudinal, prospectivo y comparativo. Los efectos inhibidores de los extractos sobre la producción de ácido bacteriano se evaluaron mediante la medición potenciométrica del pH de suspensiones bacterianas tratadas con concentraciones seriadas de ambos extractos. **Resultados:** Ambos extractos produjeron un efecto bacteriostático sobre cultivos de *S. mutans* a una concentración de 0,40 mg / ml. Valores inhibidores estimados de extractos de enjuague foliar de propóleo verde y Bd sobre la síntesis de glucanos insolubles (IC 50= 12,9 y 25,0 µg / ml, respectivamente) y los glucanos solubles (IC 50 = 50,4 y 49,1 µg / ml, respectivamente) no fueron significativamente diferentes entre sí en $p < 0,05$. **Conclusión:** El enjuague de hojas de Bd y los extractos de propóleo verde tienen efectos inhibidores similares sobre los factores cariogénicos de *S. mutans* lo que permite sugerir que las hojas de Bd pueden ser una fuente potencial de productos farmacéuticos empleados para este propósito.

Nacionales

Checalla J, Sánchez M.¹³(Tacna, 2021) Realizaron un estudio titulado “Caracterización Química y Actividad Antibacteriana *in vitro* de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*”. **Objetivo:** Caracterizar químicamente un extracto etanólico de propóleo peruano y evaluar su actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*. **Metodología:** Experimental, prospectiva, transversal y analítica. La actividad antibacteriana se realizó mediante la prueba de difusión en disco sobre medio Brain Heart infusión agar (BHA) inoculado con *S. mutans* ATCC 25175, se empleó clorhexidina (CHX) al 0,12 % como control positivo. Se realizó la medición de los halos de inhibición con un compás Vernier. **Resultados:** Todas las concentraciones del EEP presentaron actividad antibacteriana frente al *S. mutans* (25 % = $17,582 \pm 2,578$ mm; 50 % = $16,906 \pm 1,892$ mm; 75 % = $16,881 \pm 2,013$ mm; 100 % = $17,201 \pm 1,305$ mm); sin embargo, fueron menores al compararlos con CHX al 0,12 % ($24,543 \pm 2,486$ mm) ($p < 0,05$). Según la escala de Duraffourd, *S. mutans* fue sensible (+) y muy sensible (++) para todas las concentraciones del EEP, mientras que para CHX al 0,12 % fue sumamente sensible (+++) ($p < 0,05$). **Conclusión:** Las diversas concentraciones de EEP peruano presentaron actividad antibacteriana significativa, considerada como sensible y muy sensible frente a *S. mutans*.

Obando M.¹⁴(Trujillo, 2021) Realizó un estudio titulado “Efecto antibacteriano, *in vitro*, de tres métodos de recolección de extractos etanólicos de propóleo sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ”. **Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano, *in vitro*, de tres métodos de recolección de extractos etanólicos

de propóleo sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Metodología:** Prospectivo, transversal, comparativo, analítico, experimental. Se realizó 5 repeticiones para cada tipo de recolección y concentración por cada tipo de recolección, se enfrentaron concentraciones al 5%, 10% y 30% con cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 mediante la técnica de Kirby – Bauer. **Resultados:** Encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) a la concentración de 30% entre el método de raspado con espátula metálica y raspado con espátula plástica. Este último método presentó el mayor halo de inhibición (1.28cm) **Conclusión:** El método de raspado con espátula tiene mayor efecto antibacteriano.

Millones P.¹⁵ (Lima, 2021) Realizó un estudio titulado “Efecto antibacteriano de propóleos peruanos y acción de una fracción metanólica sobre un biofilm *in vitro* de *Streptococcus gordonii* y *Fusobacterium nucleatum*.” **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del propóleo peruano y la acción de una fracción metanólica sobre un biofilm *in vitro* de *Streptococcus gordonii* ATCC 51656 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953. **Metodología:** Experimental, longitudinal, prospectivo, analítico. Se recolectaron 13 propóleos de los andes peruanos y se evaluaron midiendo su efecto antibacteriano sobre cepas de *S. gordonii* y *F. nucleatum* a través de halos de inhibición. Se usaron clorhexidina y DMSO como controles, se evaluó la citotoxicidad del propóleo sobre líneas celulares HGF-1-ATCC CRL-2014 mediante técnicas colorimétricas de bromuro de 3-(4.5-dimetiltiazol-2-il)-2.5-difeniltetrazolio y densidad óptica **Resultados:** Se encontró que la muestra de propóleos de Oxapampa presentó efecto antibacteriano sobre las dos cepas estudiadas, en extractos crudos,

fracciones clorofórmicas, fracción butanólica y metanólica. La concentración inhibitoria mínima de 0,78 mg/mL de la fracción metanólica del residuo clorofórmico del propóleo de Oxapampa no resultó tóxica sobre los fibroblastos gingivales. Concentraciones de 0.78 mg/mL y 1,563 mg/mL de la fracción metanólica del residuo clorofórmico de propóleos de Oxapampa influyeron en el espesor del biofilm y número de copias del gen *srtA* de *S. gordonii* y gen *radD* de *F. nucleatum* a las 120 horas. **Conclusión:** De los 13 propóleos peruanos, se encontró que la fracción metanólica del residuo clorofórmico del propóleo de Oxapampa presentó efecto antibacteriano *in vitro* sobre *S. gordonii* y *F. nucleatum* y efecto sobre el espesor del biofilm.

Cayo C, Cervantes L.¹⁶(Lima, 2020) Llevaron a cabo un estudio titulado“Actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*.” **Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10% y 20% comparado con el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Metodología:** Experimental, longitudinal, prospectivo y comparativo. La muestra estuvo constituida por 90 discos de difusión y 15 discos embebidos en té verde (*Camellia sinensis*) o propóleo a diferentes concentraciones, clorhexidina acuosa al 0,12 % y agua destilada. **Resultados:** El ancho máximo de halo inhibitorio logrado por clorhexidina acuosa al 0,12 %, extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20% y extracto etanólico de propóleo al 20% fue a las 24 h con valores de 10,64 mm \pm 0,924 mm, 6,82 mm \pm 0,982 mm y 8,36 mm \pm 1,286 mm, respectivamente. El extracto etanólico de té verde

(*Camellia sinensis*) al 20%, presentó diferencias estadísticamente significativas respecto al extracto etanólico de propóleo al 20%, tanto a las 24 h ($p= 0,013$), como a las 48 h ($p= 0,011$). **Conclusión:** Frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), el extracto etanólico de propóleo al 20% presenta mayor actividad antibacteriana respecto al extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10% y 20%, actividad que disminuye con el paso del tiempo.

Talavera J.¹⁷(Arequipa, 2018) Realizó un estudio titulado“efecto antibacteriano del propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668”.**Objetivo:** Determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano (EPP) producido en la ciudad de Arequipa. **Metodología:** Experimental, transversal, prospectivo, analítico, mediante el método de difusión en placa se usó las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 35668, para enfrentarlo a la solución madre con una concentración de“50gr/100ml”relación p/v del EEP. **Resultados:** La C.M.I. y la C.MB. encontrándose resultados positivos en diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% comparándola con el testigo clorhexidina al 0,05%. Se determinó que la acción antibacteriana del EEP contra *S. mutans* muestra una tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, tal acción antibacteriana en las diluciones de 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% es significativa. **Conclusión:** El EEP en solución madre al 100% tiene una mejor acción antibacteriana contra *S. mutans* y presentó un promedio de halo inhibitorio de 16.13mm frente al *S. mutans*, demostrando una sensibilidad intermedia.

Mayta F, Sacsquispe S.¹⁸ (Oxapampa,2010) Realizaron un estudio titulado “Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. **Objetivo:** Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa – Perú frente a *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. **Metodología:** Experimental, longitudinal, prospectiva, estuvo conformada por 16 cultivos de las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). **Resultados:** Se determinó que para el *S. aureus*, el EEP al 30% presentó mayor eficacia con una media de 11,77mm±0,19 y se encontró que las dos concentraciones de propóleo a las 24 y 48 horas mostraron diferencia significativa $p = 0,007$. Además, se determinó que para el *S. mutans*, tanto el EEP al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no mostraron diferencia significativa. **Conclusión:** El EEP al 30% tuvo mayor efecto antibacteriano que listerine contra el *S. mutans* $p < 0,001$ e igual en efectividad que la clorhexidina 0,05% frente al *S. aureus*.

