

UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y GLUCONATO DE
CLORHEXIDINA 0,12% SOBRE CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS
(ATCC 25175)**

TESIS

PRESENTADA POR BACHILLER

HEREDIA CHÁVEZ, NORBIL

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

CIRUJANO DENTISTA

LIMA – PERÚ

2023

Línea de Investigación: Salud Pública

Sub línea de Investigación: Salud Pública Estomatológica

Asesor

MG.ELOY GAMBOA ALVARADO

PRESENTADO POR:

HEREDIA CHÁVEZ, NORBIL

ORCID: 0000-0002-8976-8993

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios por cuidarme y guiarme en todo este largo camino de mi carrera profesional y también doy gracias a mis padres por su apoyo y a mi asesor por guiarme en la culminación de esta tesis.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres por apoyarme y estar a mi lado en los buenos y malos momentos; así como también se lo dedico a todos aquellos amigos que me ayudaron siempre.

RESUMEN

Objetivo: Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materiales y métodos:** Estudio analítico, longitudinal, prospectivo, experimental y nivel explicativo. La unidad de análisis fue la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). El tamaño muestral se determinó mediante prueba estadística de estimación de medias acorde a estudio piloto, la muestra fue $n = 16$ para menor sesgo estadístico. **Resultados:** Al comparar el efecto antibacteriano del EEP al 5%, 10%, 20% y gluconato de CHX al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) mediante la Prueba de Kruskal Wallis, se obtuvo $p=0.000$, por lo que se acepta la hipótesis alterna y existe diferencias estadísticamente significativas del efecto antibacteriano in vitro. **Conclusión:** Existe diferencias estadísticamente significativas del efecto antibacteriano in vitro de los agentes antisépticos sobre la cepa en análisis, destacando el mayor efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina al 0,12%.

Palabras claves: Propóleo, Clorhexidina, *Streptococcus mutans*, actividad antibacteriana.

ABSTRACT

Objective: To compare in vitro the antibacterial effect of the ethanolic extract of propolis and 0.12% chlorhexidine gluconate on a strain of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materials and methods:** Analytical, longitudinal, prospective, experimental study and explanatory level. The unit of analysis was the strain of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). The sample size was determined by statistical test of estimation of means according to the pilot study, the sample was $n = 16$ for less statistical bias. **Results:** When comparing the antibacterial effect of EEP at 5%, 10%, 20% and CHX gluconate at 0.12% on the strain of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) by means of the Kruskal Wallis Test, $p=0.000$ was obtained, therefore that the alternative hypothesis is accepted and there are statistically significant differences in the antibacterial effect in vitro. **Conclusion:** There are statistically significant differences in the in vitro antibacterial effect of the antiseptic agents on the strain under analysis, highlighting the greater in vitro antibacterial effect of 0.12% chlorhexidine gluconate.

Keywords: Propolis, Chlorhexidine, *Streptococcus mutans*, antibacterial activity.

INDICE

CARÁTULA	I
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN	II
ASESOR	III
AGRADECIMIENTO	IV
DEDICATORIA	V
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
ÍNDICE	VIII
INFORME ANTIPLAGIO	X
LISTA DE TABLAS	XII
LISTA DE ANEXOS	XIII
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	17
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	18
3. HIPÓTESIS	27
3.1 HIPÓTESIS GENERAL	27
4. VARIABLES	28
4.1 DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE LA (S) VARIABLE (S)	28
4.2 OPERACIONALIZACIÓN DE LA (S) VARIABLE (S)	28
5. OBJETIVOS	29
5.1 OBJETIVO GENERAL	29
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	30
6.1 DISEÑO METODOLÓGICO	30
6.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	30
6.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN	30
6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	31

6.3 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL Y MUESTREO	31
6.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN	32
6.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS	33
6.6 PROCEDIMIENTOS Y MEDIOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	34
6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
7. RESULTADOS	40
8. DISCUSIÓN	44
9. CONCLUSIONES	49
10. RECOMENDACIONES	50
11. BIBLIOGRAFÍA	51
12. ANEXOS	59

OURIGINAL REPORT TURNITIN

Tesis Bachiller Norbil Heredia Chávez

INFORME DE ORIGINALIDAD

21 %	21 %	6 %	8 %
ÍNDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.upsjb.edu.pe Fuente de Internet	6 %
2	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	3 %
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	3 %
4	repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet	2 %
5	www.researchgate.net Fuente de Internet	1 %
6	repositorio.uct.edu.pe Fuente de Internet	1 %
7	Submitted to Universidad Privada San Juan Bautista Trabajo del estudiante	1 %
8	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1 %
9	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

INFORME DE SIMILITUD GYT-FR 64



UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

INFORME DE VERIFICACIÓN DE SOFTWARE ANTIPLAGIO

FECHA: 20 DE AGOSTO DE 2023

NOMBRE DEL AUTOR (A) / ASESOR (A):

HEREDIA CHÁVEZ NORBIL / Mg. ELOY GAMBOA ALVARADO

TIPO DE PROINVESTIGACIÓN:

- PROYECTO
- TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
- TESIS
- TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL
- ARTICULO
- OTROS

INFORMO SER PROPIETARIO (A) DE LA INVESTIGACIÓN VERIFICADA POR EL SOFTWARE ANTIPLAGIO TURNITIN, EL MISMO TIENE EL SIGUIENTE TÍTULO: COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12% SOBRE CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175)

CULMINADA LA VERIFICACIÓN SE OBTUVO EL SIGUIENTE PORCENTAJE: 21%

Conformidad Autor:

Conformidad Asesor:


Nombre: HEREDIA CHÁVEZ NORBIL
DNI: 47068978


Nombre: Mg. ELOY GAMBOA ALVARADO
DNI: 09879721

Huella:



GYT-FR-64

V.1

14/02/2020

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo al 5% sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175). 40

Tabla 2. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175). 41

Tabla 3. Evaluación cuantitativa in vitro del efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo sobre cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175). Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) 42

Tabla 4. Comparación in vitro del efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo al 5%, 10% , 20% y Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175). 43

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	60
ANEXO 2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL	62
ANEXO 3: CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL CIEI	63
ANEXO 4: DOCUMENTO DE EJECUCIÓN	64
ANEXO 5: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	65
ANEXO 6: AUTORIZACIÓN DE APLICACIÓN DE INSTRUMENTO	66
ANEXO 7: MATRIZ DE CONSISTENCIA	67
ANEXO 8: EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE EJECUCIÓN DE INVESTIGACIÓN	72

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al definir caries dental, nos referimos a una enfermedad infecciosa multifactorial, que altera el eubiosis bucal dañando las piezas dentarias.¹ Siendo muy importante el factor etiológico microbiano, el consumo frecuente y excesivo de carbohidratos son aprovechadas por los microorganismos, especialmente por el *Streptococcus mutans*, bacteria que metaboliza la sacarosa generando ácido láctico capaz de producir la desmineralización de los dientes, favoreciendo la aparición de la caries dental y otras patologías asociadas.² Ante esta situación muchos investigadores han buscado y creado soluciones para contrarrestar estos microorganismos a través del uso de enjuagatorios orales que ayudan a disminuir la carga bacteriana de nuestra cavidad bucal.³

Existe un gran interés en la búsqueda de nuevos productos de origen natural y que al mismo tiempo tengan una amplia actividad biológica, y que puedan ser usados como terapia alternativa o complementaria para la caries dental.⁴

Actualmente el uso de antisépticos orales es casi obligatorio en la terapia convencional, destacando la clorhexidina (CHX) como una sustancia antiséptica con una eficacia de amplio espectro

contra las bacterias gram positivas y negativas; de carga catiónica provocando lisis celular,⁵ siendo usada como sales de gluconato o di gluconato por su excelente hidrosolubilidad.⁶ Si se utiliza concentraciones bajas se muestra como un agente bacteriostático y si se utiliza a altas concentraciones su actividad es bactericida. Ahora, a pesar de sus excelentes propiedades antibacterianas su uso continuo es dificultado por las reacciones adversas en los tejidos orales, como la disgeusia, irritación y discromía dental, siendo necesario alternativas terapéuticas permanentes y naturales.⁷

Entre estas sustancias naturales, una buena alternativa es el propóleo, compuesto de diferentes partículas de resina cerosa viscosa, utilizado por abejas para sellar, protegerse de la luz, la humedad y algunos agentes externos e internos que puedan dañarlas de alguna forma.⁸ Presenta propiedades importantes para el campo de salud como antimicrobiano, antimicótico, cicatrizante, antioxidante, antiinflamatoria y antiviral, destacando su propiedad principal que actúa como antibacteriano debido a la presencia de flavonoides.⁹ Estudios in vitro han demostrado que el extracto etanólico del *Apis mellifera* (propóleo) reacciona eficazmente a las bacterias anaerobias facultativas. En odontología, esta actividad puede ser aprovechada frente al *Streptococcus mutans*.¹⁰ Además comparar los efectos del

propóleo y la CHX, de uso frecuente contra las bacterias cariogénicas, podría brindar una alternativa que supere las contraindicaciones de este producto,¹¹ y que, a diferencia de la CHX, restringida a una concentración entre 0.12% y 0.2%, pueda utilizarse a mayores concentraciones y evitando las alteraciones en cavidad bucal.¹²⁻¹⁴

En cuanto a la justificación e importancia de esta investigación, se habla mucho de promover y prevenir una salud oral en nuestro país, debido a elevados datos estadísticos de caries dental, y que hace necesario nuevos estudios buscando alternativas antibacterianas viables frente al *Streptococcus mutans*. Razón de este estudio para comparar el efecto antimicrobiano que posee el extracto de propóleo vs gluconato de CHX al 0,12% sobre este microorganismo y permitiendo a los profesionales expandir sus conocimientos para la toma de decisiones terapéuticas a seguir con el uso de esta sustancia antimicrobiana de origen natural llamada propóleo frente al uso de la CHX de origen químico.