Eguizábal M, Moromi H.¹⁹ (Pasco, 2010) Realizaron un estudio titulado actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. **Objetivo:** Determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano proveniente del valle de Oxapampa. **Metodología:** Experimental, longitudinal, prospectivo, analítico. Se usó cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Lactobacillus casei* ATCC 393, para enfrentarlas a las soluciones: 20 y 30% y compararlas a los testigos Clorhexidina 0,12% y alcohol 70%. **Resultados:** La acción antibacteriana del EEP contra *S. mutans* muestra una mayor tendencia de actividad inversamente

proporcional a su concentración, que en el caso del *L. casei*; tal acción antibacteriana en las concentraciones 20 y 30 % es significativa en comparación al testigo negativo; así mismo la acción contra *S. mutans* es mayor que en *L. casei*; siendo significativas en las concentraciones de 0,8 y 20 % ; y también la acción antibacteriana del EEPP al 0,8 % es mayor que la acción de la Clorhexidina, tanto para *S. mutans* y *L. casei*. **Conclusión:** El EEPP en solución al 0,8 % tiene una mejor acción antibacteriana contra *S. mutans* y *L. casei* que la Clorhexidina al 0,12 %.

2.2 Bases Teóricas

Caries Dental

Es un desarrollo patológico complejo de origen infeccioso y transmisible que altera las estructuras dentales y se caracteriza por presentar un desequilibrio bioquímico que, de no ser revertido a favor de los factores de resistencia, puede proceder a la cavitación y deformación del complejo dentino pulpar.^{1,2}

En la actualidad la caries dental constituye la enfermedad más común en el ser humano. Existen algunos componentes de la ecología oral que pueden favorecer su desarrollo tales como características del tejido adamantino, papel de la saliva en el medio oral y el papel relevante del consumo de carbohidratos que pueden predisponer la aparición de caries dental.^{1,2}

Etiología

La aparición de caries está íntimamente asociada con el microbioma y la dieta, como el consumo de alimentos y bebidas azucaradas, hábitos de higiene bucal del huésped. La biopelícula dental dominada por microorganismos constituye un factor de virulencia para la caries dental. Se han propuesto varios prototipos para argumentar la posible etiología de la caries dental, como la triada de Keyes, donde se explica la probable relación causal de la existencia de microorganismos determinados como el grupo de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* en la placa dental e incidencia de la caries dental.⁵

Por ende, la etiología de la caries dental es explicada mediante un gráfico de Venn sencillo, que consta de tres circunferencias, donde dos circunferencias simbolizan la dieta, la placa dental o carga microbiana y la última circunferencia

representa al huésped la intersección de estas tres circunferencias simboliza la caries dental. Finalmente, se agregó una cuarta circunferencia que representa al tiempo, la cual explica la duración de la interacción de las circunferencias anteriores. La placa dental y la dieta son interdependientes entre sí en la causa de la caries dental de manera opuesta, la tercera circunferencia que simboliza al hospedero actúa como medio para la interacción de estos factores dichos microorganismos específicos están vinculados con el inicio y posterior progresión de la caries dental. El *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* tienen un vínculo importante para el inicio y progreso de la caries dental, donde los sustratos para estos microorganismos son los carbohidratos fermentables y el depósito de carbohidratos producidos por bacterias en la biopelícula. Así mismo que las bacterias metabolizan estos sustratos, van a formar ácido láctico, el cual unido con los factores del huésped va a disminuir el coeficiente del oxígeno a nivel local, lo que origina la progresión de la caries dental. Los ciclos reiterados de producción de ácidos van a dar como consecuencia la disolución microscópica de los tejidos duros del diente y finalmente la cavitación.⁵

Streptococcus mutans

Es un microorganismo cuyo ambiente natural es la cavidad oral, se clasifica como bacteria Gram+ anaerobia facultativa, la cual está asociada en el inicio y desarrollo de la caries dental, se extiende en un hábitat con un PH bajo, metaboliza azúcares y sintetiza ácidos, elabora polisacáridos extracelulares para proveer de sustancias celulares para la adhesión a las caras libres de los dientes, asimismo para generar polisacáridos intracelulares para su metabolismo. El

objetivo principal del *S. mutans* es la formación de la biopelícula dental, fijación para sintetizar glucanos lo que permitirá la lisis del esmalte.⁷

Factores de virulencia

Son aquellas características propias de cada microorganismo que lo hacen patógeno. En el caso del *Streptococcus mutans*, los más involucrados en la producción de caries son:⁶

Acidogenicidad: El *Streptococcus mutans* fermenta los azúcares de la dieta para producir ácido láctico como resultado final del metabolismo. Esto origina que descienda el pH y se desmineralice el esmalte dental.

Aciduricidad: Es la capacidad que adquiere el microorganismo para elaborar ácido en un medio con un PH bajo.

Acidofilicidad: El *Streptococcus mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H⁺) afuera de la célula.

Síntesis de glucanos y fructanos: Mediante enzimas como glucosil y fructosiltransferasas, se producen polímeros como glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la célula a unirse al diente y ser usado como reserva de nutrientes

Síntesis de polisacáridos intracelulares. Como el glucógeno: sirven como depósito alimenticio y mantienen la producción de ácido durante períodos largos, aún en ausencia de consumo de azúcar.⁶

Propóleo

La palabra Propolis se deriva del griego pro (en defensa de) y polis (la ciudad) lo que significa en defensa de la ciudad. El propóleo es un concentrado resinoso que presenta un color verde o en ocasiones adopta un color que se asemeja al negro que va a ser recolectado por las abejas de las yemas y revestimientos de algunos árboles, el cual es mezclado con cera. Las abejas recubren las paredes internas de sus colmenas con una fina capa de propóleo con el objetivo de restaurar o proteger la colmena de invasores; ya que el propóleo es un concentrado embalsamador, el cual es responsable del descenso de la incidencia de bacterias dentro de la colmena.^{3,4}

El propóleo es una sustancia resinosa constituida por una aleación de diversas partes de plantas y partículas producidas por las abejas. El propóleo es considerado una fuente esencial de partículas bioactivas con características farmacológicas, entre las que podemos mencionar su característica antimicrobiana, actividad antiinflamatoria, antiparasitaria. El propóleo puede ser de distintos orígenes, a pesar de que pueden presentar características similares, su composición química puede variar por el lugar de origen, el tiempo en el cual fue recolectado, así como el método utilizado para su recolección, la dieta de las abejas, influyendo de esta manera en el efecto antibacteriano.⁴

El propóleo se constituye aproximadamente de 50 -55% de resinas y bálsamos de 30-40% de cera y un 10-15 de aceites esenciales y 5% de polen y 5% de minerales, dentro de sus componentes podemos indicar que posee compuestos fenólicos, flavonas, flavonoides, isoflavonas en un 50% las cuales van a refrenar

bacterias y hongos. Por ello se le atribuye la eficacia antibacteriana del propóleo a los flavonoides presentes, el cual puede variar según la zona en la cual es recolectada por las abejas, donde su mecanismo de acción antibacteriana está dado por la inhibición de la división celular, interrupción del ADN, desorganización de la membrana citoplasmática e inhibición de la síntesis de la pared celular, lo cual va a generar una bacteriólisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica.⁴

El mecanismo antimicrobiano del propóleo es complejo y es otorgado al sinergismo entre algunos de sus compuestos, como flavonoides, ácidos aromáticos, ácidos grasos, ésteres, hidroxiaácidos, entre otros compuestos fenólicos presentes en su configuración. Por ende, el propóleo es considerado un producto natural de procedencia mixta, vegetal y animal.^{3,4}

Implicaciones del Propóleo:

La eficacia antimicrobiana de los extractos depende del solvente empleado, la procedencia del propóleo y la especie bacteriana estudiada, donde los extractos etanólicos son los más efectivos. La composición química del propóleo indica que los componentes farmacológicos activos más relevantes son los flavonoides y compuestos fenólicos, aromáticos, entre los cuales se encuentra la apigenina (flavonoides) y terpenoides los cuales han demostrado tener las mayores cualidades antimicrobianas contra *Streptococcus mutans*, demostrando su aptitud de impedir las glucosiltransferasas y la síntesis de glucanos los cuales pueden influir en la composición química y microbiana de la placa dental.^{4,7}

Obtención del propóleo en el apiario:

Hay que estimar que la cantidad de propóleo que elabora una colmena obedecerá a la etnia de la abeja, así como de su lugar geográfico. Se ha considerado que las colmenas situadas en bosques o en los márgenes de los ríos contienen más propóleo que las situadas en zonas llanas. La cantidad promedio que puede producir una colmena en un año fluctúa entre los 150 y los 300 gramos. Las abejas van a propolizar durante todo el año, pero al término del verano y otoño son las de mayor valor. El apicultor deberá recolectar el propóleo pasado el invierno, pero también podemos estimar otra forma de obtención, la que consiste en ubicar sobre los cuadros de la colmena una rejilla de plástico que rápidamente será propolizada por las abejas, donde podemos obtener el propóleo fácilmente mediante un raspado.²⁸

III. HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación

El extracto etanólico del propóleo posee efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo - 2021.

Hipótesis Nula(H_0)

El extracto etanólico del propóleo no posee efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo - 2021.

Hipótesis alterna (H_a)

El extracto etanólico del propóleo tiene efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2021

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

Tipo de investigación

Según la intervención del investigador: Experimental

Fidias G. Arias.²¹ (2015) Es un proceso que consiste en someter a un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente).

Según el enfoque de la investigación: Cuantitativa

Hernández, Fernández y Baptista²¹ (2015) Se utiliza la recolección de datos para probar hipótesis, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías, además señalan que este enfoque es secuencial y probatorio.

Según planificación de la toma de datos es : Prospectiva

Hernández, Fernández y Baptista²¹ (2015) Toda la información se recogerá, de acuerdo con los criterios del investigador y para los fines específicos de la investigación, después de la planeación de esta.

Según el número de ocasiones en que se mide la variable de estudio es:

Transversal

Hernández, Fernández y Baptista²¹(2015) Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar alguna comparación, se trata de muestras independientes.

Según el número de muestras a estudiar es: Analítica

Fidias G. Arias.²² (2015) Son aquellos que reúnen condiciones adecuadas para evaluar hipótesis y responder al porqué de los fenómenos de salud y enfermedad.

Nivel de la investigación.

Explicativo

Hernández, Fernández y Baptista^{21,22}(2014) Esta investigación está dirigida a responder a las causas de los eventos, sucesos y fenómenos físicos o sociales.

Diseño de la investigación

Experimental: Experimento Puro

Fidias G. Arias.²²(2015) En estos estudios el investigador comprueba los efectos de una intervención específica, en este caso el investigador tiene un papel activo, pues lleva a cabo una intervención. Donde someten a grupos de individuos u objetos a determinadas condiciones o estímulos, con el propósito de observar los efectos que se producen. Se controlan las variables.

4.2 Población y muestra

Población de estudio

Estuvo constituida por cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* del Laboratorio de la Facultad De Medicina De La Universidad Nacional De Trujillo (UNT), teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Los criterios de selección:

Criterios de inclusión

Cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* debe ser identificada fenotípicamente por un método automatizado como el Microscan.

Criterios de exclusión

Halos de inhibición no muy claros, o con contaminación microbiana

Cepas con evidencia de contaminación microbiana.

Muestra

Estuvo conformada por un total de 80 repeticiones divididas en 5 grupos de 16 repeticiones para cada concentración al 25,50,75,100%, gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Unidad de Análisis

La unidad de análisis estuvo constituida por 16 placas petri sembradas con 100 μ L de suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans*.

Cálculo del número de duplicados de unidades de ensayo

El número de duplicados para cada ensayo se determinó aplicando la siguiente fórmula estadística que es aplicable en investigaciones experimentales para determinar el número mínimo de observaciones, duplicados y repeticiones.

Empleando la fórmula para el tamaño de muestra, comparar medias, dada por:

$$n = \frac{2 \left(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 S^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

Dónde:

n = tamaño de muestra necesario para cada grupo.

$Z_{\alpha/2}$ = 1.96; coeficiente de la distribución normal para un $\alpha = 0.05$

Z_{β} = 0.84; coeficiente de la distribución normal para un $\beta = 0.20$

S = 1.01 ($\bar{x}_1 - \bar{x}_2$) el cual es un valor asumido por no haber información sobre los valores paramétricos en estudios similares.

Reemplazando obtenemos: $n = 16$ repeticiones

La muestra estuvo conformada por $n = 16$ repeticiones por cada concentración

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable Independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de variable	Escala	Valor
Extracto etanólico de propóleo	Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla por diversos procedimientos. ⁴	Preparación líquida a base de etanol y propóleo, a diferentes concentraciones: 25%,50%,75%,100%	Solución diluida Mg/ml	Cuantitativa	De razón	Concentración 25%,50%,75%,100%
Variable Dependiente	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de variable	Escala	Valor
Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i>	Capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano de <i>streptococcus mutans</i> por la presencia de diferentes concentraciones de extracto de propóleo. ⁴	Determinación de la capacidad inhibitoria o antibacteriana de diferentes concentraciones del extracto etanólico propóleo. ²⁰	Diámetro de los halos de inhibición: mm / Escala de Duraffourd	Cualitativa	Ordinal	Halos de inhibición mm Resistente o nula (-): < 8mm Sensible (+): >8mm ≤ 14mm Muy sensible (++) : >14 ≤ 20mm Sumamente sensible (+++) : >20mm

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica

Observación

Instrumento

Regla milimetrada: La cual se utilizó para registrar la información necesaria para la investigación. La información obtenida se registró en una ficha de recolección de datos, su aplicación fue de fácil uso, la cual fue elaborada por la investigadora.(Anexo 02)

Procedimiento para el ambiente de trabajo

Se solicitó la autorización y permiso para poder ejecutar la investigación en la Dirección de la Escuela Profesional de Odontología - Sede Trujillo (Anexo 01)

Con la autorización se solicitó el permiso a la coordinadora de la sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT y la coordinadora de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT para poder desarrollar la investigación.

De la obtención del propóleo en el apiario

La recolección fue realizada mediante el empleo de rejillas que optimizaron el proceso y garantizaron la obtención de un producto exento de impurezas y contaminantes. Utilizamos el uso de mallas matrizadas plásticas con espacios de 4,5 mm. fabricadas específicamente para el almacenamiento de propóleo; estas fueron utilizadas sobre los cabezales de los cuadros debajo de la entre tapa de la colmena. Después de un periodo de tiempo prolongado (de 1 a 6

meses), las rejillas fueron retiradas de la colmena y se reemplazaron por otra limpia.²⁴

De la remoción y transporte

Para extraer el propóleo de las rejillas con facilidad, se introdujeron en un congelador, después de una hora en su interior, se sacudieron sobre una superficie dura para que se desprenda, ya que al congelarse se vuelve muy quebradizo. Con las rejillas, se obtuvo el propóleo de mejor calidad y más puro, además arrastró muy pocas impurezas.²⁴

El propóleo por ser un producto delicado, fue conservado en frascos de vidrio estériles y para su conservación estuvo a una temperatura ambiente de 15 °C, se embalo menos de un kilogramo para facilitar su análisis posterior. La temperatura de conservación idónea es 15 °C, a más de 20 °C comienza a desactivarse y permite la reproducción de algunos parásitos.²⁴

De la Recolección de la muestra de propóleo

El propóleo fue recolectado del distrito de Condebamba, Provincia de Cajabamba, región Cajamarca. Está localidad se encuentra ubicada a 2000 m.s.n.m. La recolección se realizó mediante el atrapado, ya que nos ofrece mejor calidad y menos contaminación de la muestra.²⁶

El transporte del propóleo desde el lugar de recolección hacia el Laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, se realizó en frascos de vidrio estériles para evitar la contaminación de las muestras.

De la elaboración del extracto Etanólico del Propóleo

Antes de preparar los extractos, se procedió a eliminar las impurezas visibles que se encuentren en el propóleo, tales como partes de abejas, restos vegetales.

Las muestras de propóleo en bruto fueron fraccionadas en trozos de 2 cm aproximadamente y colocadas en refrigeración a 0 °C por 24 horas para solidificarlas. Luego, se trituraron los trozos en un mortero.^{25,26}

Se pesaron 150 g de propóleo, y se colocaron en un balón de fondo plano de 1 litro de capacidad, luego se agregó 200 ml de etanol de 70° y se llevó a reflujo por espacio de 2 horas. Transcurrido el tiempo se procedió a filtrar al vacío con papel de filtro Whatman N° 2 y se concentró los extractos en una rota vapor a presión reducida a una temperatura de 40° C. El sólido obtenido se sometió a secado en estufa a 70 °C durante 2 horas, para obtener el denominado extracto blando total. A partir de este extracto blando se preparó las concentraciones de 25%, 50%, 75%,100% disueltos en etanol de 70°. Cada una de las concentraciones fueron colocadas en frascos estériles de vidrio de color ámbar y se llevó a refrigerar a 4 °C hasta su posterior evaluación microbiológica.²⁵

Obtención del cultivo puro *Streptococcus mutans* ATCC 25175

El cultivo puro de *Streptococcus mutans*, se obtuvo del cepario de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (cepa procedente y estandarizada como *Streptococcus mutans* ATCC 25175).