Por lo descrito, el propósito de este estudio es comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles serán los resultados de la comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de Streptococcus Mutans (ATCC 25175)?

2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

En el 2022, Aziz y col.¹⁵ investigaron las propiedades funcionales y la composición química del aceite extraído del propóleo recolectado de la Región de Baluchistán en Pakistán. Examinaron el aceite de propóleo (PO) en cuanto a composición química, contenido fenólico y flavonoide, y propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Los contenidos de fenólicos y flavonoides fueron $2,388 \pm 1,116$ mg GAE/g y $0,579 \pm 0,140$ mg QE/g. El aceite mostró $64,59 \pm 14,59\%$ inhibición del radical DPPH y actividades antibacterianas significativas contra las bacterias diana. Se encontró que *Salmonella typhi* es altamente sensible ($27,23 \pm 4,35$ mm) a PO, en comparación con *Escherichia coli* ($23,40 \pm 3,21$), *Staphylococcus aureus* ($21,43 \pm 2,80$) y *Klebsiella pneumoniae* ($21,26 \pm 3,25$). (Los valores e MIC y MBS de PO fueron 0,35 y 0,7 mg/mL para *S. typhi* y *E. coli*, mientras que fueron 0,7 y 1,4 mg/mL para *S. aureus*. Además, se encontró que el PO era bacteriostático para *K. pneumoniae*. Se encontró que *Aspergillus flavus* ser altamente sensible a PO, con un porcentaje efectivo de inhibición del crecimiento del 73%, seguido de *Aspergillus niger* (70%), mientras que *Aspergillus parasiticus* fue menos sensible con una inhibición del crecimiento del 25%. Los grupos funcionales en PO se determinaron con un FTIR espectrofotómetro, y grupos de alcohol, alcano, aldehídos, alquenos y cetonas estaban presentes. El análisis reveló la presencia de 27 compuestos medicinales diferentes, entre los que se encuentran α -

copaneno (29,85 %), benzoato de bencilo (26,8 %), 2,4-bis[1-(4-hidroxifenil)isopropil]fenol, acetofenona (14,92 %), aldehído undecilénico (7,46 %), p-linalool (5,9 %) y 3-fenilpropionato de etilo (4,47%) se encontraron en abundancia. Se concluyó en este estudio que varios compuestos bioactivos están presentes en PO extraído de propóleos de Baluchistán, que tiene buenos antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, y potencial funcional significativo de los soportes de aceite de propóleos para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas. Mucho de los compuestos encontrados en este estudio, son usados como ingredientes farmacéuticos e industriales comunes utilizados en diferentes aplicaciones medicinales e industriales. La presencia de estos compuestos hace del propóleo de esta región un importante candidato para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas.

En el 2022, Kiani y col.¹⁶ evaluaron la eficacia clínica de un enjuague bucal que contiene propóleos en el tratamiento de la gingivitis. Este ensayo clínico evaluó a 32 pacientes con gingivitis en dos grupos (n=16). El grupo de intervención recibió un enjuague bucal que contenía extracto de propóleo mientras que el grupo control recibió el mismo enjuague bucal sin extracto de propóleo. El índice de sangrado papilar (PBI), el índice de placa (PI) y la decoloración de los dientes se evaluaron en cada paciente al inicio (antes de la intervención) ya los 15 y 30 días, después del tratamiento. Para facilitar las evaluaciones de

seguimiento, las medidas se registraron para el diente con la encía más inflamada en cada cuadrante (n = 128). Los dos grupos se compararon mediante la prueba de Mann-Whitney. El cambio de PI fue de $85,19 \pm 51,6\%$ en el propóleo y $83,93 \pm 36,1\%$ en el grupo placebo sin diferencia significativa entre ellos ($p = 0,91$). La reducción del índice de sangrado papilar fue significativamente mayor en el grupo de propóleos en comparación con el grupo de placebo ($p < 0,001$). El cambio en el color de los dientes con el tiempo fue significativo en el grupo de placebo e insignificante en el grupo de propóleos ($p = 0,14$). Basados en los resultados obtenidos los autores llegaron a la conclusión de que el enjuague bucal de propóleo puede disminuir de manera efectiva la inflamación y el sangrado gingival, sin causar decoloración o tinción de los dientes. Teniendo en cuenta las limitaciones de este estudio, como el pequeño tamaño de la muestra (basado en los participantes y también en la cantidad de dientes incluidos en el estudio), se justifican estudios futuros sobre este tema.

En el 2021, Checalla-Collatupa y col.¹⁷ realizaron una investigación con el objetivo de caracterizar químicamente un extracto etanólico de propóleo peruano y evaluar su actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trabajaron con concentraciones de extracto etanólico de propóleo en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% que fueron maceradas en alcohol al 70% por 15 días e incubadas por 48 horas. Obtuvieron como resultados que todas las

concentraciones de propóleo tuvieron un efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* mostrándose como sensible (+) y muy sensible (++) para todas las concentraciones; mientras que la clorhexidina al 0,12 % se mostró como sumamente sensible (+++) frente al *Streptococcus mutans* ($24,543 \pm 2,486$ mm).

Llegando a la conclusión que el extracto de propóleo peruano tiene actividad antibacteriana significativa considerada como sensible y muy sensible frente al *Streptococcus mutans*.

En el 2020, Sadrzadeh y col.¹⁸ realizaron su investigación con el objetivo de comparar los efectos antimicrobianos del propóleo y la clorhexidina en cepas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* por medio de cultivo in vitro, en las cuales se pudo observar que la clorhexidina tuvo mayor efectividad antibacteriana y antifúngica que el propóleo. Los resultados demostraron que la CMI del propóleo frente a *S. mutans* fue de 1875 µg/ml, siendo esta misma concentración para CMB. Mientras que en sinergismo con la clorhexidina los valores de la CMI fueron de 234 µg/ml y 7.81 µg/ml respectivamente. Y al combinar estas dos sustancias se observó la inhibición de las cepas bacterianas a excepción de *C. albicans* y *S. aureus*. Los autores concluyeron que acorde a los resultados de este estudio se revela que el propóleo era menos eficaz en la inhibición de bacterias que CHX en su estado planctónico y se

sugirió que propóleos no podría ser tan eficaz como CHX en microorganismos orales en su estado planctónico; por lo que es necesario realizar investigaciones sobre especies aisladas de biopelículas orales para obtener resultados complementarios.

En el 2020, Checalla ¹⁹ evaluó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Trabajándose con concentraciones al 25%, 50% y 75% de extracto de propóleo que fueron maceradas en alcohol al 70% por 19 días e incubadas por 48 horas. Pudo obtener como resultados que el extracto de propóleo en todas sus concentraciones mostró un efecto antimicrobiano con halos de inhibición para el extracto de propóleo al 25% fue muy sensible (++) , para el extracto etanólico de propóleo al 50% fue muy sensible (++) y para el extracto de propóleo al 75% fue muy sensible (++) , mientras que para la clorhexidina al 0,12% fue sumamente sensible (+++). Llegando a la conclusión que los efectos antibacterianos en distintas concentraciones del extracto de propóleo peruano presentan valores favorables como muy sensible frente al *S. mutans* ATCC 25175.

En el 2019, Becerra y col.²⁰ compararon la actividad microbiana de diferentes extractos de propóleo recolectados en distintas estaciones frente al *Streptococcus mutans* comparándolo con la clorhexidina al 0,12% para los controles positivos, observándose que el propóleo recolectado en el otoño y el verano los halos de inhibición fueron 26,4

$\pm 2,6$ y $18,2 \pm 1,8$ mm respectivamente, y los controles negativos fueron 0 y positivos 13 mm, muestras que fueron analizadas con la prueba t de Student. Concluyendo que los extractos de propóleo que se elaboraron en otoño tuvieron un mayor crecimiento del *Streptococcus mutans* a diferencia de la muestra recolectada en verano, indicando que las estaciones en la recolecta del propóleo puede influir en la actividad microbiana.

En el 2019, Nazeri y col.²¹ determinaron el efecto antimicrobiano del propóleo versus el enjuague bucal a base de clorhexidina, utilizando muestras de saliva de ratas de laboratorio para los cultivos en agar, observándose que en las muestras de saliva a las 12 horas, 1 semana y 2 semanas hubo un efecto mayor del propóleo frente a la clorhexidina. En cuanto a *S. mutans*, el propóleo fue más eficiente que otros enjuagues bucales y resultó en una mayor reducción en el número de *S. mutans* que CHX y Listerine ($P=0.024$ y 0.001 , respectivamente). A diferencia del grupo Listerine, el número de *S. mutans* en los grupos propóleos y CHX regresaron al nivel de referencia después de dos semanas ($P = 0,645$ y $0,056$, respectivamente). Después de una semana, el número de colonias de *S. mutans* no alcanzó el nivel de referencia en el propóleo grupo, mientras que en los grupos Listerine y CHX, alcanzó el nivel de referencia después de una semana. Se concluyó que el enjuague a base de propóleo mostró una diferencia significativa a comparación de la clorhexidina.