Preparación del inóculo

Las cepas se cultivaron en tubos de ensayo con tapa rosca; los cuales contenían el medio agar Mueller Hinton, se incubaron a 37 °C con el fin de obtener colonias jóvenes. Las cepas se diluyeron en tubos con caldo peptonado estéril, hasta que se obtuvo una turbidez semejante al tubo número 0.5 de la escala de McFarland (1.5×10^8 UFC/ml). Los tubos que contenían las bacterias fueron girados verticalmente sobre su eje longitudinal aproximadamente durante 30 segundos hasta observar un líquido homogéneo, con el fin de distribuir los microorganismos antes de proceder al sembrado.²⁷

Sembrado

Los hisopos estériles fueron embebidos con la cepa previamente preparada de *S. mutans* y se usaron para sembrar en cada Placa de Petri con Agar Mueller Hinton a una distancia de 10cm de la llama del mechero. Se distribuyeron uniformemente, sobre toda la superficie del agar y se giraron cada placa a 30 grados por 10 veces aproximadamente. Posteriormente, las placas Petri se incubaron a 37° por 24 horas.²⁷

De la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):

Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) mediante la técnica de macrodilución en caldo de tioglicolato, con el fin de enfrentar la cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con concentraciones del extracto etanólico del *Propóleo* a 25%, 50%, 75% y 100%. Teniendo el inóculo bacteriano y los extractos etanólicos listos, se inició el proceso de determinación de la CMI, procediendo a colocar 0.2ml del inóculo de la macrodilución en caldo en cada

uno de los 5 tubos de ensayo de 15 x 100mm, para luego añadir 0.4ml de extracto etanólico en sus diferentes concentraciones.²⁷

Terminado el tiempo de incubación, se realizó la siembra, para ello se tomó en una jeringa estéril 0.1 ml de muestra de cada uno de los tubos, colocándola en las placas Petri preparadas con agar soya para luego ser extendida por todas las superficies del agar con ayuda de la espátula Drigalsky, previamente esterilizada. Este procedimiento permitió que la bacteria crezca en toda la extensión de la placa. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10cm de la llama de un mechero. Las placas sembradas se llevaron a una jarra de Gaspak para el proceso de micro anaerobiosis. Luego, se incubó en una estufa 37° C por 24 horas. Tras el periodo de incubación se examinaron cada una de placas.²⁷

La Concentración Mínima Inhibitoria es la concentración más baja de un agente antimicrobiano requerida para inhibir el crecimiento de un microorganismo.

La placa con la concentración en la cual se encontró 0 UFC, se consideró como Concentración Mínima Bactericida.

El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo se evaluó siguiendo el procedimiento descrito por Sakha et al.²⁷ (2018); el mismo que corresponde al método de difusión en discos a base a los fundamentos descritos Kirby-Bauer; conocido también como el test de susceptibilidad. Se prepararon discos de papel de filtro Whatman N°1 de 6 mm de diámetro previamente, los cuales fueron sumergidos dentro de cada una de las diluciones del extracto etanólico de propóleo (concentraciones de 25%, 50% ,75, 100%), luego con

una aguja estéril estos se colocaron sobre los cultivos de *S. mutans* en placas de Petri con Agar Mueller Hinton; se usaron 4 discos por placa. Paralelamente, se realizó la determinación de la susceptibilidad de los controles para *S. mutans*. Posteriormente las placas Petri se incubaron a 37° por 24 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10 cm de la llama del mechero. Pasado este tiempo se realizó la lectura de resultados. Se midieron los halos de inhibición, incluyendo el área del disco de papel de filtro con una pinza vernier.²⁷

Lectura de resultados:

La lectura de los halos de inhibición producidos se registró en milímetros, para ello se utilizó una regla milimetrada, teniendo en cuenta la escala de Duraffourd (escala utilizada para la determinación cualitativa del efecto inhibitorio *in vitro*, según diámetro de inhibición, que considera que la sensibilidad es determinada por un diámetro superior de 8mm), con las respectivas especificaciones.²⁹

CONDICIÓN	DIÁMETRO EN MM
Resistente o nula : (-)	< ó = 8mm
Sensible: (+)	>8mm ≤ 14mm
Muy sensible: (++)	>14 ≤ 20mm
Sumamente sensible: (+++)	> 20mm

4.5 Plan de análisis

La información registrada en la ficha de recolección de datos fue digitada e ingresada en una base de datos en el programa ofimático Excel 2019; donde se organizó, codificó y tabuló; para luego ser exportados al software estadístico SPSS v26 donde utilizando la estadística descriptiva, se realizó las medidas de tendencia central y dispersión para variables cuantitativas ,asimismo se utilizó diagramas sectoriales y de barras, mediante el análisis univariado.

Se realizó la prueba de normalidad que verificó que las muestras provienen de una población con distribución no normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk.

Se utilizó la prueba estadística no paramétrica Kruskal-Wallis con un nivel de significancia del 5%.

4.6 Matriz de Consistencia

EFECTO ANTIBACTERIANO, *IN VITRO*, DEL EXTRACTO, ETANÓLICO DEL PROPÓLEO

FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175, TRUJILLO – 2021

ENUNCIADO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA
<p>Cuál es el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i>, del extracto etanólico del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2021.</p>	<p>Objetivo general: Evaluar el efecto antibacteriano, <i>in vitro</i>, del extracto etanólico del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2021.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Determinar la concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo – 2021. 2. Determinar la concentración mínima bactericida del propóleo frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2021. 	<p>El extracto etanólico del propóleo posee efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, Trujillo-2021</p>	<p>El presente trabajo es una investigación cuantitativa de nivel explicativo, transversal analítica, prospectiva. Diseño: Experimental Experimento puro.</p> <p>Población: Estuvo constituida por cepas de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 2517 Trujillo-2021 del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT.</p> <p>Muestra: Estuvo conformada por un total de 80 repeticiones divididas en 5 grupos de 16 repeticiones para cada concentración al 25,50,75,100% , gluconato de clorhexidina 0.12%</p>

4.7 Principios éticos

La presente investigación consideró, los principios éticos del código de ética para la investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Beneficencia y no maleficencia. - Toda investigación debe tener un balance riesgo-beneficio positivo y justificado, para asegurar el cuidado de la vida y el bienestar de las personas que participan en la investigación. En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios.

Cuidado del medio ambiente y respeto a la biodiversidad. Toda investigación debe respetar la dignidad de los animales, el cuidado del medio ambiente y las plantas, por encima de los fines científicos; y se deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y tomar medidas para evitar daños.

Justicia. El investigador debe anteponer la justicia y el bien común antes que el interés personal. Así como, ejercer un juicio razonable y asegurarse que las limitaciones de su conocimiento o capacidades, o sesgos, no den lugar a prácticas injustas.

Integridad científica. El investigador (estudiantes, egresado, docentes, no docente) tiene que evitar el engaño en todos los aspectos de la investigación; evaluar y declarar los daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, el investigador debe proceder con rigor científico, asegurando la validez de sus métodos, fuentes y datos.³⁰

V. Resultados

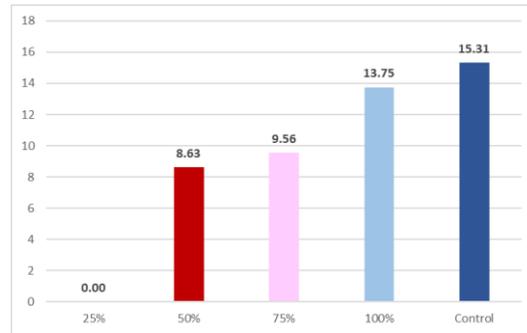
5.1 Resultados

Tabla 1: Evaluación del efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Concentración	N	Media	Desviación típica	Sig. (p)*
25%	16	0.00	0.00	0.000
50%	16	8.63	0.50	
75%	16	9.56	0.51	
100%	16	13.75	0.68	
Control	16	15.31	0.48	

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

*Prueba de Kruskal Wallis



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 1

Gráfico 1: Evaluación del efecto antibacteriano, *in vitro*, del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Interpretación: El EEP al 25% sobre *Streptococcus mutans* presentó un halo de inhibición nula, al 50% presentó un halo de 8,6mm; al 75% mostró un halo de 9,56 mm y con mayor medida el extracto al 100% mostró un halo de 13,75mm; para el grupo control con clorhexidina presentó un halo de 15,31mm. Mediante la prueba no paramétrica Kruskal wallis, se obtuvo $p = 0.000 < 0.05$, de ello podemos indicar que existe una diferencia significativa entre las concentraciones en la investigación.

Tabla 2: Prueba Post hoc Duncan, Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
25%	16	0.00				
50%	16		8.63			
75%	16			9.56		
100%	16				13.75	
Control	16					15.31
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

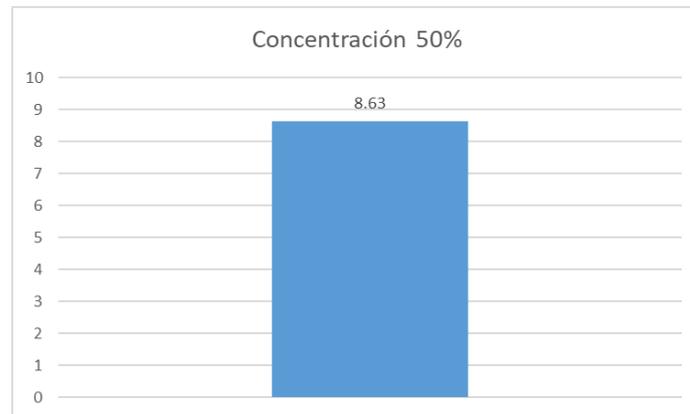
Interpretación:

Se observa mediante la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 5% que existe una diferencia significativa entre las concentraciones al 25,50,75,100% y con el grupo control con clorhexidina .

Tabla 3: Concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Concentración 50%	
Media	8.63
Desviación típica	0.50
N	16

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 3

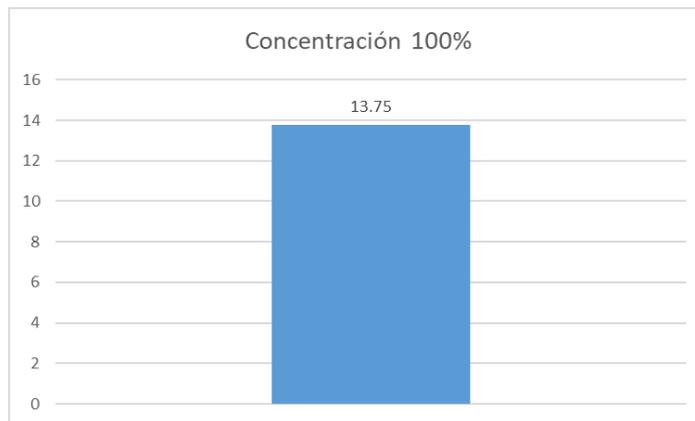
Gráfico 3: Concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Interpretación: La Concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021, fue la concentración al 50%, ya que presentó una medida de halo promedio de 8.63mm, siendo la concentración más baja que limitó el crecimiento bacteriano , siendo este sensible según la escala de Duraffourd.

Tabla 4: Concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Concentración 100%	
Media	13.75
Desviación típica	0.68
N	16

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 4

Gráfico 4: Concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Interpretación: La concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021, fue la concentración al 100%, ya que presentó una medida de halo promedio de 13.75mm, siendo la concentración más efectiva observándose que a mayor concentración se produjo un mayor efecto antibacteriano, siendo este sensible según la escala de Duraffourd.

5.2 Análisis de resultados

En el presente estudio se buscó evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del propóleo sobre cepas de *Streptococcus mutans* al comparar los promedios de los halos de inhibición se encontró que el extracto del propóleo al 50%,75%,100% presentaron efecto antibacteriano sobre cepas de *Streptococcus mutans*, enfatizando que al 100% obtuvo mayor promedio de halo 13.75mm determinando que, a mayor concentración del extracto mayor es el efecto antibacteriano. Tal como es indicado por Talavera R.¹⁷ (Arequipa , 2018) quien buscó determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano, obteniendo la C.M.I. y la C.M.B. concluyendo que la esencia del propóleo en solución al 100% tiene acción antibacteriana contra *S. mutans* y presentó un promedio de halo de inhibición de 16. 13mm lo que nos indica que fue sumamente sensible. Lo que concuerda con el estudio realizado por Hegde S⁸ (India, 2013) quién indicó que en un total del 90% de las muestras hubo una reducción en la carga bacteriana. En el 6,6% no hubo unidades formadoras de colonias, concluyendo que el propóleo tiene acción antimicrobiana contra *S. mutans* presente en la cavidad oral y podría usarse como una alternativa para la prevención de la caries dental. Dichos resultados podrían atribuirse a la presencia de los flavonoides y flavonas que se encuentran en el propóleo lo que le atribuye la propiedad antimicrobiana los cuales han demostrado su aptitud de impedir las glucosiltransferasas y la síntesis de glucanos los cuales pueden influir en la composición química y microbiana de la placa dental, lo que concuerda con el estudio realizado por Yuan J, et al ⁷ (China, 2022) el cual menciona que el extracto etanólico de

propóleo actúa inhibiendo la viabilidad celular dentro de la biopelícula, disminuyendo el total de biomasa y reduciendo la producción de polisacáridos extracelulares.

En un estudio realizado por Checalla J¹³ (Tacna, 2021) se evidenció que todas las concentraciones de la esencia de propóleo presentaron actividad antibacteriana significativa frente a *S. mutans*; pero fueron menores al ser comparados con la clorhexidina. Lo que discrepa con los resultados conseguidos en la presente investigación, ya que en la concentración al 25% mostró una sensibilidad nula. En un estudio de Mayta F¹⁸ (Lima, 2010) se evaluó la eficacia antibacteriana del propóleo, sobre la superficie bacteriana, en los cuales midieron los halos de inhibición, donde la esencia etanólica de propóleo en la concentración del 30% presentó mayor eficacia antimicrobiana frente al *S. mutans* con un halo de inhibición de 11,77mm. Lo que discrepa con los resultados conseguidos en la presente investigación, donde la esencia etanólica de propóleo en la concentración del 100% tuvo mayor efecto antibacteriano, ya que se registró un halo de inhibición de 13,75mm, resaltando que existe una diferencia significativa. Dicha variación puede explicarse ya que la composición química del propóleo varía según el lugar de origen, dieta de las abejas, el tiempo en el cual fue recolectado, así como el método utilizado para su recolección. Recomiendo realizar más trabajos de investigación sobre el extracto estudiado, porque se demostró que posee efecto antibacteriano en la concentración al 100%.

VI. Conclusiones

1. El extracto etanólico del propóleo al 100% presentó efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC-25175, Trujillo -2021, siendo éste sensible según la escala de Duraffourd.
2. La concentración mínima inhibitoria del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC-25175, Trujillo -2021, fue al 50%, ya que fue la concentración más baja que limitó el crecimiento bacteriano, siendo éste sensible según la escala de Duraffourd.
3. La concentración mínima bactericida del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC-25175, Trujillo -2021, fue al 100%, ya que fue la concentración capaz de destruir el 99.9 % de un inóculo, siendo éste sensible según la escala de Duraffourd.

VII. Recomendaciones

1. Se recomienda al coordinador de Escuela Profesional de Odontología- Sede Trujillo, seguir realizando investigaciones *in vitro* con productos derivados de las abejas, para promover la búsqueda de productos naturales para la prevención y tratamiento de muchas enfermedades en nuestro campo profesional.
2. Se recomienda se incorpore como línea de investigación la evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* del propóleo frente a microorganismos de la cavidad oral.
3. Se recomienda seguir desarrollando investigaciones para promover el tratamiento de patologías de la cavidad oral mediante la utilización de productos derivados de las colmenas de las abejas.
4. Se recomienda desarrollar investigaciones para determinar la prevención de enfermedades bucales mediante el uso de productos naturales.
5. Se recomienda seguir realizando estudios para determinar la composición activa del propóleo.

Referencias Bibliográficas

1. Pitts N, Zero D, Marsh P, Ekstrand K, Weintraub J, Ramos F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 25; 3:17030. doi: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
2. National Center for Biotechnology Information [Internet]. Dental Caries - StatPearls - NCBI Bookshelf; [consultado el 28 de Noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551699/>.
3. Abbasi A, Mohammadi F, Bayat M, Gema S, Ghadirian H, Seifi H. Applications of Propolis in dentistry: A review. *Ethiop J Health Sci* [Internet]. 2018;28(4):505–12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16>
4. Premoli G, Laguado P, Días N, Romero C, Villareal J, González J. Uso del propóleo en odontología. *Rev. Odontvenez*. 2010 (Citada el 20 de mayo del 2016); 48(2) <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/art22.asp>
5. Nuñez P, García L. Bioquímica de la caries dental. *Rev haban cienc méd* [online]. 2010, vol.9, n.2, pp. 156-166. ISSN 1729-519X.
6. Pitts N, Zero D, Marsh P, Ekstrand K, Weintraub J, Ramos F, Tagami J, Twetman S, Tsakos G, Ismail A. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 25; 3:17030. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
7. Yuan J, Yuan W, Guo Y, Wu Q, Wang F, Xuan H. Anti-biofilm Activities of Chinese poplar Propolis essential oil against *Streptococcus mutans*. *Nutrients* [Internet]. 2022;14(16):3290. <http://dx.doi.org/10.3390/nu14163290>
8. Hegde S, Bhat S, Rao A, Sain S. Effect of Propolis on *Streptococcus mutans* Counts: An in vivo Study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 6(1), 22–25. <http://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1180>

9. Airen B, Sarkar P, Tomar U, Bishen K. Antibacterial effect of propolis derived from tribal region on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An in vitro study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2018 Jan-Mar;36(1):48-52. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_1128_17.
10. Dziedzic A, Kubina R, Wojtyczka R, Kabała D, Tanasiewicz M, Morawiec T. The Antibacterial Effect of Ethanol Extracto Of Polish Propolis on *Muntans Streptococci* and *Lactobacilli* Isolated from Saliva. Evid Based Complement Alternat Med [internet].2013[citado20mayo2016];20(13):681891.<https://doi.org/10.1155/2013/681891>
11. Ghada A, Iman I.Comparison of the Antimicrobial Effect of Egyptian Propolis Vs New Zeland Propolis on *Streptococcus mutans* And *Lactobacilli* in Saliva. Oral Health Prev Dent. 2012; 10(2):155-60.
12. Leitão D, Filho A, Polizello A, Bastos J, Spadaro A. Comparative Evaluation Of In Vitro Effects of Brazilian Green Propolis and *Baccharis dracunculifolia* Extracts on Cariogenic Factors of *Streptococcus mutans*. Biol Pharm Bull.2004 Nov; 27(11):1834-9. <https://doi.org/10.1248/bpb.27.1834>
13. Checalla J, Sánchez M. Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a *Streptococcus mutans*. Int. J. Odontostomat. 2021 Mar [citado 2021 Jun 04]; 15(1):145151.Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718381X2021000100145>
14. Obando A. Efecto Antibacteriano, *in vitro*, de tres Métodos De Recolección de extractos etanólicos de propóleo Sobre Cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. 2021. [Tesis para optar el título profesional de: cirujano dentista Trujillo Perú:

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2017]. Disponible en:
<http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/19934>

15. Millones P. Efecto antibacteriano de propóleos peruanos y acción de una fracción metanólica sobre un biofilm in vitro de *Streptococcus gordonii* y *Fusobacterium nucleatum* 2021. Disponible en <https://hdl.handle.net/20.500.12866/9017>.
16. Cayo C, Cervantes L. La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. Rev cubana Estomatol [Internet]. 2020 [citado 4 Jun 2021];57(1). Disponible en :
<http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2967>
17. Talavera P. Efecto Del Extracto Etanólico De Propóleo Peruano Sobre El *Streptococcus mutans* Atcc 35668 In Vitro. 2018. [Tesis para optar el título profesional de: cirujano dentista Arequipa Perú: Universidad católica de Santa María] 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/os.v10i2.3028>
18. Mayta F, Sacaquispe S. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Revista Estomatológica Herediana [Internet] 22 agos.2014[citado 28ene.2022]; 20(1):19
<https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/1777>
19. Eguizábal M, Moromi H. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*. 2010.[citado el 28deenerodel2022]<http://revistasinvestigacion.unms.edu.pe/index.php/odont/article/view/3028>
19. Gutiérrez G, Gómez J, Meraz M, Flores M, Ortiz L. Efecto de los flavonoides sobre la actividad antimicrobiana de los microorganismos presentes en la placa dental.

- Heliyon. 2019.[citado 15 marzo 2022];5(12). Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03013>
20. Veloz J, Saavedra N, Lillo A, Alvear M, Barrientos L, Salazar L. Antibiofilm Activity of Chilean Propolis on *Streptococcus mutans* Is Influenced by the Year of Collection. BioMed Research International, 2015, 291351. <http://doi.org/10.1155/2015/291351>.
21. Hernández R, Fernández C, Baptista, P. Metodología de la Investigación. 6ta Edición. México: McGraw-Hill; 2015.
22. Sánchez L, Alfaro P, Díaz R. Metodología de la investigación en ciencias de la salud. 1.^a ed. Ciudad de México: Universidad Autónoma Metropolitana. 2019. [citado 15 marzo 2022];31(2):20-2.Disponible en: <https://casadelibrosabiertos.uam.mx/gpd-metodologia-de-la-investigacion-en-ciencias-de-la-salud.html>
23. Vásquez I. Tipos de estudio y métodos de investigación.2010, 20(10): 35-8. Disponible en :<https://www.gestiopolis.com/tipos-estudio-metodos-investigacion>
24. Carrillo M, Castillo L, Mauricio R.Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la Huasteca Potosina.CIT inform Tecnol[Internet].2011[citado el 20 de enero de 2023]; 22(5):21-8.Disponible en <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000500004>
25. Sosa A, Cabrera M, Álvarez M.Vegetación de origen como parámetro de caracterización microbiana de los propóleos. J. Selva Andina Biosph. [Internet]. 2016 [citado 2021 Nov 27]; 4(1): 3-23. Disponible en : http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S230838592016000100002&lng=es.

26. Tolosa L, Cañizares E. Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharm* [Internet]. 20 de diciembre de 200;43(1-2):187-04: Disponible en : <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/5681>
27. Sakha H, Hora R, Shrestha S, Acharya S, Dhakal, D, Thapaliya S, Prajapati K. Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract of Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria.[Internet]26 octubre 2018;10(1-16):1-6: Disponible en: <https://doi.org/10.3126/tujm.v5i0.22292>
28. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba.2002.
29. Cavalieri J, Rankin D, Ortez H, McCarter Y, Sharp S, Sautter R. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. 1era.ed. Washington: American Society for Microbiology; 2005.
30. <https://uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v005.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 11 de mayo del 2021

Sra. (Srta.)

Dra. ELVA MEJÍA DELGADO.

Coordinadora de la sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UNT.

Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de Coordinador de Carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera Profesional de Odontología, nuestra alumna, REYES RENGIFO, Maritza Violeta; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis, titulado "Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto, etanólico del propoleo frente a streptococcus mutans ATCC 25175." Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado su prestigiosa institución, por lo que se solicita el apoyo a nuestro alumno para pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

Dr. Jose Pereda Calderon
COORDINADOR DE MICROBIOLOGÍA



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 23 de mayo del 2021

Sra. (Srta.)
Dra. **MARILÚ SOTO VÁSQUEZ**
coordinadora de la sección de farmacia y bioquímica de la facultad de medicina de la
UNT
Presente

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarla muy cordialmente en mi condición de Coordinador de Carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco del cumplimiento curricular de la Carrera Profesional de Odontología, muestra alumna, REYES RENGIFO, Maritza Violeta; debe llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de tesis, titulado "Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto, etanólico del propoleo frente a streptococcus mutans ATCC 25175 – Trujillo 2021." Así mismo para realizar el presente trabajo se ha seleccionado su prestigiosa institución, por lo que se solicita el apoyo a muestra alumna para pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de tesis.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

Dr. José Perdomo Escobar
CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

CONSTANCIA DE APOYO EN ASESORÍA

Yo, Elva Manuela Mejía Delgado, docente principal, a tiempo completo, con código UNT: 3147 del Departamento Ciencias Básicas y Coordinadora de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

CERTIFICO:

Estar apoyando en la realización del Proyecto de Tesis titulada: "Efecto antibacteriano, in vitro, del extracto, etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ", cuyo autor es: REYES RENGIFO, Maritza Violeta de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote Filial Trujillo. Por lo cual se le brindará el apoyo necesario posible en la Sección de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

Se expide la presente para los fines correspondientes.

Trujillo, 28 de mayo del 2021



DRA. ELVA MANUELA MEJÍA DELGADO

Dra. Elva Mejía Delgado
FACULTAD DE MEDICINA
Coordinadora de Sección
C. 148

CONSTANCIA

Yo, Marilú Roxana Soto Vásquez, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura N° 06952.

Mediante la presente dejo constancia de estar colaborando en la preparación del extracto etanólico de propóleo a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, en el laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, a la alumna Maritza Violeta Reyes Rengifo, de la Escuela Profesional de Odontología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

Asimismo, la preparación de estos extractos, será utilizada para la ejecución de la tesis titulada: **Efecto antibacteriano, in vitro del extracto etanólico del propoleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - Trujillo 2021.**

Se expide esta constancia, a solicitud del interesado, para los fines que estime pertinentes.

Trujillo 21 de mayo del 2021.




Dña. MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ

Docente Investigadora de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Laboratorio de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO 2



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



**EFECTO ANTIBACTERIANO, *IN VITRO*, DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO
FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS* 25175,
TRUJILLO-2021”**

Nombre del operador:

Fecha:

Nombre del extracto:

Nombre del microorganismo:

Porcentaje que presenta efecto antibacteriano _____

Grupo control _____

PROPÓLEO	CEPAS	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN	GRUPO CONTROL

Fuente: Elaboración propia de la investigadora.

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nombre del operador: Reyes Rengifo Maritza Violeta **Fecha:** 15/05/2021

Nombre del extracto: Extracto Etanólico de Propóleo

Nombre del microorganismo: Streptococcus Mutans ATTC 25175

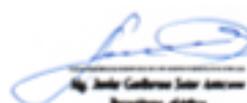
Porcentaje que presenta efecto antibacteriano: 100%

Grupo control : Clorhexidina 0.12%

PROPOLEO	CEPAS	MEDICION DE HALOS DE INHIBICION	GRUPO CONTROL
Concentración 25%	Streptococcus mutans	Resistente	11 halos de 15mm 5 halos de 16 mm
Concentración 50%	Streptococcus mutans	10 halos de 9mm 6 halos de 8mm	
Concentración 75%	Streptococcus mutans	9 halos de 10mm 7 halos de 9mm	
Concentración 100%	Streptococcus mutans	2 halos de 15mm 6 halos de 13mm 8 halos de 14mm	

Datos obtenidos en el Espectrofotómetro

concentración	Medición del halo de inhibición
Concentración 25%	0.43
Concentración 50%	0.78
Concentración 75%	0.85
Concentración 100%	0.98



Mg. T. M. Javier G. Solar Anticona
Investigador Titular
C.I.M.P. 4047

Mg. T. M. Javier G. Solar Anticona

ANEXO 3

PRUEBA DE NORMALIDAD

Prueba de normalidad, Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

Repeticiones	Concentración - Halos de inhibición (mm)				
	25%	50%	75%	100%	Control
1	0	9	10	15	15
2	0	9	9	13	15
3	0	8	9	15	15
4	0	8	10	14	15
5	0	9	9	14	16
6	0	9	10	14	15
7	0	8	10	14	16
8	0	9	9	13	15
9	0	9	9	13	15
10	0	8	10	13	16
11	0	9	10	14	15
12	0	8	10	13	15
13	0	9	10	14	16
14	0	8	9	14	15
15	0	9	9	14	15
16	0	9	10	13	16
Promedio	0.00	8.63	9.56	13.75	15.31
p (sig.)	*	0.000	0.00	0.002	0.000
Prueba	No	No	No	No	No
Shapiro-Wilk	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad	Normalidad

Interpretación: Al tener menos de 30 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde observamos que los datos presentan una distribución no normal, es decir con una significancia menor a 0.05 ($p < 0.05$).