En el 2018, Porwal y col.²² llevaron a cabo su investigación con el objetivo de comparar la efectividad entre la clorhexidina, el propóleo crudo y de peróxido de hidrógeno sobre la placa bacteriana y la inflamación gingival en una población formada por 30 personas entre las edades de 20-40 años y que fueron evaluados a los 7 y 28 días. Los resultados mostraron que los tres enjuagues bucales fueron efectivos para reducir la placa y la inflamación. Siendo el gluconato de clorhexidina al 0,2% el más eficaz para la reducción de la placa dental. Se observó que el propóleo crudo es el más efectivo para reducir la inflamación gingival durante un período de 7 días y 28 días. Cuando la comparación intragrupo se observó que los valores del índice de placa y del índice gingival modificado se redujeron de $3,26 \pm 0,53$ a $1,10 \pm 0,35$ a los 7 días a $0,82 \pm 0,45$ a al final de 28 días y de $3,04 \pm 0,23$ a $0,50 \pm 0,25$ a los 7 días a $0,54 \pm 0,35$ al final de los 28 días respectivamente. Además, los resultados de este estudio sugieren que el propóleo crudo tiene un efecto inhibitor de la placa que es estadísticamente igual al enjuague bucal con clorhexidina y es más potente que el gluconato de clorhexidina y el peróxido de hidrógeno al 3% para reducir la inflamación gingival. Los autores llegaron a la conclusión de que el propóleo puede ser una alternativa a la clorhexidina como enjuagatorio oral sin efectos secundarios para reducir la inflamación gingival.

En el 2018, Baca ²³ comparó la efectividad antibacteriana de los extractos etanólicos de propóleo recolectado en Santiago de Chuco en las estaciones de verano y otoño sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Muestras que fueron recolectadas en distintas estaciones fueron diferencias como A y B, preparándose extractos etanólicos de propóleo al 5%. Se obtuvo como resultados que para el extracto de propóleo que se recolectó en otoño presentó un halo de inhibición de 26.4 ± 2.6 mm y para el extracto recolectado en verano presentó un halo de 18.2 ± 1.8 , 0 mm para el control negativo y 13 mm para el control positivo con clorhexidina al 0.12%, llegando a observarse que el extracto recolectado en otoño presentó mayor efecto antibacteriano a comparación del recolectado en verano. Llegando a la conclusión que la estación que se recolecta el extracto de propóleo influye sobre el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

En el 2017, Rajani y Akash ²⁴ realizaron una investigación con el objetivo de medir el efecto antimicrobiano del propóleo y la clorhexidina frente al *Streptococcus mutans*, a través del medio in vitro utilizando la prueba de sensibilidad de Muller-Hinton en un lapso de 24 horas para observar el crecimiento bacteriano, observando que la inhibición máxima del *Streptococcus mutans* con el uso de propóleo fue de 14,6 mm y la clorhexidina fue de 14 mm. Concluyendo que el efecto antibacteriano del propóleo es tan bueno como la clorhexidina frente al *Streptococcus mutans*.

3. HIPÓTESIS

3.1. HIPOTESIS GENERAL

HA: Existen diferencias significativas entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

H0: Existen diferencias significativas entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

3.2. HIPOTESIS ESPECIFICAS

- El extracto etanólico de propóleo al 5%, 10%, 20% posee un elevado efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas.
- El gluconato de clorhexidina al 0,12% posee un elevado efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas.
- El extracto etanólico de propóleo posee una baja concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas.

4. VARIABLES

4.1 DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE LA (S) VARIABLE (S)

- **Agentes antibacterianos (extracto de propóleo y gluconato de clorhexidina):** El extracto de propóleo es un compuesto resinoso natural con propiedades antimicrobianas que elaboran las abejas para proteger la colmena de agentes externos,²⁵ y el gluconato de clorhexidina es una sustancia química utilizado como el antiséptico más recetado en el campo odontológico por su buena actividad antibacteriana de larga duración y amplio espectro.²⁶
- **Cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25175):** El *Streptococcus mutans* es una bacteria Gram positiva, considerado como el principal patógeno que promueve el desarrollo y aparición de la caries dental.²⁷
- **Efecto antibacteriano in vitro:** El efecto antimicrobiano es la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano que poseen algunas sustancias de origen químico o natural para impedir su desarrollo o generar su destrucción.²⁸

4.1 DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE LA (S) VARIABLE (S)

La operacionalización de las variables del presente estudio se presentó en el **ANEXO 1**.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 5%, 10%, 20% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas.
- Determinar in vitro el efecto antibacteriano del gluconato de clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto etanólico de propóleo sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1 DISEÑO METODOLÓGICO

Experimental in vitro

6.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

- **POR EL NÚMERO DE VARIABLES:** Analítico, debido a que se evaluó estadísticamente el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- **POR EL NÚMERO DE MEDICIONES:** Longitudinal, porque se realizó varias mediciones de la variable de estudio.
- **SEGÚN LA FUENTE DE RECOLECCIÓN DE DATOS:** Prospectivo porque los datos fueron registrados según ocurrían los hechos.
- **POR LA INTERVENCIÓN:** Experimental porque el investigador si intervino en la manipulación de las variables.

6.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Explicativo debido a que se evaluaron las diferencias de causa y efecto entre las soluciones antimicrobianas (Extracto de propóleo y gluconato de clorhexidina al 0.12%), que se utilizaron para controlar el crecimiento del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

6.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La unidad de análisis fue la Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175), y se formaron 5 Grupos de estudio experimentales. Al realizarse el estudio piloto, la población ascendió a $N = 50$, divididos en 10 para cada grupo. Tras los resultados y aplicando estimación de medias la muestra fue $n = 7$, pero para obtener menor sesgo estadístico se utilizó $n = 16$.

6.3 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL Y MUESTREO

El tamaño muestral se determinó mediante prueba estadística de estimación de medias (**ANEXO 2**), basada en los datos recolectados del estudio piloto previo, siendo $n = 6,78 <> 7$ por cada grupo experimental. El presente estudio utilizó una muestra de $n = 16$ para menor sesgo estadístico. La selección de la muestra se realizó mediante muestreo aleatorio simple y respetando los criterios de selección. Siendo los grupos experimentales los siguientes:

- Grupo 01: Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) vs Extracto etanólico de propóleo al 5%.
- Grupo 02: Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) vs Extracto etanólico de propóleo al 10%.
- Grupo 03: Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) vs Extracto etanólico de propóleo al 20%.

- Grupo 04: Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) vs Extracto etanólico de propóleo vs CHX 0.12%.
- Grupo 05: Control Negativo Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) vs Extracto etanólico de propóleo vs Agua destilada.

6.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

• CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175).
- Extracto de propóleo al 5%, 10% y 20%.
- Gluconato de Clorhexidina al 0.12%.
- Cultivos incubados a 24, 48 y 72 horas.
- Medios de cultivo no contaminados y estériles.
- Placa Petri y tubos de ensayo en buen estado.

• CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) sembradas en placas petri no estériles o presentaron fracturas que ocasionaron la contaminación de los medios de cultivo contenidos.
- Cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) sembradas en placas petri con medios de cultivo expuestos, por manipulación inadecuada, a microorganismos ambientales.

6.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio de investigación fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) mediante Constancia N° 926 – 2022 – CIEI - UPSJB. Se acogió a las normas éticas básicas de la Declaración de Helsinki adoptada y modificada, en el cual el estudio que se realizó no presentó ningún tipo de riesgo, ya que fue in vitro, sin colocar alguna sustancia que pueda perjudicar, o causar algún tipo de daño en la salud de las personas; siguiendo los protocolos de bioseguridad en laboratorio exigidos por las Normas Gubernamentales debido a la coyuntura sanitaria por la pandemia COVID 19. La manipulación de los desechos se realizó según las especificaciones de la OMS.

Los datos obtenidos se descargaron en una base de datos Excel 14.0 para luego ser cargados al SPSS v25 (Statistical Package for Social Sciences) y que al finalizar el estudio fueron desechados.

6.6 PROCEDIMIENTOS Y MEDIOS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Para esta investigación la técnica que se utilizó fue la observación para la medición directa de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano. Y el instrumento que se empleó para la recolectar de información fue una ficha de recolección de datos, en la cual se registró de forma ordenada los datos que se obtuvieron de las medidas en milímetros durante la observación de los halos inhibitorios de crecimiento bacteriano en cada placa Petri, que fueron embebidos con extracto de propóleo al 5%, 10% y 20%. El registro se llevó a cabo a las 24 horas, el segundo a las 48 horas y el tercero a las 72 horas de haberse realizado el cultivo de las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) (**Anexo 3**).

La recolección del propóleo se realizó en el Meliponario Yantaló distrito de la provincia de Moyobamba, con la ayuda y supervisión de un apicultor con certificación de la Asociación de Apicultores de San Martín; a través de la técnica del raspado con ayuda espátulas, bajo condiciones de higiene, impidiendo que sean contaminados y separando de restos que puedan afectar su composición; luego fue colocado en un frasco de coloración ámbar y transportado hasta el laboratorio de Microbiología del Hospital II – 1 de Moyobamba para realizar el procesado.

La obtención del extracto de propóleo se realizó con la ayuda y supervisión de un químico farmacéutico, para la obtención de esta solución primero se procedió a lavar el propóleo recolectado con agua destilada, y se dejó secar a temperatura ambiente, luego se cortó en trozos y se trituró con ayuda de un mortero hasta conseguir partículas más pequeñas, se pesó 250 gr de propóleo y se colocó en un frasco de vidrio estéril de 1000 ml, se añadió 600 ml de alcohol de 70° cubriendo todo el propóleo, y se recubrió completamente todo el frasco con papel aluminio para aislarlo de la luz; dejándolo a macerar por 15 días a temperatura ambiente, y se agitó tres veces al día por un lapso de 10 minutos.

Completado el tiempo de maceración, se retiró la envoltura de papel aluminio y se procedió a realizar la filtración de la solución varias veces utilizando un embudo, un matraz Erlenmeyer y doble papel filtro Whatman N°42 para obtener el extracto etanólico de propóleo; luego se vació la solución a un vaso de precipitado y se llevó la solución a una estufa a una temperatura de 50°C para la eliminar el etanol y obtener extracto blando de propóleo puro.²⁹

Después se procedió a realizar una prueba microbiológica para verificar si la solución estaba contaminada, con un hisopo estéril se extrajo extracto blando de propóleo y se sembró en un cultivo con agar TSA, se incubó por 48 horas a 35° +-2°C y se observó el resultado. Luego se preparó las concentraciones de propóleo

requeridas en la investigación; para la concentración del 5% de propóleo se extrajo y colocó 5 ml de extracto blando de propóleo en un frasco color ámbar y se añadió 95 ml de alcohol de 70°. La concentración del 10% de propóleo se extrajo y colocó 10 ml de extracto blando de propóleo en un frasco color ámbar y se añadió 90 ml de alcohol de 70°. Y finalmente para la concentración del 20% de propóleo se extrajo y colocó 20 ml de extracto blando de propóleo en un frasco color ámbar y se añadió 80 ml de alcohol de 70°.

El gluconato de clorhexidina al 0,12% que se seleccionó para esta investigación es la que se encuentra comercialmente como ORALGENE y el suero fisiológico que se seleccionó es el NaCl 0,9%.

La cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue reactivada en Agar TSA (Trypticase Soya Agar) contenido en placas Petri de 94 x 16 mm, en anaerobiosis controlada, a 37°C y durante 72 horas según las especificaciones del fabricante. Posteriormente se procedió a aislar una azada de colonias bacterianas, y usadas para la estandarización del ensayo mediante la preparación de un inóculo a 0,5 en la escala de McFarland. La suspensión bacteriana fue sembrada de manera homogénea en todas las placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton elaboradas previamente y a las cuales con la ayuda de un sacabocados se le realizó 05

perforaciones de 6 mm de diámetro para evaluar la sensibilidad antibacteriana de los extractos mediante la técnica de los pocillos. A cada pocillo se le agregó 100 µl de extracto etanólico a 5%, 10% y 20%, Clorhexidina al 0.12% y agua destilada como control negativo, acorde a grupos de estudio experimentales establecidos. Todo el procedimiento fue realizado bajo una campana de bioseguridad tipo II para evitar contaminación ambiental y cruzada. Las placas fueron incubadas en anaerobiosis controlada a 37°C durante 24 h, 48 h y 72 horas y luego se procedió a realizar las lecturas de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.³⁰

Para la medición de los halos de inhibición se usó un pie de Rey Mitutoyo. Se realizó en tres momentos, la primera medición se realizó a las 24 horas, segunda medición a las 48 horas y la tercera a las 72 horas. Se midió el diámetro de los halos sobre el *Streptococcus mutans* con los valores de: Sensibilidad nula o resistente (-) igual a 0-8 mm; límite Intermedio o sensible (+) entre 9-14 mm; sensibilidad media o muy sensible (++) de 15-19 mm, y sumamente sensible o S.S. (+++) de 20 mm a más.^{31,32}

Para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se realizó mediante un método de dilución en serie para el extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo).³³ Se preparó una serie de 10 tubos de las cuales el primero contenía 1 ml de caldo nutritivo BHI. Al primer tubo se le añadió 1ml de extracto etanólico de propóleo

homogenizado y de este modo se tomó 1 ml del primer tubo al tubo siguiente procediendo así con los tubos restantes. Se añadió 100 μ l del inóculo debajo de la superficie a cada uno de los tubos ajustado espectrofotométricamente a 5×10^5 . Se prepararon dos tubos adicionales para controlar el crecimiento bacteriano y su esterilidad. La concentración más baja de propóleo que eliminó el crecimiento visible de colonias bacterianas sobre la placa se definió como la Concentración Mínima Bactericida (CMB).³³

Al momento de finalizar los procedimientos los desechos fueron introducidos en una bolsa plástica para materiales infectocontagiosos y se introdujeron dentro del contenedor de desechos infecciosos del Laboratorio de Microbiología del Hospital II – 1 de Moyobamba, respetando los protocolos para el manejo de residuos.

6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las fichas de recolección de datos fueron organizadas e ingresadas en el programa Microsoft Excel para luego elaborar la base de datos del presente estudio. Posteriormente esta fue ingresada al programa estadístico informático IBM SPSS Statistic versión 25.0 para Windows 10. Luego se procedió a realizar el análisis estadístico para lo cual primero se determinó la normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk debido al tamaño de la muestra, encontrándose que los datos no tenían normalidad. Por lo que se procedió a realizar pruebas de estadística descriptiva como media y desviación estándar; mientras que para el análisis inferencial y contrastación de hipótesis se aplicó la prueba de Kruskal Wallis, considerando una significancia estadística de $p < 0,05$.

7. RESULTADOS

Tabla 1. Evaluación in vitro el efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo al 5%,10% y 20% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) Media \pm DS (mm)								
Extracto Etanólico de Propóleo [%]	24hrs	p*	48hrs	p*	72hrs	p*	CP	p*
[5%]	9,62 \pm 0,80	0,000	11,00 \pm 0,89	0,001	11,68 \pm 1,25	0,005		
[10%]	21,43 \pm 0,51	0,000	21,87 \pm 0,71	0,000	21,87 \pm 0,71	0,000	32,80 \pm 0,36	0,531
[20%]	23,31 \pm 1,25	0,000	23,31 \pm 1,25	0,000	23,31 \pm 1,25	0,000		

CP: control positivo Amoxicilina [500mg/5ml]. Medidas en mm.

* Test de Shapiro – Wilk $p > 0.05$

Interpretación: En la tabla 1, se observa que el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (EEP) al 5% evidencia mayor efecto a las 72 horas con una media y DS de $11,68 \pm 1,25$ indicando la cepa sensibilidad (+) o sensibilidad baja según Escala de Duraffourd. Asimismo, el EEP al 10% evidenció mayor efecto a las 48 y 72 horas con $21,87 \pm 0,71$ mm siendo la cepa sumamente sensible (+++); mientras que el EEP al 20% presentó efecto contante a las 24, 48 y 72 horas con $23,31 \pm 1,25$ mm y la cepa cepa sumamente sensible (++) a esta concentración.

Tabla 2. Evaluación in vitro el efecto antibacteriano del Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175).

<i>Streptococcus mutans (ATCC 25175) Media ± DS (mm)</i>								
Gluconato de Clorhexidina [%]	24hrs	p*	48hrs	p*	72hrs	p*	CP	p*
[0,12%]	24,75 ± 0,68	0,002	24,75 ± 0,68	0,002	24,75 ± 0,68	0,002	32,80 ± 0,36	0,531

CP: control positivo Amoxicilina [500mg/5ml]. Medidas en mm.

* Test de Shapiro – Wilk $p > 0.05$

Interpretación: En la tabla 2, se observa que el efecto antibacteriano del Gluconato de Clorhexidina (CHX) 0,12% asciende a $24,75 \pm 0,68$ mm constante a las 24, 48 y 72 horas, evidenciando así que la cepa bacteriana es sumamente sensible (+++) a este agente antiséptico.

Tabla 3. Evaluación cuantitativa in vitro el efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo sobre cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Crecimiento	Stock 50000 µg/ml	25000 µg/ml	12500 µg/ml	6250 µg/ml	3125 µg/ml	1562,5 µg/ml	781,25 µg/ml	390,62 µg/ml	195,31 µg/ml	CP
En tubo	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
En placa	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

CP: control positivo (caldo y agar BHI con inoculación de *S. mutans* sin extracto etanólico de propóleo)

Interpretación: En la tabla 3, se observa que el efecto antibacteriano in vitro acorde a método cuantitativo del Extracto Etanólico de Propóleo, evidencia que el CMI asciende a 1562,5 µg/ml, mientras que el CMB es 3125 µg/ml, representando el efecto bacteriostático y bactericida respectivamente frente a la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Tabla 4. Comparación in vitro el efecto antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo al 5%, 10% , 20% y Gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Cepa / Media ± DS (mm)	Extracto Etanólico de Propóleo 5 %	Extracto Etanólico de Propóleo 10 %	Extracto Etanólico de Propóleo 20 %	CHX 0,12%	p*
<i>S. mutans</i>	11,68 ± 1,25	21,87 ± 0,71	23,31 ± 1,25	24,75 ± 0,68	0,000

Todos los valores de medidas en mm

* Prueba de Kruskal Wallis $p < 0.05$

Interpretación: En la tabla 4, al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico al 5%, 10%, 20% y el gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) mediante la Prueba de Kruskal Wallis, se obtuvo $p=0,000$, por lo que se acepta la hipótesis alterna y se llega a la conclusión que existe diferencias estadísticamente significativas del efecto antibacteriano in vitro de los agentes antisépticos sobre las cepa en análisis, destacando el mayor efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina al 0,12%.

8. DISCUSIÓN

Definitivamente los colutorios son unos de los recursos más utilizados para el control y mantenimiento de la microbiota oral y al actuar como agentes antisépticos evitan su multiplicación y diseminación. De fácil uso, refrescantes y tienen la capacidad de acceder a los microorganismos inclusive en zonas anatómicas orales de mayor dificultad.³⁴ Asimismo, el principal componente usado en los colutorios es el gluconato de clorhexidina (CHX) al 0,12%, agente que posee una excelente actividad antimicrobiana pero con varias reacciones adversas medicamentosas que impiden su uso continuo, lo que hace necesario buscar alternativas naturales que posean similar actividad antimicrobiana pero con menores reacciones adversas que favorezcan el uso permanente. Una buena alternativa es el propóleo, de propiedades antibacteriana importante debido a la presencia de flavonoides,⁹ sobretodo frente a cocos Gram positivos como el *Streptococcus mutans*, bacteria anaerobia facultativa perteneciente al biofilm oral.¹⁰ Por lo que el propósito de este estudio fue comparar los efectos del extracto etanólico de propóleo (EEP) a las concentraciones de 5%, 10%, 20% y la CHX al 0,12%.

Los resultados evidencian que el EEP(extracto etanólico de propóleo) a diferentes concentraciones y periodos de tiempo, obtuvieron mejores efectos antibacteriano a las 72 horas, con medias de $21,87 \pm 0,71$ mm y $23,31 \pm 1,25$ mm para las concentraciones de 10% y 20% respectivamente, mientras que

el CHX AL 0,12% mantuvo un efecto constante a las 24, 48 y 72 horas con una media de $24,75 \pm 0,68$ mm; lo que implica que la cepa *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) es sumamente sensible (+++), según escala de Duraffourd, a los tres agentes pero con mejor efecto del CHX 0,12%.

Con respecto al EEP al 20% con media de $23,31 \pm 1,25$ mm este resultado difiere con los resultados obtenidos por Checalla-Collatupa y Sánchez-Tito¹⁷ con una media de $17,201 \pm 1,305$ mm de extracto de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*, teniendo la cepa sensibilidad media o muy sensible (++) acorde a Duraffourd; así también difiere con el resultado obtenido por Checalla¹⁹ quien encontró una media de 17.5831 ± 2.5773 mm de un extracto de propóleo a una concentración de 25%. Asimismo; es similar a los resultados obtenidos por Becerra y col.²⁰ quienes obtuvieron una media de $26,4 \pm 2,58$ mm con la salvedad de que el propóleo usado en este estudio fue recolectado en la zona geográfica de Santiago de Chuco durante la estación de otoño, situación que implicaría la influencia geográfica y estacional en el efecto antibacteriano del propóleo. Situación que estaría siendo confirmada por los resultados de Baca²³ y que difieren con los de este estudio con una media de 18.2 ± 1.8 mm pero recolectado en el verano. También existe diferencia de nuestros resultados con los de Rajani y col.²⁴ quienes expusieron la cepa a extracto de propóleo crudo procedente de Mangalore India, con una media de 14,6 mm que reforzaría la influencia geográfica y climática en el efecto antimicrobiano del propóleo. Cabe resaltar que esto es refrendado por Garcia-Espinoza y col.³⁵ quienes refieren que la composición

y concentración de los componentes del propóleo peruano está ligada al área geográfica y clima en el cual se realiza la actividad apícola y que sustenta la actividad antimicrobiana sobre microorganismos del biofilm dental, incluyendo al *Streptococcus mutans*, y que además basándose en esto se sustentaría las diferencias con los resultados de otros estudios debido a que el propóleo usado en esta investigación es originario de la región de Moyobamba, San Martín – Perú.

Con respecto al método cuantitativo usado para determinar el efecto antibacteriano cuantitativo del EEP, se determinó que la CMI y CMB ascienden a 1562,5 µg /ml y 3125 µg /ml respectivamente sobre la cepa de *Streptococcus mutans*; y que en cuanto al CMI, esta concentración es relativamente similar al resultado encontrando por Sadrzadeh-Afshar y col.¹⁸ ascendente a 1875 µg /ml usando de igual manera un extracto etanólico de propóleo; mientras que difiere con lo obtenido por Nazeri y col.²¹ que obtuvieron un CMI de 300 µg /ml frente al mismo microorganismo. Es necesario destacar que las muestras de propóleo de estos estudios de referencia fueron obtenidas de dos regiones diferentes de Irán, lo que confirmaría la influencia geográfica y climática antes mencionada.

Al realizar la comparación del efecto antibacteriano se encontró que la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) es sumamente sensible (+++) al EEP al 10% y 20% similar que la CHX al 0,12% sustentado incluso con el método cualitativo; si bien al realizar la pruebas inferenciales existe diferencias estadísticamente significativas, el hecho es que el efecto

antibacteriano del EEP es menor que el CHX pero por muy poco margen, lo que sustentaría la aplicación de EEP como agente antiséptico de colutorios experimentales que sustituyan a la CHX y que puedan ser usados de manera continua y no periódica como el gold estándar. Por lo que sería necesario que se realicen otras investigaciones con nuestra muestra de propóleo en colutorios y si es posible en otras presentaciones, con la salvedad de analizar el efecto citotóxico tan necesario para la aplicación sobre tejidos humanos y mas aun en la cavidad oral; aunque al ser un agente natural esta citotoxicidad sería mínima pero a corroborar necesariamente.

La presente investigación tuvo justamente la limitación de no realizar métodos que determinen el efecto citotóxico del EEP, por lo que se recomendaría que se realicen otros estudios confirmatorios y sobre líneas celulares. Asimismo, es necesario usar el EEP como agente antiséptico en estudios de colutorios experimentales u otras presentaciones puesto ya existe las mismas para el tratamiento de procesos respiratorios. Al igual que es necesario que se amplie la cantidad de microorganismos debido a la amplitud de los mismos en la cavidad oral y sobretodo como biofilm que llevaría la aplicación de métodos más cercanos a las condiciones reales de la boca.

No cabe duda entonces la importancia de esta investigación debido a que sustenta el efecto antibacteriano de un agente natural como el propóleo sobre el *Streptococcus mutans* principal agente etiológico de la caries dental y de complicaciones derivadas de la misma y sobretodo la posibilidad de aplicación clínica en el tratamiento y prevención de procesos infecciosos

desencadenados por los estreptococos viridans que son los microorganismo que mayoritariamente se encuentran en cavidad oral.

9. CONCLUSIONES

- Existe diferencias estadísticamente significativas del efecto antibacteriano in vitro de los agentes antisépticos sobre la cepa en análisis, destacando el mayor efecto antibacteriano in vitro del gluconato de clorhexidina al 0,12%.
- La cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) sensibilidad límite (+) o sensibilidad baja al EEP al 5% a las 72 horas. Además es sumamente sensible (+++) al EEP al 10% y 20% a las 48 y 72 horas según Escala de Duraffourd.
- La cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) es sumamente sensible (+++) a la CHX al 0.12% siendo constante la misma a las 24, 48 y 72 horas.
- La Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del Extracto Etanólico de Propóleo ascienden a 1562,5 µg /ml y 3125 µg /ml respectivamente sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que se realicen estudios replicativos y confirmatorios de los resultados obtenidos en la presente investigación.
- Se recomienda realizar nuevas investigaciones similares al nuestro ampliando la cantidad de cepas y utilizando métodos de formación de biofilm para experimentación directa a menores tiempos.
- Es necesario realizar investigaciones que amplíen métodos de medición de efecto citotóxico del Extracto Etanólico de Propóleo que sustenten su uso clínico en formulaciones químicas para tratamiento y prevención de procesos infecciosos orales.
- Es recomendable realizar capacitaciones y talleres a nivel nacional y/o internacional en técnicas de formación de biofilm dental para futuros estudios similares o más amplios a la presente investigación.
- Es recomendable considerar los resultados del presente estudio como antecedentes relacionados para otras investigaciones.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Henostroza G. Caries dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007.
2. Bradshaw DJ, Lynch R. Diet and the microbial aetiology of dental caries: new paradigms. *Int Dent J* [Internet]. 2013 [citado el 04 de enero del 2022];63(2):64-72. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24283286/>
3. Marya Ch, Chopra M, Singh S, Nagpal R. Chandan Dhingra Comparison of Antimicrobial Efficacy of Brazilian Propolis With Chlorhexidine and Sodium Fluoride Against Common Oral Pathogens: An In Vitro Study. *J Nat Pharm Prod* [Internet]. 2015 [citado el 04 de enero del 2022];10(2):1-6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/282265690_Comparison_of_Antimicrobial_Efficacy_of_Brazilian_Propolis_With_Chlorhexidine_and_Sodium_Fluoride_Against_Common_Oral_Pathogens_An_In_Vitro_Study
4. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural Products in Caries Research: Current (Limited) Knowledge, Challenges and Future Perspective. *Caries Res* [Internet]. 2011 [citado el 06 de enero del

2022];45:243-263.

Disponible

en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3104868/pdf/cre0045-0243.pdf>

5. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. *Minerva Stomatol* [Internet]. 2012 [citado el 16 de diciembre del 2021];61(9):399-419. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230849947_Chlorhexidine_CHX_in_dentistry_State_of_the_art
6. Sajjan P, Laxminarayan N, Kar PP, Sajjanar M. Chlorhexidine as an Antimicrobial Agent in Dentistry - A Review. *Oral Health Dent Manag* [Internet]. 2016 [citado el 15 de diciembre del 2021];15(02):93-100. Disponible en: <https://www.longdom.org/open-access/chlorhexidine-as-an-antimicrobial-agent-in-dentistry--a-review-2247-2452-1000879.pdf>
7. Mathur S, Mathur T, Srivastava R, Khatri R. Chlorhexidine: The Gold Standard in Chemical Plaque Control. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol* [Internet]. 2011[citado el 18 de diciembre del 2021];1(2):45-60. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Setu_Mathur/publication/265193587_Chlorhexidine_The_Gold_Standard_in_Chemical_Plaque_Control/links/5af04f63aca2727bc0067386/Chlorhexidine-The-Gold-Standard-in-Chemical-Plaque-Control.pdf
8. Abbasi AJ, Mohammadi F, Bayat M, Gema SM, Ghadirian H, Seifi H et al. Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiop J Health Sci*

[Internet]. 2018 [citado el 06 de enero del 2022];28(4):505-512. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6308739/pdf/EJHS2804-0505.pdf>

9. Velazquez C, Lugo E, Navarro M, Acosta A, Angulo A, Dominguez Z et al. Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2007 [citado el 09 de enero del 2022];103(5):1747-1756. Disponible en: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2672.2007.03409.x>
10. Koru O, Toksoy F, Acikel C, Tunca Y, Baysallar M, Guclu A et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe* [Internet]. 2007 [citado el 09 de enero del 2022];13(3-4):140-145. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1075996407000170?via%3Dihub>
11. Gold J. The role of chlorhexidine in caries prevention. *Oper Dent* [Internet]. 2008 [citado el 11 de enero del 2022];33(6):710-716. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19051866/>
12. Piovano S. Antimicrobianos locales y sistémicos en el tratamiento de las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal. En: Negroni M, editora. *Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica*. 2a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. 299-310.

13. Addy M. Uso de antisépticos en la terapia periodontal. En: Lindhe J, editor. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 4a ed. Madrid: Médica panamericana; 2005. 483-512.
14. Khurshid Z, Naseem M, Zafar MS, Najeeb S, Zohaib S. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral health care. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects [Internet]. 2017 [citado el 04 de enero del 2022];11(4):265-274. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5768961/pdf/joddd-11-265.pdf>
15. Aziz S, Akbar A, Gul Z, Sadiq MB, Achakzai JK, Khan NA, Samad A, Rehman ZU, Ali I. Functional Potential and Chemical Profile Analysis of Propolis Oil Extracted from Propolis of Balochistan. Hindawi Journal of Food Quality. 2022. Article ID 4782813, 10 pages
16. Kiani S, Birang R, Jamshidian N. Effect of Propolis mouthwash on clinical periodontal parameters in patients with gingivitis: A double-blinded randomized clinical trial. Int J Dent Hyg. 2022 May;20(2):434-440.
17. Checalla-Collatupa J, Sánchez-Tito MA. Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a Streptococcus mutans. Int J Odontostomat [Internet]. 2021 [citado el 03 de abril del 2022];15(1):145-151. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-381X2021000100145&script=sci_arttext

18. Sadrzadeh-Afshar M, Tavafi H, Niroomand S. In Vitro Effectiveness of Antimicrobial Properties of Propolis and Chlorhexidine on Oral Pathogens: A Comparative Study. *Biosis: Biological Systems* [Internet]. 2020 [citado el 21 de enero del 2022];1(3):116-125. Disponible en: <http://eaapublishing.org/journals/biosis/article/view/62/142>
19. Checalla Collatupa J. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre el *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) in vitro, Tacna 2020. [Tesis]. Tacna, Perú: Universidad Privada de Tacna; 2020.
20. Becerra TB, Calla R, Requena MF, Millones PA. Antibacterial Effect of Peruvian Propolis Collected During Different Seasons on the Growth of *Streptococcus Mutans*. *Open Dent J* [Internet]. 2019 [citado el 11 de enero del 2022];14:327-331. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/336344373_Antibacterial_Effect_of_Peruvian_Propolis_Collected_During_Different_Seasons_on_the_Growth_of_Streptococcus_Mutans/fulltext/5d9c8b2d299bf1c3630094bb/Antibacterial-Effect-of-Peruvian-Propolis-Collected-During-Different-Seasons-on-the-Growth-of-Streptococcus-Mutans.pdf
21. Nazeri R, Ghaiour M, Abbasi S. Evaluation of Antibacterial Effect of Propolis and its Application in Mouthwash Production. *Front Dent* [Internet]. 2019 [citado el 23 de enero del 2022];16(1):1-12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6778618/pdf/FID-16-1.pdf>
22. Porwal S, Mathur A, Shetty N, Manohar B, Makhijani B, Mundra R. Comparative evaluation of the effect of chlorhexidine gluconate, raw

- propolis and hydrogen peroxide on dental plaque and gingival inflammation. J Nepal Soc Perio Oral Implantol [Internet]. 2018 [citado el 21 de enero del 2022];2(1):14-19. Disponible en: <https://www.nepjol.info/index.php/jnspoi/article/view/23603/19969>
23. Baca Becerra T. Comparación del efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de propoleo recolectado en Santiago de Chuco en las estaciones de verano y otoño sobre el crecimiento de Streptococcus Mutans (ATCC 25175) [Tesis]. Trujillo, Perú: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote; 2018.
24. Rajani MG, Akash VK. Effectiveness of propolis, probiotics and chlorhexidinaon Streptococcus Mutans and Candida Albicans: An in-vitro study. IOSR-JDMS [Internet]. 2017 [citado el 18 de enero del 2022];16(3):15-18. Disponible en: <http://www.iosrjournals.org/iosr-jdms/papers/Vol16-issue3/Version-7/D1603071518.pdf>
25. Wagh VD. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. Adv Pharmacol Sci [Internet]. 2013 [citado el 16 de diciembre del 2021];2013:1-11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3872021/pdf/APS2013-308249.pdf>
26. Varoni E, Tarce M, Lodi G, Carrassi A. Chlorhexidine (CHX) in dentistry: state of the art. Minerva Stomatol [Internet]. 2012 [citado el 16 de diciembre del 2021];61(9):399-419. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/230849947_Chlorhexidine_CHX_in_dentistry_State_of_the_art

27. Mattos-Graner RO, Klein MI, Smith DJ. Lessons Learned from Clinical Studies: Roles of Mutans Streptococci in the Pathogenesis of Dental Caries. Curr Oral Health Rep [Internet]. 2013 [citado el 21 de diciembre del 2021];1:70-78. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/271663259_Lessons_Learned_from_Clinical_Studies_Roles_of_Mutans_Streptococci_in_the_Pathogenesis_of_Dental_Caries
28. Negroni M. Microbiología Estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2a ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. Capítulo 12, Antimicrobianos, antimicóticos, antiparasitarios y antivirales; 123-132.
29. Selvan A, Singh R, Prabhu T. Antibacterial activity of bee propolis against clinical strains of streptococcus mutans and synergism with chlorhexidine. Int. J. Pharm. Sci. Res [Internet]. 2011 [citado el 02 de enero del 2021];2:85-90. Disponible en: <https://www.technicaljournalonline.com/ijpsr/VOL%20II/IJPSR%20VOL%20II%20ISSUE%20I%20JANUARY%20MARCH%202011/IJPSR%20VOL%20II%20ISSUE%20I%20Article%2014.pdf>
30. Hudzicki H. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol [Internet]. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 2016 [citado el 11 de febrero del 2022]. Disponible en: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287->

[0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rasha_Maal-Bared/post/Is_there_any_method_to_test_the_tolerance_of_a_microbial_community/attachment/59d63faac49f478072ea9ccf/AS%3A273781250035720%401442285944459/download/NCCLS+Manual+of+Antimicrobial+Susceptibility+Testing.pdf)

31. Coyle MB. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing [Internet]. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 2005 [citado el 11 de febrero del 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Rasha_Maal-Bared/post/Is_there_any_method_to_test_the_tolerance_of_a_microbial_community/attachment/59d63faac49f478072ea9ccf/AS%3A273781250035720%401442285944459/download/NCCLS+Manual+of+Antimicrobial+Susceptibility+Testing.pdf
32. Clinical and Laboratory Standards Institute. M02-A11—Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition [Internet]. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. [citado el 15 de febrero del 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=58139aa4615e27240754da03&assetKey=AS%3A422233756704774%401477679780485>
33. Malbrán C. Metodo de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. Clinical and Lab. Standars Inst. 2012;32:3-19.
34. Asadoorian J. CDHA position paper on commercially available over-the-counter oral rinsing products. Canad J Dent Hyg. 2006;40(4):1-13.

35. García-Espinoza MA, Gamboa-Alvarado E, Pomacóndor-Hernández C, Millones-Gómez PA. Efecto antibacteriano de propóleos peruanos frente a los patógenos orales. *Medicina Naturista*. 2021; 15(2): 19 – 22.

12. ANEXOS

ANEXO 1. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	TIPO	ESCALA	VALORES
Efecto antibacteriano	Capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano que poseen algunas sustancias de origen químico o natural para impedir su desarrollo o generar su destrucción. ²⁸	Capacidad Inhibitoria del Crecimiento bacteriano	Halos de inhibición en milímetros.	Cualitativo	Ordinal	Sensibilidad nula (-) :0-8 mm; Sensibilidad límite (+) : 9-14 mm; Sensibilidad media o muy sensible (++) :15-19 mm, y Sumamente sensible o S.S. (+++) :20 mm a +
			Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	Cuantitativo	Razón	mg/ml

			Concentración Mínima Bactericida (CMB)	Cuantitativo	Razón	mg/ml
Cepa Streptococcus mutans (ATCC 25175).	Bacteria Gram positiva, considerado como el principal patógeno que promueve el desarrollo y aparición de la caries dental. ²⁷	Unidad de análisis sobre la que se determinará el efecto antibacteriano	Crecimiento Bacteriano	Cualitativo	Nominal	Si No
Extracto etanólico de propóleo	Compuesto resinoso natural con propiedades antimicrobianas que elaboran las abejas para proteger la colmena de agentes externos. ²⁵	Sustancias con efecto antimicrobiano	Grado de concentración del extracto de propóleo	Cuantitativo	Razón	5% 10% 20%
Gluconato de Clorhexidina	Sustancia química utilizado como el antiséptico más recetado en el campo odontológico por su buena actividad antibacteriana de larga duración y amplio espectro. ²⁶	Sustancias con efecto antimicrobiano	Grado de concentración del gluconato de clorhexidina	Cuantitativo	Razón	0.12%

ANEXO 2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO MUESTRAL

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot S^2}{(N - 1) \cdot E^2 + Z^2 \cdot S^2}$$

Dónde:

n = El tamaño de la muestra a calcular

N = Tamaño del universo =10

Z = Nivel de confianza 95% -> Z=1,96

E = Es el margen de error máximo (0,5)

S = desviación estándar (1.11)

$$n = \frac{10 \times 1,96^2 \times 1,11^2}{(10 - 1) \times 0,5^2 + 1,96^2 \times 1,11^2}$$

$$n = 6,78$$

La muestra estará conformada por 7 ensayos por cada grupo experimental.

ANEXO 3: CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL CIEI

UNIVERSIDAD PRIVADA
SJB

UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y
RESPONSABILIDAD SOCIAL

CONSTANCIA N° 926-2022 - CIEI-UPSJB

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Privada San Juan Bautista SAC, deja constancia que el Proyecto de Investigación detallado a continuación ha sido evaluado en la sesión del CIEI:

Código de Registro: N° 926-2022-CIEI-UPSJB

Título del Proyecto: *COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12% SOBRE CEPA DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175)*

Investigador (a) Principal: HEREDIA CHÁVEZ NORBIL

El Comité Institucional de Ética en Investigación ha determinado que este proyecto no califica como una investigación en sujetos humanos y está **EXONERADO** de revisión protocolar. Es preciso mencionar que el estudio cumple los lineamientos y estándares académicos, científicos y éticos de la UPSJB.

La vigencia de la constancia es efectiva hasta la conclusión del estudio en mención. No hace falta una solicitud de renovación de vigencia.

Como investigador principal, es su deber contactar oportunamente al CIEI ante cualquier cambio al protocolo exonerado que podría ser considerado en una enmienda al presente proyecto.

Finalmente, el investigador debe responder a las solicitudes de seguimiento al proyecto que el CIEI puede solicitar y deberá informar al CIEI sobre la culminación del estudio de acuerdo a los reglamentos establecidos.

Lima, 07 de julio de 2022.

Mg. Juan Antonio Flores Tambo
Presidente del Comité Institucional
de Ética en Investigación

www.upsjb.edu.pe

CHICLAYO
Av. José Antonio Castañón N°
1041 (94) (En Intersección KR1)




CENTRAL TELEFÓNICA: (01) 744 1344

SAN NOROCCO
Av. San Luis 1975 - 1976 - 1978

ICA
Calle Arroyo Pucallanca s/n
Ejido 301 La Argemona,
Tarma

CHIMBOTE
Calle 6 de Julio 1061 (Intersección)
Luz 1944 (En Tarma)

ANEXO 4: DOCUMENTO DE EJECUCIÓN

	OFICINA DE GESTIÓN DE SERVICIOS EN SALUD.
"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"	
Reg. N° 011-2022512318	
Moyobamba, 12 de julio 2022	
<u>CARTA N° 062 - 2022-DIRESA-OGESS-AM/-HOSP. II-1MUADel.</u>	
Señor: NORBIL HEREDIA CHAVEZ. Bachiller de la Carrera de Estomatología de la Universidad Privada San Juan Bautista. <u>CIUDAD</u>	
ASUNTO: AUTORIZACION PARA REALIZAR PROYECTO DE TESIS.	
REFERENCIA: SOLICITUD S/N	
De mi especial consideración.	
Por la presente se le comunica que, visto el documento de la referencia y por la opinión favorable de la dirección del Hospital II- 1 Moyobamba se autoriza a Usted, como estudiante de la Universidad Privada San Juan Bautista, pueda acceder a su Proyecto de Tesis Titulado "Comparación In Vitro del Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de Propóleo y Gluconato de Clorhexidina 0,12 % Sobre Cepa de Mutans (ATCC 25175) en el Hospital II-1- Moyobamba.	
Para acceder a los servicios debe presentar este documento a los jefes de servicio responsables de áreas para el ingreso del Hospital deberá hacerlo por la puerta N° 01 presentando DNI Y carnet con las vacunas COVID 19, mínimo 3 dosis, recomendándole tener en cuenta las medidas de la bioseguridad durante el periodo de permanencia en la institución en las áreas NO COVID -19	
Sin otra particular me suscribo de Usted.	
Muy atentamente.	
  M.C. Eduardo Carrasco Rojas DIRECCIÓN HOSPITAL II-1 MOYOBAMBA	
C.C. DESTINATARIO DIRECCIÓN ARCHIVO JPH	
Av. Grau Cdra 4. Moyobamba Teléfono: 042-787590 (Anexo 1052) (SAMU)-042351806 Anexo (1132) (Emergencia) 042 - 787593 Anexo (1174) (Referencia) 042-381526 Anexo (1048) (Call Center) E-mail: hospitalmoyobamba@hospmoyobamba.gob.pe - Dirección.	

ANEXO 5: FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

Medio de Cultivo : _____	Fecha de Vaciamiento : _____
Cepa de bacterio : _____	Fecha de Medición 1 : _____
AICC : _____	Fecha de Medición 2 : _____
LOT# : _____	Fecha de Medición 3 : _____

MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN DE CRECIMIENTO BACTERIANO EN MILÍMETROS.															
Placa Petri No	Control Problema									Control Positivo			Control negativo		
	Extracto de Propóleo									Gluconato de Clorhexidina al 0.12%			Agua Destilada		
	5%			10%			20%			M1 24h	M2 48h	M3 72h	M1 24h	M2 48h	M3 72h
	M1 24h	M2 48h	M3 72h	M1 24h	M2 48h	M3 72h	M1 24h	M2 48h	M3 72h						

ANEXO 6: AUTORIZACION DE APLICACIÓN DE INSTRUMENTO

 San Martín LABORATORIO CLÍNICO	OFICINA DE GESTIÓN DE SERVICIOS DE SALUD ALTO MAYO HOSPITAL II-1 MOYOBAMBA LABORATORIO CLÍNICO – ÁREA MICROBIOLOGÍA
---	--

"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO DE TESIS

El que suscribe, **RUDY ALEXANDER VENTURA TELLO**, responsable del ÁREA DE MICROBIOLOGÍA DEL LABORATORIO CLÍNICO del HOSPITAL II-1 MOYOBAMBA hace constar: que el Sr. **NORBIL HEREDIA CHAVEZ**, Bachiller de la carrera de Estomatología de la UNIVERSIDAD PRIVADA SAN JUAN BAUTISTA ejecutó satisfactoriamente su Proyecto de Tesis titulado: "Comparación In Vitro del Efecto Antibacteriano del Extracto Etanólico de Propoleo VS Gluconato de Clorexidina al 0.12% Sobre Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175)" en nuestro servicio.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado, para los fines que crea conveniente.

Moyobamba, 12 de Octubre del 2022.




Lic. Rudy A. Ventura Tello
BIÓLOGO - MICROBIOLOGO
C.B.P. 11218

Rigo Múigo Rudy Alexander Ventura Tello
CBP: 11218
Responsable del Área de Microbiología
Serv. de Laboratorio Clínico Hospital II-1 Moyobamba

C.C.
DESTINATARIO
DIRECCION
ARCHIVO

ANEXO 7: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE		
	General	General	General	Dimensión	Indicador	Nivel de Medición
COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y GLUCONATO DE CLORHEXIDINA 0,12% SOBRE CEPA DE <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	¿Cuáles serán los resultados de la comparación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de <i>Streptococcus Mutans</i> (ATCC 25175)?	Comparar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).	Existen diferencias significativas entre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% sobre cepa de <i>Streptococcus Mutans</i> (ATCC 25175)..	Efecto Antibacteriano	Halos de inhibición en milímetros.	Ordinal
	Específicos	Específicos	Específicos		Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	Razón
					Concentración Mínima Bactericida (CMB)	Razón
					Crecimiento Bacteriano	Nominal

		<ul style="list-style-type: none"> •Determinar in vitro el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 5%, 10%, 20% sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas. •Determinar in vitro el efecto antibacteriano del gluconato de clorhexidina 0,12% sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas. •Determinar la CMI y CMB del extracto etanólico de propóleo sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175). 	<ul style="list-style-type: none"> •El extracto etanólico de propóleo al 5%, 10%, 20% posee un elevado efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas. •El gluconato de clorhexidina al 0,12% posee un elevado efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas. •El extracto etanólico de propóleo posee una baja concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida sobre la cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175) a las 24, 48 y 72 horas. 	Cepa de Streptococcus Mutans (ATCC 25175)		
--	--	--	---	---	--	--

TIPO Y DISEÑO	POBLACION Y MUESTRA	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS	METODO DE ANALISIS ESTADISTICO
<ul style="list-style-type: none"> • Por el número de variables: Analítico, debido a que se evaluará estadísticamente a la variable independiente efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y gluconato de clorhexidina 0,12% y un grupo control positivo para determinar sus efectos sobre la variable dependiente cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175). • Por el número de mediciones: Longitudinal porque las variables de estudio serán medidas en tres tiempos. • Según la fuente de recolección de datos: Prospectivo porque los datos serán registrados según vayan ocurriendo los 	<p>La unidad de análisis será la Cepa de Streptococcus mutans (ATCC 25175), y se formarán 5 Grupos de estudio experimentales siendo un total de 20 placas Petri.</p> <p>Grupo 01: Cepa de S.mutans vs Extracto etanólico al 5%.</p> <p>Grupo 02: Cepa de S.mutans vs Extracto etanólico al 10%.</p> <p>Grupo 03: Cepa de S.mutans vs Extracto etanólico al 20%.</p> <p>Grupo 04: Cepa de S.mutans vs CHX 0.12%.</p> <p>Grupo 05: Control Negativo Cepa de S. mutans vs Agua destilada</p>	<p>Para esta investigación la técnica que se utilizará es la observación directa de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano. Y el instrumento que se empleará para la recolectar los datos es a través de una ficha de recolección de datos que se creará, en la cual se registrarán de forma ordenada los datos que se obtengan de las medidas en milímetros durante la observación de los halos inhibitorios de crecimiento bacteriano en cada placa Petri, que serán embebidos con extracto de propóleo al 5%, 10% y 20%. El registro se llevará a cabo a las 24 horas y segundo a las 48 horas y el tercero a las 72 horas de haberse realizado el cultivo de las cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175)</p>	<p>Las fichas de recolección de datos serán organizadas e ingresadas en el programa Microsoft Excel. Y el programa estadístico informático que se empleará para procesar los datos será el IBM SPSS Statistic versión 25.0 para Windows 10, inicialmente se determinará la normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk, y tras su resultado se aplicará la prueba estadística para análisis de varianza ANOVA o Kruskal Wallis, considerando una significancia estadística de $p < 0.05$.</p>

<p>hechos.</p> <ul style="list-style-type: none">• Por la intervención: Experimental porque el investigador si intervendrá en la manipulación de las variables. - <p>El diseño metodológico es Experimental.</p>			
--	--	--	--

ANEXO 8: EVIDENCIA FOTOGRAFICA DE EJECUCIÓN DE INVESTIGACIÓN

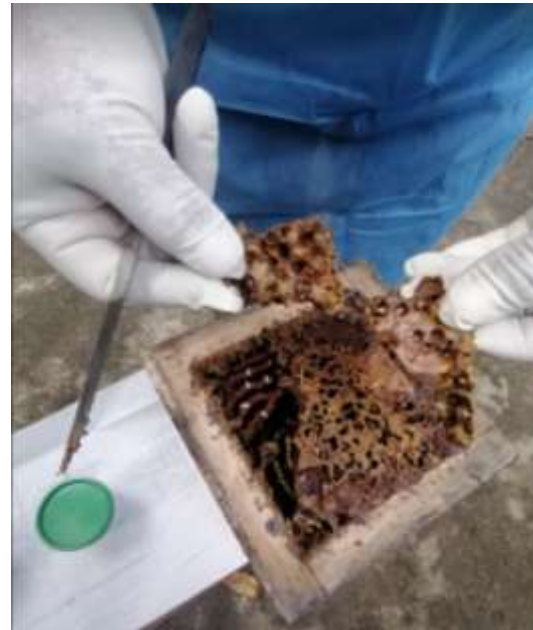
FIGURA 1



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Imagen de propóleo en su forma natural.

FIGURA 2.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Imagen de recolección de propóleo.

FIGURA 3.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Recolección de propóleo para su traslado en frasco estéril.

FIGURA 4.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de triturado del propóleo.

FIGURA 5.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de lavado y secado del propóleo.

FIGURA 6.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de pesado del propóleo.

FIGURA 7.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de dilución del propóleo.

FIGURA 8.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de homogenización.

FIGURA 9.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de filtrado del propóleo.

FIGURA 10.



FUENTE: Propia de la investigacion.

INTERPRETACION: CEPA liofilizada ATCC 25175 S. Mutans.

FIGURA 11:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Activación de la cepa s. mutans.

FIGURA 12.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Incubación y proceso de crecimiento de la bacteria.

FIGURA 13.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Cámara para crecimiento anaerobio.

FIGURA 14.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Control microbiológico que garantiza la esterilidad del producto.

FIGURA 15.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Cepa activada lista para ser sembrado.

FIGURA 16.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Dilución del propóleo al 5%, 10%y 20%.

FIGURA 17.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Proceso de sembrado.

FIGURA 18.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: CEPA lista para ser llevado a anaerobiosis para evaluar su crecimiento.

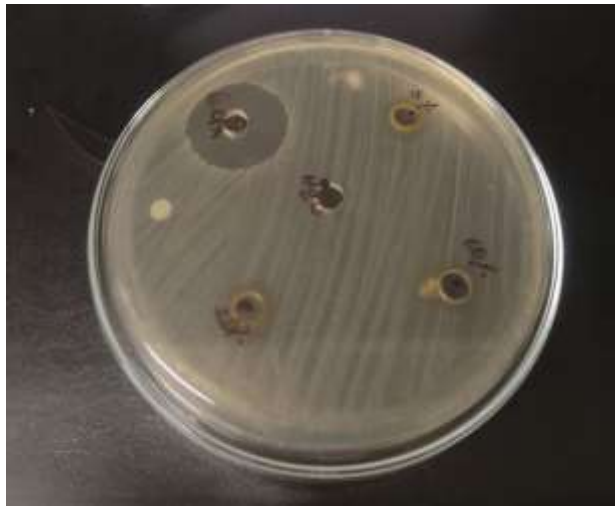
FIGURA 19.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Medición y observación de los halos inhibitorios a las 24 horas.

FIGURA 20.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Medición y observación de los halos inhibitorios a las 42 horas.

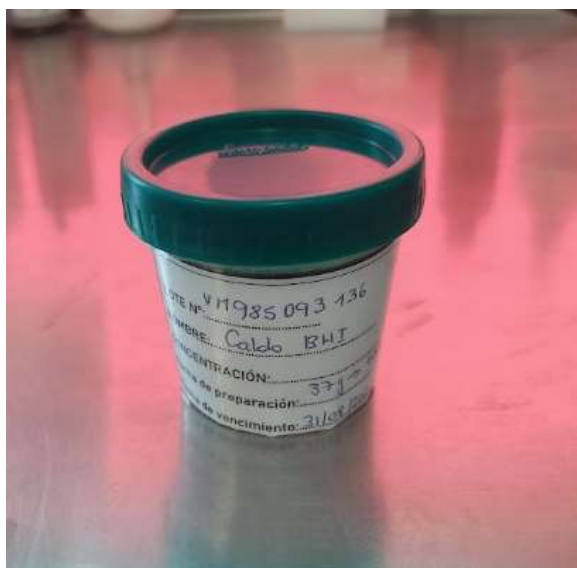
FIGURA 21.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Medición y observación de los halos inhibitorios a las 72 horas.

FIGURA 22.



FUENTE: Propia de la de investigación.

INTERPRETACION: Caldo BHI IOFILIZADO.

FIGURA 23:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Preparación del caldo BHI para ser utilizado en la concentración mínima inhibitoria.

FIGURA 24:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Autoclavado del caldo BHI que garantiza la esterilidad del producto.

FIGURA 25:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Preparación de diluciones para encontrar la concentración mínima inhibitoria.

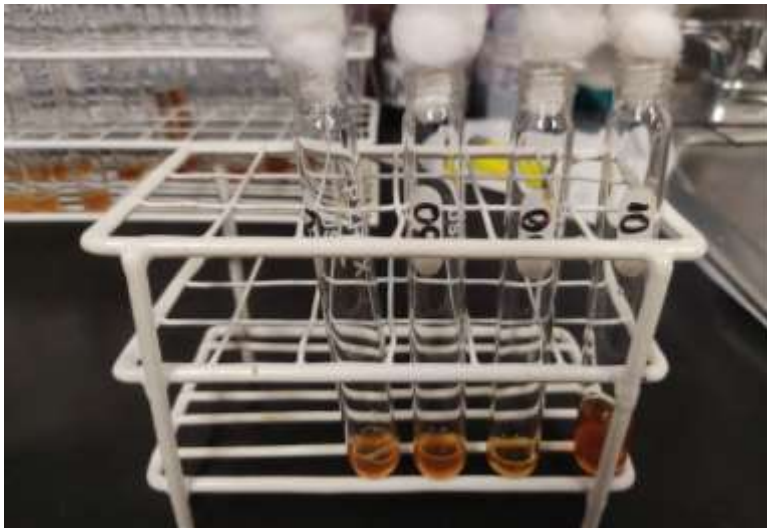
FIGURA 26:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Dilución según la escala de Macfarlan.

FIGURA 27.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Concentración Mínima inhibitoria del Propóleo.

FIGURA 28.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Concentración Mínima Inhibitoria de la clorhexidina.

FIGURA 29:



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Sembrado para conocer la concentración mínima bactericida.

FIGURA 30.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Concentración mínima bactericida del propóleo observado en 24 horas.

FIGURA 31.



FUENTE: Propia de la investigación.

INTERPRETACION: Concentración mínima bactericida de la clorhexidina observado en 24 horas.