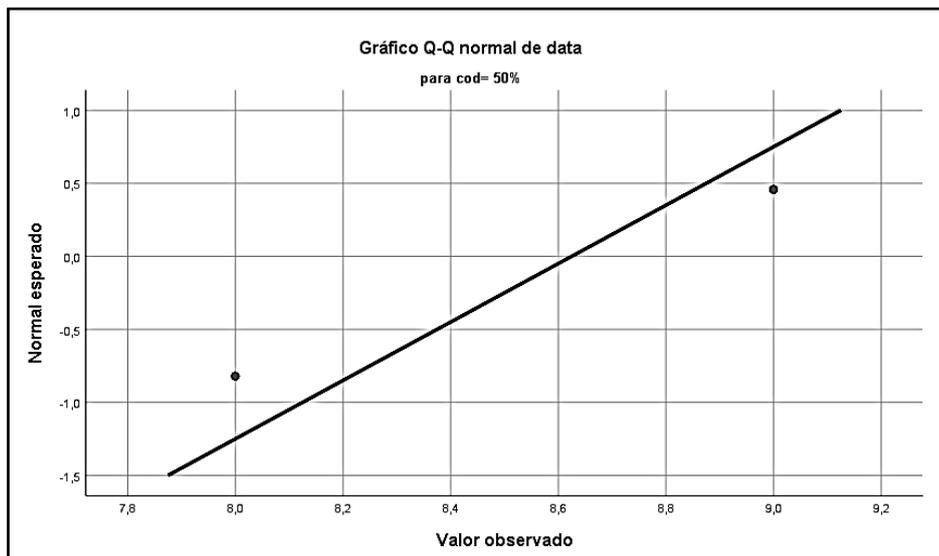
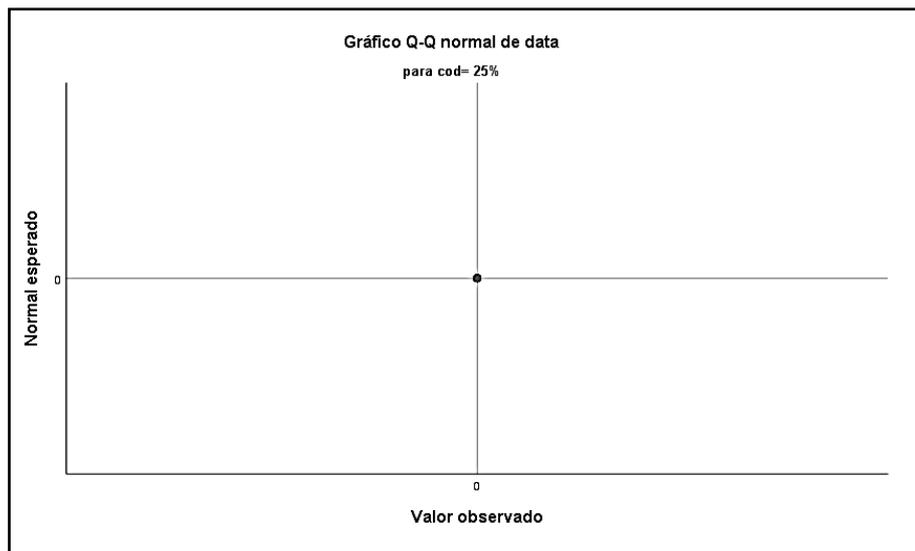
Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentan una distribución normal, es decir se hará uso de pruebas no paramétricas.

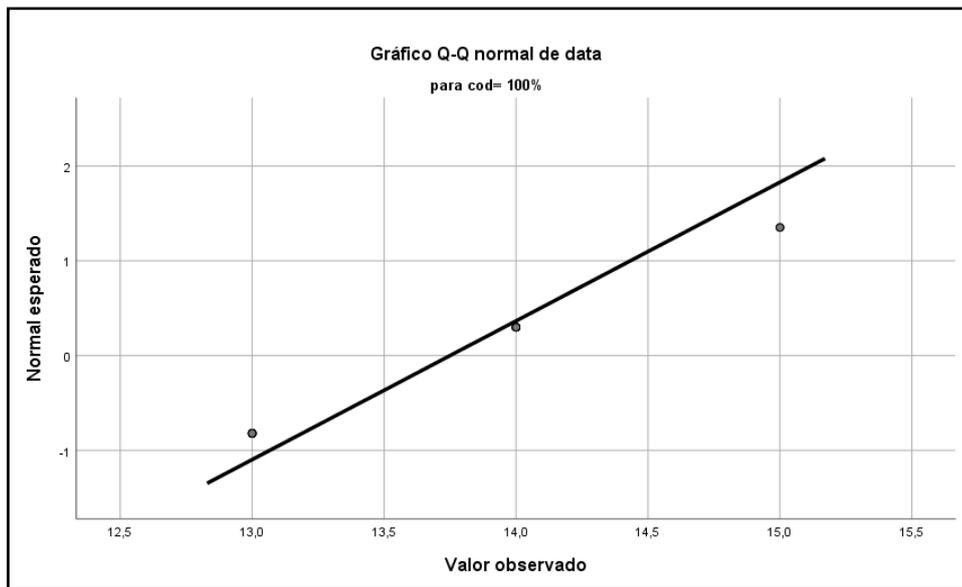
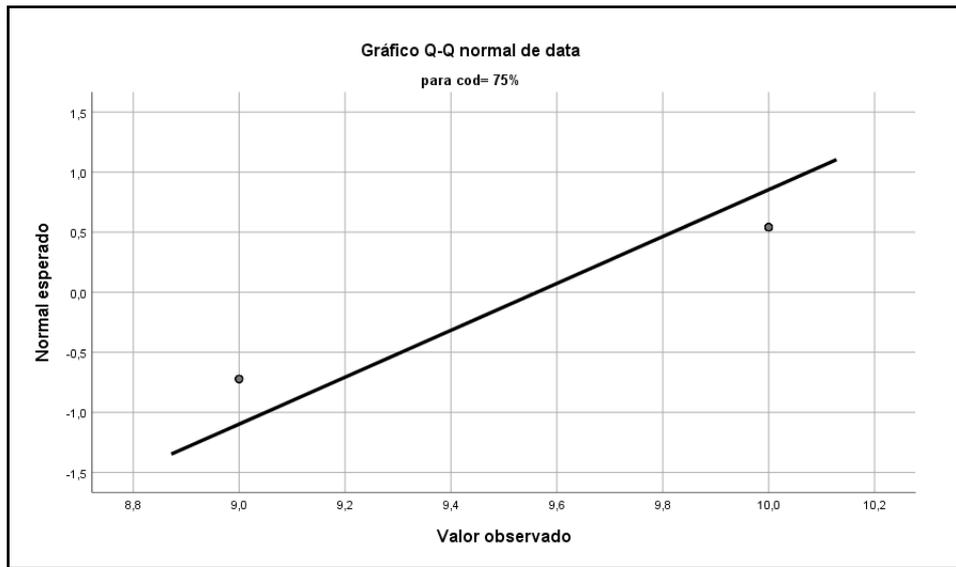
Criterio para determinar la normalidad

P-valor ≥ 0.05 Aceptar H_0 = Los datos provienen de una distribución normal.

P-valor < 0.05 Aceptar H_1 = Los datos provienen de una distribución no normal.

Grafico de normalidad, Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.





CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Tabla 1: Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2285.675	4	571.42	2364.49	0.000
Dentro de grupos	18.125	75	0.24		
Total	2303.800	79			

Fuente: Análisis ANOVA SPSSV.26

Método

Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	Por lo menos una media es diferente.
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$

Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Tratamiento	4	Extracto etanólico del propóleo al 25%, 50%, 75%, 100%

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	4	2285.675	571.42	2364.49	0.000
Error	75	18.125	0.24		
Total	79	2303.800			

Resumen del Modelo

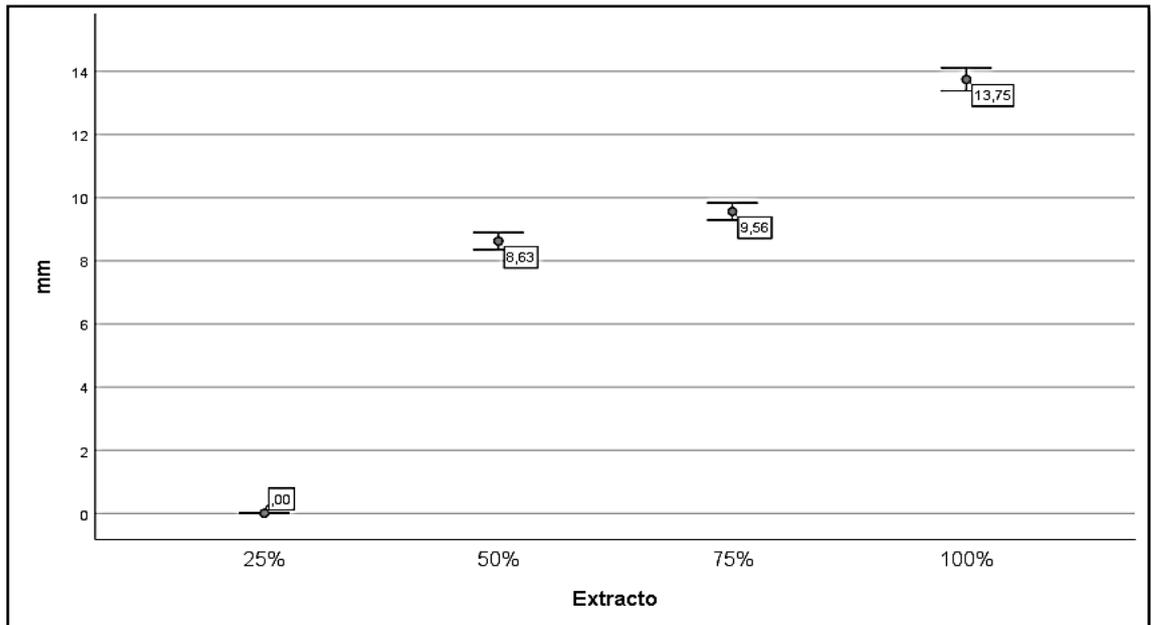
S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
1.8872	73.89%	72.65%	71.96%

Medias

Grupos de tratamiento	N	Media	Desv. Est.	IC de 95%
25%	16	0.00	0.00	(0.00 - 0.00)
50%	16	8.63	0.50	(8.36 - 8.89)
75%	16	9.56	0.51	(9.29 - 9.84)
100%	16	13.75	0.68	(13.39 - 14.11)

El análisis de varianza muestra como resultado que existe una diferencia significativa ($p=0.000$) entre el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo al 25%, 50%, 75%, 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175, Trujillo -2021.

Gráfico 1: Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico del propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo -2021.



Fuente: Análisis ANOVA SPSSV.26

ANEXO 4

FOTOGRAFÍAS DEL PROCEDIMIENTO

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO



Fotografía 1. Pesando 500 g de propóleo



Fotografía 2. Propóleo colocado en refrigeración a 0° C por 24 h.



Fotografía 3. Trituración del propóleo en un mortero.



Fotografía 4. 500 g de polvo de propóleo



Fotografía 5. Colocando 500g de polvo de propóleo en un frasco + 2000 mL de etanol 96°, llevando a extraer con agitación x 48 h.



Fotografía 6. Filtración del extracto etanólico de propóleo con papel de filtro Whatman N° 40.



Fotografía 7. Extracto etanólico de propóleo filtrado.



Fotografía 8. Evaporación del solvente etanol del extracto etanólico de propóleo en el rotaevaporador.



Fotografía 9. Extracto etanólico seco de propóleo.



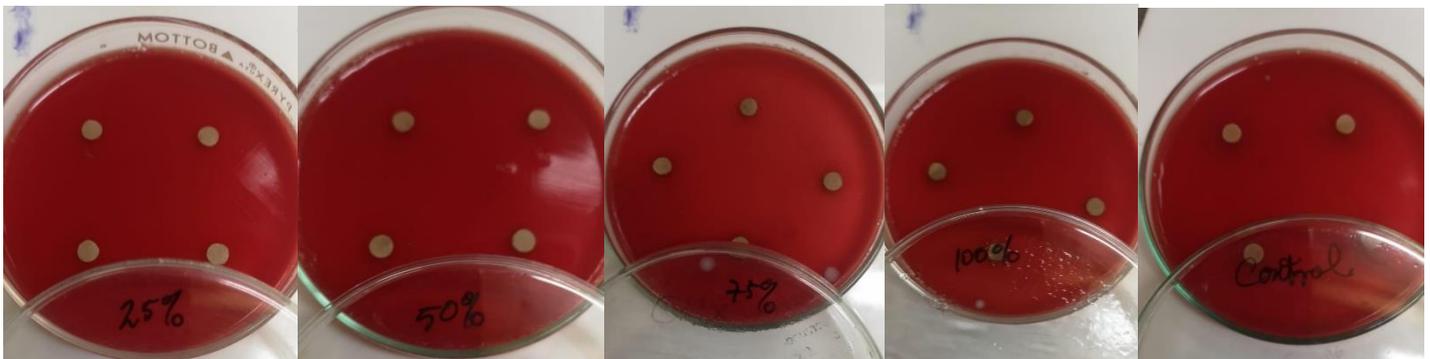
Fotografía 10. Preparación de los extractos etanólicos de propóleo en una fiola de 10 mL.
1).25%, 2). 50% y 3)75% y 4) 100%



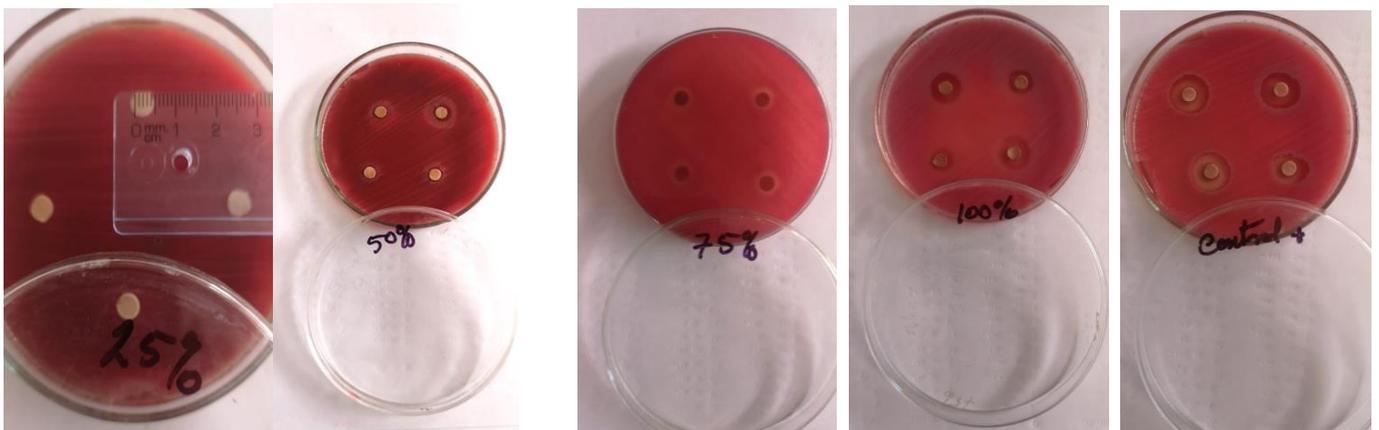
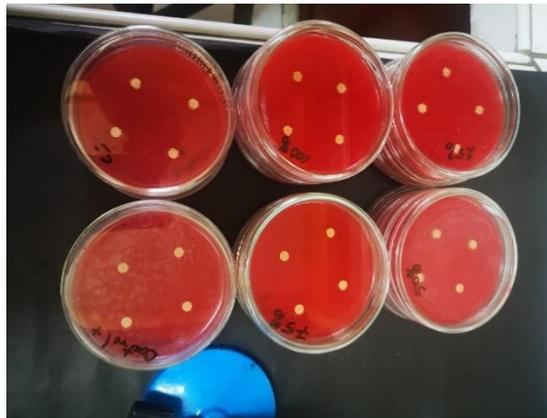
Fotografía 11. Extractos etanólicos de propóleo colocados en frascos de vidrio de color ámbar de concentraciones de 25%,50%, 75% y 100%, listos para ser ensayados.

FOTOGRAFIAS DEL PROCEDIMIENTO

Activación e incubación de placas y aplicación del extracto etanólico del propóleo



Lectura de placas



Determinar la CMI Y CMB



trabajo

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

7%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

hdl.handle.net

Fuente de Internet

7%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo