



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

“COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DEL PROPÓLEO NATURAL Y EL
PROPÓLEO COMERCIALIZADO FRENTE AL
STREPTOCOCCUS MUTANS, LA LIBERTAD, TRUJILLO,
2017”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR(A):

Bach. AYALA REYES MARIA BELEN

ASESOR(A):

Mgtr: BERMEJO TERRONES ALAN MAYKOL

CHIMBOTE-PERÚ

2019

TÍTULO

**“COMPARACIÓN DE LA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL
PROPÓLEO NATURAL Y EL PROPÓLEO COMERCIALIZADO
FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS, LA LIBERTAD, TRUJILLO,
2017”**

HOJA DE FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Dr. AGUIRRE SIANCAS ELIAS ERNESTO
PRESIDENTE

Mgtr. SAN MIGUEL ARCE ADOLFO
MIEMBRO

Mgtr. CASTILLO BLAZ SALLY
MIEMBRO

Mgtr. BERMEJO TERRONES ALAN MAYKOL
ASESOR

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios por darme la vida y la de mis padres, porque cada día me bendice con la hermosa oportunidad de estar y disfrutar a lado de las personas que me aman.

Gracias a mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, gracias a mi madre por estar siempre conmigo, gracias a mi padre por siempre desear y anhelar siempre lo mejor para mi vida, gracias por cada consejo y por cada una de sus palabras que me guiaron durante mi vida profesional.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, hoy puedo ver alcanzada una de mis metas, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera.

A mis hermanos, por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.

RESUMEN

La investigación tuvo el objetivo de evaluar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans* mediante un estudio cuantitativo, de nivel explicativo, longitudinal, analítico, prospectivo y pre - experimental, la muestra estuvo conformada por 16 placas Petri donde se cultivó la bacteria *Streptococcus mutans* (SM.), y la unidad de análisis estuvo conformada por cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* del laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), obteniéndose lo siguiente: Se realizó la prueba estadística de Anova donde se evaluó la efectividad antimicrobiana del propóleo natural frente al *Streptococcus mutans* dándonos como resultados que la dilución al 75% tiene más efectividad antimicrobiana ya que nos mostró unos halos de inhibición de 10mm, y 8 mm a diferencia de los otros porcentajes. Como conclusiones encontramos que el propóleo natural si es efectivo contra el *Streptococcus mutans*, de acuerdo a nuestros anexos mayor efectividad antimicrobiana está en la dilución de 75% con unos halos de inhibición de 10mm, 10mm, 10mm, 10mm, 10mm, 8mm y 8mm.

Palabras clave: Antibacteriano, Propóleo, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the antimicrobial effectiveness of natural propolis and propolis commercialized against *Streptococcus mutans* by means of a quantitative, explanatory, longitudinal, analytical, prospective and pre - experimental level, the sample consisted of 16 Petri dishes where it was grown the bacterium *Streptococcus mutans* (SM.), and the unit of analysis consisted of cultures of strains of *Streptococcus mutans* from the laboratory of the Faculty of Medicine of the National University of Trujillo (UNT), obtaining the following: The statistical test was performed. Anova where the antimicrobial effectiveness of natural propolis against *Streptococcus mutans* was evaluated giving as results that 75% dilution is more effective antimicrobial since it showed 10mm inhibition halos, and 8mm unlike the other percentages. As conclusions we found that the natural propolis if it is effective against *Streptococcus mutans*, according to our annexes, greater antimicrobial effectiveness is in the 75% dilution with inhibition halos of 10mm, 10mm, 10mm, 10mm, 10mm, 8mm and 8mm.

Key words: Antibacterial, Propolis, *Streptococcus mutans*

CONTENIDO

1. Título de la tesis.....	ii
2. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iii
3. Hoja de agradecimiento y/o dedicatoria.....	iv
4. Resumen y abstract.....	vi
5. Contenido.....	viii
6. Índice de gráficos, tablas y cuadros.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
III. HIPÓTESIS.....	24
IV. METODOLOGÍA.....	25
4.1 Diseño de investigación.....	25
4.2 Población y muestra.....	25
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	27
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	28
4.5 Plan de análisis.....	34
4.6 Matriz de consistencia.....	35
4.7 Principios éticos.....	36
V. RESULTADOS.....	37
5.1 Resultados.....	37
5.2 Análisis de resultados.....	40
VI. CONCLUSIONES.....	43
6.1 Conclusiones.....	43
6.2 Recomendaciones.....	43
Referencias bibliográficas.....	44
Anexos.....	49

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE TODOS LOS PROPOLEOS EN TODAS LAS CONCENTRACIONES CON SUS MEDIDAS DE HALOS DE INHIBICIÓN Y SU DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....37

TABLA N° 2:

COMPARACIÓN EL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS TIPOS DE PROPÓLEO NATURAL Y COMERCIAL CON SUS CONCENTRACIONES (25, 50,75 Y 100%) SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, SEGÚN HALOS DE INHIBICIÓN. (ANOVA).....38

TABLA N° 3:

ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DE PROPÓLEO NATURAL DE 25, 50, 75 Y 100%, COMPARANDO EL TAMAÑO DE HALOS DE INHIBICIÓN (en mm).....39

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1:

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE TODOS LOS PROPOLEOS EN TODAS LAS CONCENTRACIONES CON SUS MEDIDAS DE HALOS DE INHIBICIÓN Y SU DESVIACIÓN ESTÁNDAR.....37

GRÁFICO N° 2:

COMPARACIÓN EL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS TIPOS DE PROPÓLEO NATURAL Y COMERCIAL CON SUS CONCENTRACIONES (25, 50,75 Y 100%) SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, SEGÚN HALOS DE INHIBICIÓN. (ANOVA).....38

GRÁFICO N° 3:

ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DE PROPÓLEO NATURAL DE 25, 50, 75 Y 100%, COMPARANDO EL TAMAÑO DE HALOS DE INHIBICIÓN (en mm).....39

I. INTRODUCCIÓN

Etimológicamente, la palabra Propóleo se deriva del griego pro (para 'frente a', 'en la entrada a') y polis (por "comunidad" o "ciudad") lo que significa que este producto natural contribuye a la defensa de la colmena. Ha sido ampliamente utilizado como agente antimicrobiano en la medicina tradicional en todo el mundo. La composición varía con el origen geográfico que contiene sustancias como aminoácidos, minerales, etanol, vitaminas A, complejo B, E y la mezcla altamente activa de compuestos conocidos como bioflavonoides ¹

El propóleo destaca sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, citostáticas y cariostáticas². Múltiples estudios fueron desarrollados contra el *Streptococcus mutans* los cuales pueden producir ácido insoluble en agua para poder sintetizar glucano por la acción de glucosiltransferasa (GTFase) que es principal elemento de la placa dental y biofilm. De los diversos componentes del propóleo, el tt-farnesol es el más eficaz agente antibacteriano, mientras que la apigenina es un potente inhibidor de la glucosiltransferasa.³

El objetivo del presente estudio es comparar el propóleo natural y el propóleo comercializado ya que ambos tienen distintos componentes los cuales pueden variar en su eficacia contra el *Streptococcus mutans*.

La caries dental es la enfermedad más extendida que afecta a los seres humanos en particular durante la infancia. Pocos microorganismos que se encuentran en la cavidad oral son capaces de adherirse a los dientes. Los microorganismos específicos como el *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y algunas especies de *Actinomyces*.

Sin embargo, durante la fase inicial de la caries, el *Streptococcus mutans* es el más frecuente asociado y el más cariogénico microorganismo entre los Streptococcus orales.⁴

Existe una correlación positiva entre el número de *Streptococcus mutans* en la placa dental y la aparición de caries dentales. Los Streptococcus pueden colonizar la superficie del diente e iniciar la formación de placa a través de la síntesis de polisacáridos extracelulares, principalmente el glucano es insoluble en agua a partir de sacarosa mediante el uso de glucosiltransferasa (GTF).⁴ Actualmente hay diversos estudios que demuestran la eficacia del propóleo contra el *Streptococcus mutans* por ello se vio propicio determinar qué tipo de propóleo era más eficaz para esta investigación.⁵

Por ello el enunciado de problema fue: ¿Cuál es la efectividad antimicrobiana del propóleo natural comparado con el propóleo comercial frente a las cepas de *Streptococcus mutans*?

El objetivo general de la investigación fue: Evaluar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans*.

Y los objetivos específicos:

1.- Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans* al 100%.

2.- Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans* al 75%.

3. Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans* al 50%.
4. Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans* al 25%.

La investigación estuvo justificada porque en la actualidad el uso y la aplicación de las plantas medicinales y productos naturales ya es una opción muy conveniente ya que posee diversas propiedades; por ejemplo el propóleo destaca por sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, citostáticas y cariostáticas y hay diversos estudios que demuestran su efectividad contra el *Streptococcus mutans* por ello se vio conveniente determinar qué tipo de propóleo es más eficaz para su uso contra el *Streptococcus mutans*, si el propóleo natural o propóleo comercializado.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Yu Q y col (2015)⁶, Título: Efectos de los propóleos de abeja oscura Yili en el biofilm cariogénico oral in vitro. Tuvo como objetivo de evaluar los efectos del propóleo contra el biofilm y mecanismos cariogénicos. Los materiales y métodos utilizados, realizaron analizando las susceptibilidades al extracto etanólico de propóleo contra *Streptococcus mutans* (S. mutans), *Streptococcus sobrinus* (S. sobrinus), *Streptococcus sanguis* (S. sanguis), *Actinomyces viscosus* (A. viscosus), y *Actinomyces naeslundii* (A. naeslundii) por el cristal método de tinción de violeta para determinar la concentración mínima de erradicación de biopelícula. Los resultados obtenidos del propóleo sobre S. mutans, S. sobrinus, S. sanguis, A. viscosus y A. naeslundii fueron 6,25, 1,56, 3,13, 0,78, y 0,78 mg. mL⁻¹, respectivamente, El propóleo podría disminuir el pH de la biopelícula de la placa analizada, y las diferencias entre el control y los grupos de propóleo fueron estadísticamente significativas (P <0.05). El estudio concluye en que demostraron efectos erradicantes notables en el biofilm de la placa cariogénica, que muestra la inhibición de la síntesis de ácidos biofilm producido y polisacáridos extracelulares insolubles.

Veloz J y col (2015)⁷, Título: La actividad antibiofilm del propóleo chileno sobre *Streptococcus mutans* está influenciada por el año de recolección.

Tuvo como objetivo aclarar si el año de recolección de propóleos influye su actividad en *Streptococcus mutans*, los extractos ricos en polifenol se prepararon de propóleos recolectados en tres diferentes años, caracterizados por LC-MS y cuantificaron el contenido de polifenoles totales y grupos de flavonoides. Los materiales y métodos, se obtuvieron tres muestras de propóleos de la región andina La Araucanía - Chile, en primavera de los años 2008, 2010 y 2011, para poder preparar tres extractos ricos en polifenoles (CEP1, CEP2 y CEP3). Como resultado observaron diferencias en el contenido de compuestos fenólicos entre los extractos recolectados a lo largo de los 3 años. Los polifenoles totales contenidos en el CEP2 fueron superiores a CEP1 y CEP3 ($p < 0,0001$). En conclusión nos indican que los extractos ricos en polifenoles del propóleo chileno presentan diferencias cualitativas en su composición que dependen del año de recolección.

Mohsin S y col (2015)⁸, Título: Los efectos de un dentífrico que contiene propóleo en el *Streptococcus mutans*. Tiene como objetivo evaluar la eficacia antibacteriana de un dentífrico a base de propóleos en *Streptococcus mutans* que colonizan la cavidad oral de pacientes jóvenes que utilizan Dentocult®. Los métodos utilizados fueron en una proyección de 367 hombres de edades entre 7- 12 años. Un total de 30 niños fueron incluidos en el estudio.

Ellos fueron instruidos para usar un dentífrico propóleos (Probee, TM Cuasi-Medical Products, Seúl propóleos) al día durante tres minutos en un periodo de cuatro semanas, muestras de placa y saliva se recolectaron en la primera semanas, en la tercera y cuarta semana se analizaron para el recuento de *Streptococcus mutans* utilizando el kit de Mutans de tira Dentocult® SM (Orion Diagnostica Oy, Finlandia). Como resultados se revelo que el recuento de *Streptococcus mutans* en la primera y cuarta semana mostró una reducción significativa ($p \leq 0,0001$). En conclusión el dentífrico Propolis reduce in-vivo carga microbiana en microambientes especialmente contra los *Streptococcus mutans* en la cavidad oral de pacientes jóvenes. Entonces es posible que se inculca y se utiliza como una medida alternativa para prevenir la caries dental pueden ser considerados y una mayor investigación que implican un mayor número de participantes es recomendable.

Tulsani SG y col (2014)⁹, Título: El efecto de las gomas de mascar de propóleos y xilitol en el recuento salival de *Streptococcus mutans*. El objetivo de este estudio realizado es evaluar y comparar la acción anticariógena dos marcas comerciales, propóleos y xilitol en la saliva, *Streptococcus mutans* cuentan en un grupo de niños. Los materiales y métodos utilizados en este estudio son 30 niños sanos de 8 a 11 años de edad con caries, dientes faltantes y dientes obturados, antes de la prueba, se recogió saliva no estimulada los niños son divididos en los grupos I y II fueron dados propóleos y xilitol en chicles, para masticar durante 15 min

las muestras de saliva se recogieron a los 15 minutos (justo después de escupir) y después de 1 hr. Como resultados se obtuvo seis muestras de 30 fueron excluidos debido a la ausencia de crecimiento, el total de colonias bacterianas se redujo significativamente en comparación con el valor basal en ambos grupos. Goma de Propolis mostró una reducción estadísticamente significativa en el número de colonias en comparación con xilitol. Concluimos que el propóleo en goma de mascar se puede usar como un agente anticariogénico en los niños.

Bellón S, (2007)¹⁰, Título: Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Como objetivo fue evaluar la efectividad de la tintura de propóleo al 5 % en el tratamiento de la estomatitis aftosa. Se realiza un ensayo clínico fase 2 aleatorizado, y se conforman 2 grupos de pacientes de ambos sexos, entre los 12 y 44 años de edad, con diagnóstico clínico de estomatitis aftosa. Materiales y métodos utilizados en el estudio fue con 226 pacientes de ambos sexos entre 12 y 44 años de edad que asistieron a la consulta de Estomatología, durante los años 2002-2004, con diagnóstico clínico de estomatitis aftosa, se formaron 2 grupos: uno para la aplicación del tratamiento convencional y otro para el tratamiento con tintura de propóleo al 5 %. Como resultado se observa la composición según sexo y edad de los grupos de estudio y control, donde se refleja en el grupo estudio que el 59,09 % pertenecen al sexo femenino y el 40,01 % al masculino.

Asimismo, el grupo control está compuesto por el 64 % del sexo femenino y el 36 % del masculino, conformándose un grupo de 226 pacientes de ambos sexos. Concluimos que la aplicación fue un método rápido, de bajo costo y de fácil ejecución, se obtuvieron resultados muy satisfactorios para los pacientes que corroboran la efectividad de la aplicación de la tintura de propóleo al 5 % en el tratamiento de la estomatitis aftosa.

Duailibe S, (2007)¹¹, Título: Efecto de un extracto de propóleo en *Streptococcus mutans* recuentos *in vivo*. Tuvo como objetivo que el extracto de propóleo posee una actividad antimicrobiana *in vivo* contra *Streptococcus mutans* presente en la cavidad oral y podría utilizarse como una medida alternativa para prevenir la caries dental. Materiales y métodos en este presente estudio se reclutó a 41 jóvenes voluntarios de ambos sexos, que fueron estudiantes de secundaria y universitarios, con edades comprendidas entre los 11 y los 30 años. Los pacientes fueron asignados a tres grupos según el lugar de referencia: grupo A - escuela pública (n = 11), grupo B - escuela dental privada (n = 14) y grupo C - práctica privada (n = 16), Se recolectaron las muestras de saliva por la mañana, 2 horas después de la primera comida del día. Como resultados de las 123 muestras de saliva recolectadas de los 41 voluntarios, de 21 voluntarios hallaron recuentos bacterianos de 1250 a 1,000,000 UFC / ml de saliva, no se observó crecimiento bacteriano en 20 muestras antes o después del uso del enjuague bucal.

Concluimos que el extracto de propóleo probado posee actividad antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* presente en la cavidad oral.

2.2. Bases teóricas de la investigación:

Streptococcus mutans

Es un microorganismo cuyo hábitat natural es la cavidad bucal, clasificada como Bacteria Gram+ anaerobia facultativa y conforma gran porcentaje de la placa bacteriana asociada al inicio y desarrollo de la caries dental, prolifera en un ambiente de pH bajo, metaboliza los azúcares y sintetiza ácidos.¹²

Produce polisacáridos extracelulares para facilitar con una trama de sustancia celular la adhesión a las caras libres de los dientes, además de generar polisacáridos intracelulares para su metabolismo energético.

La función primordial del *S. mutans* es la formación de la biopelícula dental, la acción de fijación y tropismo en ella con su adaptación para sintetizar glucanos, que permiten la aciduricidad para el inicio de la lisis del esmalte.¹²

La morfología de esta bacteria Gram positiva es de superficie esférica, anaeróbica facultativa, pertenecientes al grupo de bacterias acidolácticas, que crecen en cadenas o pares, con mitosis o división celular ocurre a lo largo de un eje, su nombre de raíz griega es por la característica que se dobla o se tuerce con facilidad, como una cadena formando material genético en forma de cadenas simples.¹²

Streptococcus mutans es vital en el proceso de disolución del esmalte al producir ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético y ácido fórmico para metabolizar carbohidratos fermentables como la glucosa, sacarosa, y fructosa.

Tales ácidos circulan a través de la placa dental para atravesar el esmalte poroso, liberando hidrogeniones, los cuales son capaces de disolver rápidamente el mineral cálcico del esmalte, derivando a calcio y fosfato que se desprende del esmalte. Cuando en la dieta del huésped es alta en sacarosa, se inicia un proceso cuyo protagonista es el *S. mutans*, cuyo sustrato fundamental es la sacarosa, del cual se metabolizan los ácidos y polisacáridos intra y extracelulares que inicia el proceso llamado desmineralización, que ocurre tanto en zonas interproximales, caras libres como en fosas y fisuras e incluso en el cemento dentario, según los estudios el hospedador principal del microorganismo *Streptococcus mutans* es el hombre, por el alto nivel de sacarosa en la dieta, que refleja su presencia en la placa bacteriana que induce a la aparición de lesiones cariosas.¹²

Una característica de *Streptococcus mutans* es la capacidad de adherirse a la superficie dental, mediante una conexión e interacción inicial reversible entre el organismo y las superficies dentales cubiertas en saliva y una fase no reversible que ocurre con la participación y acción de un glucano insoluble, sintetizado a partir de la sacarosa por la acción enzimática de la glucosiltransferasa.¹²

Streptococcus mutans se encuentra en el 70 y 90 % de la población dentada, muy frecuente en pacientes con caries activa, y expuesto a riesgo cariogénico, su cantidad aumenta significativamente proporcionalmente al sustrato de su medio, se le considera el primer microorganismo cariógeno por excelencia por su especial capacidad de colonizar superficies duras.¹²

Factores de cariogenicidad:

1. La generación de mucopolisacáridos extracelulares usando de sustrato a la sacarosa.
2. Los *S. mutans* en la placa bacteriana accionan la adhesión, agregación y coagregación.
3. Producen la metabolización de polisacáridos intracelulares, para su desarrollo.
4. Tienen función acidógeno, acidófilo y acidúrico.
5. Transformación de azúcares a ácidos lácticos y otros ácidos orgánicos para su acción patógena.

Factores de virulencia

El microorganismo *Streptococcus mutans* es el causante principal de la caries dental. Mantiene factores de virulencia mediante la multiplicación, colonización y permanencia en la placa dental sobre las superficies del diente. Se han identificado los factores de virulencia principales de los *Streptococcus mutans* y ellas son las adhesinas, proteínas superficiales, ácidos, glucosil transferasas y mutacina.¹²

Adherencia microbiana

La facultad de adhesión les permite a los microorganismos desarrollarse, multiplicarse y crear un ambiente como ecosistema para interrelacionarse y establecerse como participantes de la microbiota oral, en un ambiente desequilibrador del pH, para aumentar su accionar en los tejidos dentales del hospedero.

Los propóleos

Del griego (gr. própolis) son unas mezclas resinosas que obtienen las abejas de las yemas de los árboles y que luego procesan en la colmena como sellante de pequeños huecos (6 mm o menos), en ocasiones mezclado con cera y para barnizar todo el interior de la colmena. Para huecos mayores, las abejas usan cera. El color del propóleo depende de la fuente de la que haya sido obtenido, siendo el más común marrón oscuro. A temperatura ambiente (20 °C), el propóleo es pegajoso y a temperaturas menores solidifica.¹²

El propóleo, según han demostrado varios estudios científicos, posee muchas otras propiedades medicinales, entre las que se le reconocen: antibióticas (fungicida y bacteriana), cicatrizantes, antiinflamatorias, analgésicas, antialérgicas, epitelizantes y anestésicas, entre otras.¹²

Esta sustancia resinosa, de color verde o casi negro, que obtienen las abejas, también contiene provitamina A, vitaminas del grupo B (especialmente B3), aminoácidos, minerales y bioflavonoides (vitamina P).¹²

Las abejas utilizan el propóleo para cubrir herméticamente las paredes de la colmena y así protegerla de virus, hongos y bacterias.¹²

El término propóleo significa "defensa de la ciudad" y así lo demuestran sus características antibióticas en la defensa de las colmenas de abeja, protegiendo de virus y bacterias al lugar donde ellas viven y trabajan elaborando la miel que tanto nos gusta y nos beneficia.

A través de confirmaciones científicas en el laboratorio se han confirmado una gran cantidad de propiedades del propóleo, todas ellas muy beneficiosas para nuestro organismo. El propóleo combate las infecciones, tiene propiedades antiinflamatorias y cicatrizantes, propiedades antivirales entre otros muchos beneficios.¹³

Odontología

Incrementa la salud bucal por sus principios antisépticos, antibióticos y antiinflamatorios. Además estimula la generación de la dentina (esmalte dental) e impide la formación de caries y placa bacteriana.¹³

Contraindicaciones

Ninguna. No se han detectado reacciones alérgicas, ni toxicidad por sobredosis. Se ha demostrado perfectamente compatible y hasta complementario de otras prácticas terapéuticas.

Cuidados

Para mantener sus propiedades requiere que se lo preserve de la luz y de la temperatura, dada las delicadas características biológicas de sus componentes.¹³

El propóleo comercializado:

Propóleo en Spray

Es un producto manufacturado con un recipiente que contiene el compuesto a presión como nebulizador que es muy eficaz y práctico, por sus características comprobadas resulta fácil y preciso para uso de la cavidad bucal y de la garganta.¹³

Con aditivos saborizantes, es usado para mejorar y refrescar el aliento, aparte de mantener una capa protectora que dificulta la acción de los virus, bacterias y proliferación de hongos sobre las mucosas de faringes, laringe y garganta; con el adicional del efecto antiinflamatorio.¹³

Por consecuencia protege al esmalte y dentina porque impide la formación de caries y placa bacteriana, agregado al alivio que proporciona del ardor y molestias de la garganta o zona bucal afectada.¹³

No existen contraindicaciones para el propóleo en Spray a menos que la persona resulte alérgica al propóleo, al alcohol o a los productos apícolas.¹³

Propóleo en gotas

El propóleo en gotas es una solución hidroalcohólica que está formulada para actuar como agente protector sobre el organismo ya que ayuda a mejorar el sistema inmunológico, actúa como antiviral, antiparasitario, antibiótico y antimicótico natural,¹³ Comprobada acción que limita el crecimiento y desarrollo del *Streptococcus mutans* que metaboliza ácidos desmineralizantes en tejidos dentales.¹⁴

Característica de transmisión, colonización y estabilidad de *Streptococcus mutans* en la cavidad oral.

Es conocida la cualidad colonizadora de los Streptococcus del grupo mutans, y la función principal en la generación de la caries dental, es un patógeno cuyas propiedades han sido analizadas en la producción de infecciones, sus factores de virulencia, adhesión y capacidad de adaptarse en la ecología de microorganismos bacteriológicos de la placa bacteriana de la superficie de los dientes.¹⁵

El ecosistema microbiológico estudiado con los factores de patogenicidad de *S. mutans* y su capacidad de sobrevivencia en la correlación con la biodiversidad de especies permite comprender su alto grado de patogenicidad y sus fases de adaptación y cambios en su estructura en la difusión y multiplicación con diferentes biotipos en el mismo portador o individuo y la manifestación e influencia demostrando su capacidad virulenta para sobrevivir a pesar de las diferentes condiciones ambientales.¹⁵

Los niños al nacer son infectados por una transmisión directa del *S. mutans* a la cavidad bucal que se genera de madre a hijo de manera involuntaria por diversas formas de unión directa o transmisión vertical, mientras que el enlace o transmisión con los demás integrantes de la familia, especialmente los tutores o personal de cuidado y se le llama vía horizontal que comprende desde que el niño nace hasta la adultez.¹⁵

La característica de persistir en sus genotipos en la cavidad oral en cada etapa de la vida de la persona infectada como una persistencia "intraindividual" hace comprender la sobrevivencia de este microorganismo respecto a la permanencia que pueden alcanzar en un huésped y la correlación con la manifestación de cualidades fenotípicas que les pueden dar la capacidad de formar la placa o biopelícula, con su sistema de adhesión además de permitirle situaciones de estadíos ácidos y básicos cuando el pH asciende y desciende.¹⁵

No es necesario que haya dientes en los niños para que ocurra la colonización de *Streptococcus mutans* en la mucosa bucal de los niños, llamada "ventana de infección", se presume que tal transmisión vertical u horizontal pueda ocurrir en niños con riesgo alto ser más predisponentes a que se facilite el proceso que permita la diseminación activa, la transmisión y la multiplicación del microorganismo a temprana edad.¹⁵

En la literatura mencionan que hay dos eventos que evidencian que *S. mutans* pueda afectar en etapa pre dental: Uno, cuando los microorganismos

Streptococcus mutans y *Streptococcus sobrinus* colonizan superficies de tejidos blandos y mucosas.

Dos, cuando los ataques de caries son muy tempranos apenas los primeros dientes erupcionan, estos detalles hacen hincapié en que la diseminación de microorganismos es a etapas muy tempranas en la cavidad oral, previo a la erupción de dientes, por *S. mutans* y por ello aumenta el riesgo de caries y hace que su patogenicidad se desarrolle a muy cortos años de edad.^{15, 16}

En los estudios microbiológicos de los iniciadores de caries, se han encontrado unos cincuenta y dos genotipos diferentes en niños, de los cuales dieciséis de ellos han sido transmitidos por las madres.¹⁷

Se observa la tendencia hacia la permanencia de los microorganismos derivados de las madres, la colonización del genotipo materno se caracteriza por impedir con la colonización de otros genotipos.¹⁷

Es una característica la diversidad de genotipos *S. mutans* en diferentes edades y en diferentes lugares de la cavidad bucal, como por ejemplo, los más usuales son saliva, dorso de la lengua, mucosa alveolar y biopelícula dental, de manera homogénea en niños, considerando que el lugar más preferente es en la placa dental o biopelícula dental por el gran número de genotipos de *S. mutans* y las cepas aisladas.¹⁸

En trabajos de laboratorio, con similitud como huellas dactilares, se ha evidenciado igualdad y homología entre cepas de *S. mutans* de miembros de la misma familia que demuestran la existencia de transmisión vertical y

horizontal además de una permanente colonización de *S. mutans* que continua hasta que la persona madura hacia la adultez.^{17,18}

Los resultados de un estudio prospectivo demostraron que la colonización inicial por *S. mutans* de 46 niños de los Estados Unidos al nacer hasta los 5 años de la edad, de madres con alto grado de *S. mutans*, se desarrolló durante período de 19 a 31 meses de edad, por lo tanto, la ventana de infectividad fue definida en ese intervalo temprano, más aún cuando el *S. mutans* es elevado.¹⁹

***Streptococcus mutans*, adhesión y desarrollo inicial de la caries**

La diversidad de las cepas de *S. mutans* no son sólo por su adaptación al medio, ocurre también en aquellos que son fenotípicamente homogéneas, pero como lo demuestran las recientes investigaciones existe alto grado de diversidad genética, serológica y bioquímica de *S. mutans*. También la diversidad se observa a nivel de enzimas producidas por las múltiples especies de *S. mutans* tales como las deshidrogenasas, glucosiltransferasas, aldolasas e invertasas. Se recomienda que la serotipificación sea un procedimiento rutinario para detectar grupos inmunológicos y tipos de streptococcus.²⁰

Se ha comprobado que las glucosiltransferasas (Gtfs) de *S. mutans* cumplen papeles vitales para el desarrollo de la placa dental virulenta. Las Gtfs se organizan para la producción de glucanos in situ sobre el esmalte, generando una matriz insoluble para la formación de la placa.²¹

Los agentes que inhiben las Gtfs en solución, no son eficientes sobre las enzimas adsorbidas. Existen otros productos bacterianos solubles, hallados usando técnicas inmunológicas, como la fructosiltransferasa, Glucosiltransferasa (Gtf) y ácido lipoteicoico en la película formada in vitro e in vivo a partir de saliva entera.²¹

Observando que cuando las enzimas se insolubilizan permanecen muy activas en una amplia gama de valores de pH, facilitando la formación de glucanos in situ, para mayores sitios de enlace para los microorganismos orales.²²

Coagregación

La adhesión que es característica del *Streptococcus mutans* a las superficies, también se une a otros Streptococcus y con bacterias de otras especies, mediante un elemento de unión de dextranos de alto peso molecular, por ello muchas cepas de *S. mutans* se aglutinan (adherencia homóloga) y también se ha reportado que ciertas cepas de *S. mutans* forman agregados con Nocardia, Neisseria al igual que con Candida albicans (adherencia heteróloga).²³

Generalmente la ejecución de tales procesos complejos intervienen diversos factores que la influyen, ejemplo la dieta con el consumo de sacarosa que constituyen la película o placa bacteriana, la cual es metabolizada por *S. mutans* y *C. albicans*, creando un ambiente acidogénico que es muy favorable para ambos.

Pruebas diagnósticas para el aislamiento, conteo y tipificación de *Streptococcus mutans*

A nivel de la ciencia de microbiología hay muchas formas de tecnología para el estudio y el diagnóstico de las cepas de patógenos causantes de la caries y enfermedad periodontal, mediante microscopios electrónicos, técnicas de cultivos, inmunología, y los más innovadores como son las técnicas de marcadores moleculares.²⁴

Microscopía directa

En un diagnóstico básico se obtiene información respecto a su estructura morfológica tradicional que permite la clasificación de Streptococos Gram positivos.

Un gran apoyo resulta la microscopía electrónica para identificar los diferentes cambios comparativos de los microorganismos en la placa, con la limitación de sólo establecer morfotipos, ni géneros ni especies bacterianas.²⁵

Inmunoensayos

La factibilidad de la detección de *S. mutans* mediante los inmuno ensayos son su sencillez y rapidez, pero estos procedimientos pueden dificultarse o alterarse cuando hay reactivos que se cruzan con especies no incluidas en la batería (Phadebact *Streptococcus*) o con bacterias no cultivables.²⁶

Pruebas de técnicas moleculares

Actualmente el diagnóstico molecular es posible, por las técnicas basadas en el análisis del ADN o ácido desoxirribonucleico, la ingeniería genética, ha hecho factible que se identifique rápidamente la clasificación de microorganismos, también el estudio del genoma humano respecto a los genes que tienen el acondicionamiento para la generación de enfermedades, ha abierto dos caminos a seguir, la forma directa del diagnóstico de qué microorganismo causa la patología estudiada y el estudio de nuestro mapa genético en toda su amplitud, la posibilidad de detener los flagelos de enfermedades sistémicas o por lo menos identificar los condicionantes de ellas.²⁶

También en proyección son de suma necesidad en los estudios epidemiológicos, identificación de enterotoxinas, hallazgos de genes de resistencia, identificación de especies difíciles de cultivar o no cultivables, procesos de clonación de secuencias de genes, y derivaciones.²⁶

En los estudios bioquímicos moleculares, se encontró que dieciocho cepas estreptocócicas son cariogénicas señaladas y clasificadas como parte de la familia de *Streptococcus mutans* mediante análisis con pruebas bioquímicas específicas e deshidrogenasas, se descompusieron las bases del ADN y las homologías de la secuencia del ADN, calificándolas por ligeras variaciones en su capacidad de fermentación, en la composición de sus núcleo celular y en la secuencia heterológica que hay entre estas cepas.²⁷

Permitiendo que por los estudios moleculares se tenga la seguridad de su identificación de una cepa u otra con base en las diferencias bioquímicas y genéticas.²⁷

Actualmente se está superando las limitaciones de los métodos de cultivo que incluyen la detección de *Streptococcus mutans* en las muestras clínicas, situaciones de inconsistencias sobre el medio de cultivo usado, su alto costo y la dedicación que requiere con personal calificado, viendo que no se pierda las posibilidades de uso práctico, rápido y eficiente en un futuro cercano, en los laboratorios por ahora sólo se tiene resultados con muestras viables haciendo que su aplicación en estudios epidemiológicos y de desempeño en investigación sea impráctica.²⁷

Los avances han permitido desarrollar algunos iniciadores (Primers) y sondas (Probes) de DNA ya que los métodos de cultivo convencionales pueden limitar los estudios de población y su interacción con otras bacterias en la cavidad oral.

Diversos estudios enfocaron sus objetivos en los genes específicos asociados con la virulencia de *Streptococcus mutans*, tales como glucosiltransferasas, fructosiltransferasas, dextranasa y proteína fijadora de glucanos B, el sistema de fosfotransferasa de la sacarosa dependiente del fosfoenolpiruvato y el antígeno proteínico.

Así mismo crearon otros Primers para amplificar regiones específicas de regiones de los genes del ácido ribonucleico RNA 16S del *S. mutans*, encontrando que muchos Primers funcionan bien para cultivos puros de *Streptococcus mutans*.

Aún está confirmándose la información sobre otras especies bacterianas que actúan en el mismo hábitat o ecosistema de *S. mutans* y la especificidad de sitios genéticos no únicos para *Streptococcus mutans*.^{27, 28}

III. HIPÓTESIS:

3.1 Hipótesis

El propóleo natural tiene mayor efectividad antimicrobiana comparado con el propóleo comercializado frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación:

El tipo de investigación del trabajo es:

- Según el investigador: Experimental: De tipo Pre-experimento; puesto que se analizó la comparación de la efectividad antibacteriana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al *Streptococcus mutans*.
- Según el enfoque de la investigación: Cuantitativo
- Según la planificación en la toma de datos: Prospectivo;
- Según el número de variables de interés: Analítico; porque plantea y propone hipótesis.

4.2 Población y muestra

Población: estuvo conformada 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.

Muestra: estuvo conformada por las 16 placas Petri donde se cultivó la bacteria *Streptococcus mutans*.

La muestra estuvo formada por 16 placas Petri con *Streptococcus mutans* donde se colocó 5 discos en cada placa que correspondió a las repeticiones todo ello de acuerdo a estudios previos que trabajaron con variables similares como las investigaciones de:

- Mayta Tovalino F, Sacsquispe Contreras SJ (2010); en su investigación utilizo 12 placas Petri con *Streptococcus mutans*, con 4 discos en cada placa siendo cada disco una repetición donde calculo el efecto antibacteriano del extracto etanolico de propóleo frente al *Streptococcus mutans*.³¹
- Arévalo Pinedo CM (2014); en su investigación utilizo 16 placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans* donde se colocó 4 discos siendo cada disco una repetición, para poder determinar el efecto antimicrobiano de los extractos etanólicos de propóleo (De Chepen, Ayacucho y Moyobamba) frente al *Streptococcus mutans*.³²
- Jara Muñoz RP (2014); su muestra estuvo formada por 10 placas Petri con cepas de *Streptococcus mutans* en el cual colocaron 4 discos siendo cada disco una repetición donde evaluaron el efecto antibacteriano de 4 propóleos comerciales y un extracto etanólico de propóleo natural frente al *Streptococcus mutans*.³³

El tipo de muestreo es no probabilístico, por conveniencia.

4.2.1 Criterios de selección:

4.2.1.1 Criterios de Inclusión

- Cepas de *Streptococcus mutans*
- Extracto de Propóleo Natural
- Extracto de Propóleo Comercial
- Halos de inhibición mayores a 6 mm

4.2.1.2 Criterios de Exclusión

- Placa Petri defectuosa
- Agares contaminados
- Propóleo contaminado

4.3 Definición y operacionalización de variables

Variables	Definiciones Operacionales	Indicadores	Tipo	Escala	Valores
Efecto antibacteriano	Capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) debido a la presencia de distintos extractos de propóleo.	Método de interposición de agares	Cuantitativa	De razón	Halos de inhibición
Extracto de propóleo natural y comercializado	Sustancias a diferentes concentraciones, para identificar cual es más efectiva contra la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	Asignación de la sustancia experimental	Cuantitativa	De razón	Concentraciones: - 25% - 50% - 75% - 100%

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

El presente estudio tuvo como finalidad comparar el efecto antibacteriano del propóleo comercial (en extracto etanólico) y un extracto etanólico de propóleo de Chiclayo, los cuales se elaboraron en el laboratorio de microbiología en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

Para cada porcentaje de dilución se analizaron 2 placas Petri con 5 discos cada placa, con la misma cantidad de propóleo, en cada una de ellas se evaluó el tamaño de los halos de inhibición.

Se procedió de la siguiente manera:

- Se colocó en las placas Petri la solución de extracto etanólico de propóleo natural al 25% 50% 75% y 100% para posteriormente se pueda hacer la medición halos.
- Se colocó en las placas Petri la solución de extracto etanólico de propóleo comercial al 25% 50% 75% y 100% para posteriormente hacer la medición halos.
- Los datos obtenidos se recolectaron en una ficha elaborada específicamente para esta investigación (Anexo 1)

4.4.1 Obtención del Propóleo

En el estudio se utilizó 2 tipos de propóleos, 1 comercial y 1 propóleo natural (extracto etanólico, elaborado en el laboratorio).

El propóleo comercial corresponden a la siguiente marca: Honeybee ® PROPOLEO.

El Propóleo natural fue obtenido de los Apicultores de la Ciudad de Chiclayo - Lambayeque se procesó en el laboratorio de Farmacia de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) para poder elaborar el extracto etanólico de propóleo.

4.4.2 Preparación del extracto etanólico del propóleo de Chiclayo.

El propóleo fue extendido sobre un campo y se seleccionó aquellos que no presentaban impurezas.

Luego fue cortado en trozos pequeños para el proceso de evaporación.

El extracto etanólico se preparó utilizando 100g de propóleo/ 100ml de alcohol, para poder mezclar.

Posteriormente la muestra fue filtrada con papel filtro Whatman N°60 por tres veces.

Luego se realizaron las diluciones del propóleo natural y el propóleo comercial.

- Dilución del Propóleo natural a los porcentajes de 25%, 50%, 75% y 100% colocando cada porcentaje en un frasco al:
 - 25% colocamos 2ml de extracto etanólico de propóleo y 1 ml de alcohol.
 - 50% colocamos 1.5ml de extracto etanólico de propóleo y 1.5 ml de alcohol.
 - 75% colocamos 1 ml de extracto etanólico de propóleo y 2 ml de alcohol.
 - 100% colocamos 2ml de extracto etanólico de propóleo.

- Dilución del Propóleo comercial a los porcentajes de 25%, 50%, 75% y 100% que colocamos cada porcentaje en un frasco al:
 - 25% colocamos 2ml de extracto etanólico de propóleo y 1 ml de alcohol.
 - 50% colocamos 1.5ml de extracto etanólico de propóleo y 1.5 ml de alcohol.
 - 75% colocamos 1 ml de extracto etanólico de propóleo y 2 ml de alcohol.
 - 100% colocamos 2ml de extracto etanólico de propóleo

4.4.3 Obtención del cultivo puro *Streptococcus mutans* ATCC 25175

El cultivo puro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, lo proporciono el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT)

4.4.4 Reactivación de las cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

El cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de microbiología en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), bajo la supervisión de un microbiólogo antes de realizar el cultivo de las cepas.

Las cepas bacterianas fueron reactivadas y cultivadas en placas Petri con Agar sangre (se utilizó agar a base sangre de Merck, al cual se le incorporó 5% sangre de conejo).

Las placas fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis, a 37°C, en Jarra Gaspak durante 48 hrs.

4.4.5 Medios de cultivo y reactivos necesario para la prueba.

- Agar Müeller Hinton
- Caldo Müeller Hinton
- Agar Müeller Hinton con 5% de sangre de conejo.
- Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

4.4.6 Preparación del Agar Müeller Hinton

Preparar el medio a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Autoclavar y dejar enfriar en baño de agua maría hasta que alcance los 45°C - 50°C, Repartir el medio en placas Petri, de manera que el grosor del agar en la placa sea de 4 mm.

4.4.7 Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

Para estandarizar la densidad del inóculo se usó una suspensión de sulfato de bario (0,5 de la escala de Mac Farland) como estándar, preparación del estándar de turbidez. Todo el procedimiento se realizó a lado de un mechero para evitar la contaminación ambiental.

4.4.8 Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, rotando el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Se inoculó la superficie seca de la placa de Müeller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de colocar los discos dejar secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido. Todo el procedimiento se realizó a lado de un mechero para evitar la contaminación ambiental.

4.4.9 Aplicación de los discos

Los discos estaban previamente empapados con las diluciones del extracto etanólico de propóleo. Colocamos los discos individuales sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril o la punta

de una aguja estéril presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.

Distribuir los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del otro en total colocamos 5 discos por cada placa Petri que contenían diferentes porcentajes de extractos etanólico de propóleo. Todo el procedimiento se realiza a lado de un mechero para evitar la contaminación ambiental.

4.4.10 Incubación

Incubamos las placas Petri en posición invertida en Jarra Gaspak a 35°C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos. Las placas de *Streptococcus mutans* con extractos de propóleo a diferentes porcentajes, deben ser incubadas en atmósfera del 5% de CO₂ (para poder obtener el CO₂ dentro de la Jarra Gaspak colocamos una vela prendida y se procedió a cerrar la Jarra Gaspak y se colocó en la estufa).

Después del tiempo recomendado de incubación que es de 48 hrs examinar cada placa y medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

4.4.11 Lectura de las placas e interpretación de los resultados

Los resultados obtenidos se consignaron en una ficha de recolección de dato creada específicamente para esta investigación (Anexo2).

Se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), se usó una regla milimetrada. Se mantuvo iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros.

Se obtuvo en el propóleo natural unos halos de inhibición de 12mm, 10mm, 8mm y 7 mm a diferencia del propóleo comercial que solo observamos un halo de inhibición de 8mm.

4.4. Plan de análisis:

Para realizar la estadística, se utilizó la prueba estadística de Anova para ordenar y tabular los datos obtenidos del presente estudio, determinamos los resultados usando tablas y gráficos.

4.5.-Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	METODOLOGIA	POBLACIÓN
<p>Problema general:</p> <p>¿Cuál es la efectividad del propóleo natural y el propóleo comercial frente al <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar el efecto antimicrobiano del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i></p> <p>Objetivos Específicos:</p> <p>1.- Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i> al 100%.</p> <p>2.- Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i> al 75%.</p> <p>3.- Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i> al 50%.</p> <p>4. Determinar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i> al 25%.</p>	<p>Hipótesis general:</p> <p>El propóleo natural tiene mayor efectividad comparado con el propóleo comercializado frente a Cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>1. Evaluar la efectividad antimicrobiana del propóleo natural y el propóleo comercializado frente al <i>Streptococcus mutans</i> al 100%.</p>	<p>Tipo:</p> <p>El presente trabajo es una investigación cuantitativa, Nivel explicativo, Longitudinal, Analítico, Prospectivo, Pre Experimental</p>	<p>Población:</p> <p>La población está constituida por la bacteria <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>La Muestra:</p> <p>Para el trabajo de investigación se utilizó 16 placas Petri donde se cultivaron la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> (SM.)</p>

4.6 Principios éticos

El estudio se realizó con el consentimiento de los responsables del Servicio donde se realizó la investigación. Se reportó las incidencias de las visitas de manera inmediata si se identifican factores de riesgo agravados que originen la inmediata atención del facultativo. Se reportó informes periódicos y el informe final al coordinador de la sede. La investigación se llevó a cabo aprobado por el Comité de Investigación de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

TABLA N° 1:
ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE TODOS LOS PROPOLEOS EN TODAS LAS
CONCETRACIONES CON SUS MEDIDAS DE HALOS DE IHNIBICIÓN Y SU
DESVIACIÓN ESTÁNDAR

Nº	100%		75%		50%		25%	
	N	C	N	C	N	C	N	C
1	12	8	8	0	10	0	0	0
2	10	0	10	0	7	0	0	0
3	12	0	8	0	0	0	0	0
4	8	0	10	0	0	0	0	0
5	0	0	10	0	0	0	0	0
6	0	0	10	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0
Promedio	4.2	0.8	5.6	0	1.7	0	0	0
Desviación estándar	5.5	2.5	4.9	0	3.7	0	0	0

**Los halos de inhibición fueron medidos en mm*

**N (propóleo natural)*

**C (propóleo comercial) estadística*

TABLA N° 2:

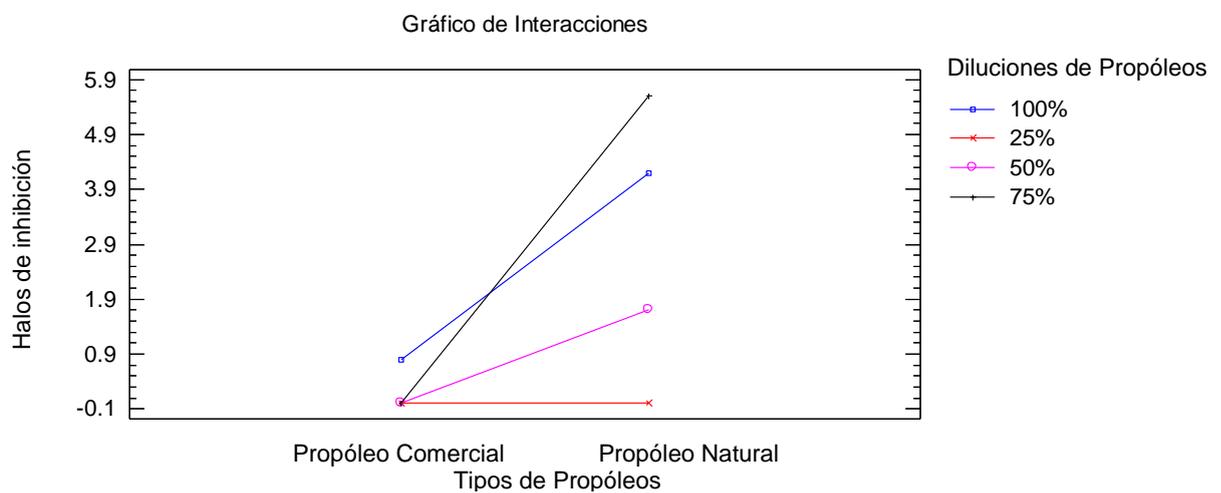
COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS TIPOS DE PROPÓLEO NATURAL Y COMERCIAL CON SUS CONCENTRACIONES (25, 50,75 Y 100%) SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175, SEGÚN HALOS DE INHIBICIÓN. (ANOVA)

Concentración de Propóleo	n	Promedio	Desviación Estándar	p
Propóleo Natural	100%	10	4.2	5.53373
	25%	10	0	0
	50%	10	1.7	3.653
	75%	10	5.6	4.8808
Propóleo Comercial	100%	10	0.8	2.5
	25%	10	0	0
	50%	10	0	0
	75%	10	0	0

- < 0.05 es significativo

TABLA N° 3:
ANÁLISIS DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACIONES DE PROPÓLEO
NATURAL DE 25, 50, 75 Y 100%, COMPARANDO EL TAMAÑO DE HALOS
DE INHIBICIÓN (en mm)

Grupos de tratamiento Propóleo Natural	n	Subconjuntos para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25%	10	0			
50%	10		1.7		
100%	10			4.2	
75%	10				5.6



5.2 Análisis de resultados

Como resultado podemos demostrar que entre el extracto etanólico del propóleo Natural de Chiclayo y el extracto etanólico del propóleo comercial al 25% y 50% no existieron halos de inhibición para evaluar la efectividad antimicrobiana y para poder realizar una comparación. También se evidencia que en el extracto etanólico de propóleo comercial al 75% no nos mostró datos para poder realizar una comparación (Tabla 01)

A diferencia del extracto etanólico de propóleo Natural de Chiclayo al 100% se observaron unos halos de inhibición de 12mm, 12mm, 10mm y 8mm, con una desviación estándar de 5.5 y el extracto etanolico comercial al 100% solo observamos un halo de inhibición de 8mm, con una desviación estándar de 2.5 (Tabla 01)

Se encontró resultado en el extracto etanólico de propóleo Natural de Chiclayo al 75% mostrando unos halos de inhibición de 10mm, 10mm, 10mm, 10mm, 8mm y 8mm, con una desviación estándar de 4.9.

Extracto etanólico del propóleo comercial al 75% no observamos halos de inhibición. (Tabla 01)

Como resultados de la prueba estadística de Anova del Propóleo Natural y sus concentraciones (25, 50,75 y 100%), realizamos una comparación del promedio y la desviación estándar para obtener el valor – P, obteniendo un

resultado que el Propóleo Natural tiene un valor estadísticamente significativo de $p = 0.02$ siendo <0.05 (Tabla 02). Como resultados de la prueba estadística de Anova del Propóleo Comercial y sus concentraciones (25, 50,75 y 100%), realizamos una comparación del promedio y la desviación estándar para obtener el valor – P, obteniendo un resultado que el Propóleo comercial tiene un valor estadístico de $p = 0.404$ siendo >0.05 (Tabla 02)

Se realizó el análisis de Post Hoc Tukey ya que encontramos un nivel de significancia en el Propóleo Natural de $p=0.02$, donde se realizó la comparación de las concentraciones (25, 50,75 y 100%) del Propóleo Natural para poder identificar que concentración tenía una diferencia significativa, que fue el de 75% obteniendo un promedio de 5.6 teniendo más efectividad antibacteriana (Tabla 03).

El estudio de Yu Q, demostró efectos erradicantes notables del extracto de propóleo en el biofilm de la placa criogénica, que muestra la inhibición de la síntesis de ácidos biofilm producido y polisacáridos extracelulares insolubles.⁶

Así mismo Mohsin concluyó que en su estudio *in-vivo* que el dentífrico Propólis reduce carga microbiana especialmente contra los *Streptococcus mutans* en la cavidad oral de pacientes jóvenes.⁸

El estudio de Jara demostró el efecto antibacteriano de cuatro propóleos comerciales y un extracto metanólico de propóleo natural frente al *Streptococcus mutans* donde observamos unos halos de inhibición de 3.3mm con una desviación estándar de 3.26 del extracto metanólico de propóleo natural, los propóleos comerciales arrojaron unos halos de inhibición de 1.3mm con una desviación estándar de 1.37 menor del extracto metanólico natural, al realizar una comparación in vitro del efecto antibacteriano de los cinco propóleos sobre las cepas de *Streptococcus mutans* muestran diferencias estadísticamente significativas ($p=0.001$).³³

VI. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

1. Concluimos que el extracto etanólico de propóleo Natural a la concentración de 75% nos mostró una diferencia significativa siendo mayor que la concentración de 100% y este siendo mayor que la concentración de 50%.
2. El extracto etanólico de propóleo comercial, encontramos como resultado que entre las concentración (25%, 50%, 75% y 100%) no hubo una diferencia significativa.

6.2 Recomendaciones:

1. Se recomienda poder realizar una investigación más a fondo del propóleo natural procedente de Chiclayo ya que se demostró actividad de efectividad antimicrobiana en la dilución al 75%.²⁹
2. Se recomienda realizar más estudios sobre el propóleo natural ya que debido a la presente investigación al 75% de propóleo natural esta puede ser empleado en pacientes.³⁰
3. Se recomienda que se realice un estudio exhaustivo comparando la efectividad antibacteriana frente al *Streptococcus mutas* en base a una muestra real de acuerdo a un formula de comparación de medias.³²

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Min Jung Kim, Chun Sung Kim, Byung-Hoon Kim. Antimicrobial Effect of Korean Propolis against the Mutans Streptococci isolated from Korean. The Journal of Microbiology, 2011; 49 (1): 161-4.
2. Chawalinee A, Krit S, Sukum E, Yingmanee T, Busaban S, Jakkapan S. Antibacterial Activity and Inhibition of Adherence of Streptococcus mutans by Propolis Electrospun Fibers. Rev AAPS PharmSciTech. 2015; 16:182-191.
3. Islam B, Khan S, Khan A. Dental caries: From infection to prevention. Med Sci Monit, 2007; 13(11): RA196- 203.
4. Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiology Reviews, 1986; 50: 353–80.
5. Hsin-Yi-Yi Yang, Wei-Li Ho, Cheng-Ming Chang, Cheng-Chun. Antibacterial Activity of Propolis Ethanol Extract Against Streptococcus Mutans as influenced by concentration, temperature, pH and cell age. Journal of Food and Drug Analysis, 2007; 15 (1): 75-81.
6. Yu Q, Effects of Yili dark bee propolis on oral cariogenic biofilm in vitro, 2015 Aug;33(4):343-6.
7. Veloz J, Antibiofilm Activity of Chilean Propolis on Streptococcus mutans Is Influenced by the Year of Collection, 2015;29 (1)3-5
8. Mohsin S, Manohar B, Rajesh S, Asif Y. Los efectos de un dentífrico que contiene propóleos en los estreptococos de Mutans: un estudio clínico-microbiológico. *Ethiop J Health Sci* . 2015; 25 (1): 9-16.

9. Tulsani SG, The effect of Propolis and Xylitol chewing gums on salivary Streptococcus mutans count: a clinical trial, 2014,25(6):737-41
10. Bellón Leyva Susana, Calzadilla Mesa Xiomara Maria. Efectividad del uso del propóleo en el tratamiento de la estomatitis aftosa. 2007 Sep 44(3).
11. Duailibe Silvana Alves de Carvalho, Gonçalves Azizedite Guedes, Ahid Fernando Jorge Mendes. Efecto de un extracto de propóleos sobre los recuentos de Streptococcus mutans in vivo. J. Appl. Oral Sci. Octubre de 2007; 15 (5): 420-423.
12. Espinosa-Cristobal LF, Martinez-Castanon GA, Tellez-Dector EJ, Nino-Martinez N, Zavala-Alonso NV, Loyola-Rodriguez JP. Adherence inhibition of Streptococcus mutans on dental enamel surface using silver nanoparticles. Mater Sci Eng C. 2013; 33: 2197–202.
13. Seidal V, Peyfoon E, Watson DG, Fearnley J. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. Phytother Res. 2008; 22 (9):1256–63.
14. Nuclease-Based Real-Time PCR Assay for Quantitative Detection of Cariogenic Dental Pathogens Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus. Journal of clinical microbiology. 2003;41(9):4438-41
15. Martínez MC RA. Estudio de las cepas de Estreptococos del grupo mutans presentes en binomios madre-hijo. Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia -. 2009;21(2):177-85.

16. Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Takeda M, Yoshioka H, et al. Detection of cariogenic *Streptococcus mutans* in extirpated heart valve and atheromatous plaque specimens. *Journal of clinical microbiology*. 2006 Sep;44(9):3313-7.
17. Napimoga MH, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. *Journal of Oral Science*. 2005;47(2):59-64.
18. Berkowitz RJ. *Mutans streptococci: acquisition and transmission*. *Pediatric dentistry*. 2006;28(2):106- 9; discussion 192-8
19. Alves AC, Nogueira RD, Stipp RN, Pampolini F, Moraes AB a, Gonçalves RB, et al. Prospective study of potential sources of *Streptococcus mutans* transmission in nursery school children. *Journal of medical microbiology*. 2009 Apr;58(Pt 4):476-81.
20. Rupf, M. Hannig, K. Breitung, W. Schellenberger, K. Eschrich TR and SK. Phenotypic Heterogeneity of Sm in Dentin. *J Dent Res*. 2008;87
21. Bowen WH, Koo H. Biology of *Streptococcus mutans*-derived glucosyltransferases: role in extracellular matrix formation of cariogenic biofilms. *Caries research*. 2011 Jan;45(1):69-86
22. Linossier A, Vargas A, Villegas R CE. Relación cuantitativa entre el nivel de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* en niños con síndrome de Down. *Medicina Oral* 2002; 2002;7(4):284-92
23. AL C. Four Types of *Streptococcus mutans* Based on Their Genetic, Antigenic and Biochemical Characteristics. *Joirrttnl of General Microbiology*. 1974;83:327-38

24. Linossier C Alfredo, Vargas D Alex, Zillmann G Gisela, Arriagada R Moisés, Rojas A Robinson VRR. Streptococci mutans: Método semi- cuantitativo para establecer el rango de riesgo de infección bucal en niños preescolares chilenos. Rev. méd. Chile. 2003;131:412-8
25. Franco e Franco TCC, Amoroso P, Marin JM, de Avila FA. Detection of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in dental plaque samples from Brazilian preschool children by polymerase chain reaction. Brazilian dental journal. 2007 Jan;18(4):329-33
26. Salazar LA, Vásquez C, Almuna A, Oporto G, Detecção A. Detecção Molecular de Estreptococos Cariogénicos en Saliva. Int. J. Morphol. 2008;26(4):951-8
27. Nakanishi H, Kido A, Ohmori T, Takada A, Hara M, Adachi N, et al. A novel method for the identification of saliva by detecting oral streptococci using PCR. Forensic science international. 2009 Jan 10;183(13):20-3
28. Nakano K, Nomura R, Shimizu N, Nakano K, Nomura R, Shimizu N, et al. Development of a PCR Method for Rapid Identification of New Streptococcus mutans Serotype k Strains. Journal of clinical Microbiology. 2004;42(11):4925-30
29. Zhou Chen, Deepak Saxena, Page W. Caufield, Yao Ge, Minqi Wang and YL. Development of species-specific primers for detection of Streptococcus mutans in mixed bacterial samples. FEMS Microbiol Lett. 2009;272(2):154-62.

30. Espinosa-Cristobal LF, Martinez-Castanon GA, Tellez-Dector EJ, Nino-Martinez N, Zavala-Alonso NV, Loyola-Rodriguez JP. Adherence inhibition of *Streptococcus mutans* on dental enamel surface using silver nanoparticles. *Mater Sci Eng C*. 2013; 33: 2197–202.
31. Mayta Tovalino F, Sacsquispe Contreras SJ. 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). *Rev Estomatol Herediana*. 2010; 20(1):19-24.
32. Arévalo C, Efecto antimicrobiano in vitro de tres variedades de Própolis frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, [Tesis] Universidad Privada Antenor Orrego 2014. 90 p.
33. Jara R, Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de cinco propóleos peruanos sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), [Tesis] Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas 2014. 74 p.

ANEXOS

Anexo 1: Ficha de recolección de datos

Nombre del operador: AYALA REYES MARIA BELEN **Fecha:** 01/03/2017

Nombre del extracto: EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO NATURAL (CHICLAYO)
EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO COMERCIAL

Nombre del microorganismo: *STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175*.

A qué porcentaje tiene efecto antibacteriano: _____

PROPÓLEO NATURAL		
PROPÓLEO	CEPAS	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN
25%	SM	
50%	SM	
75%	SM	
100%	SM	

PROPÓLEO COMERCIALIZADO		
PROPÓLEO	CEPAS	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN
25%	SM	
50%	SM	
75%	SM	
100%	SM	

Anexo 2: Ficha de recolección de datos

Nombre del operador: AYALA REYES MARIA BELEN **Fecha:** 01/03/2017

Nombre del extracto: EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO NATURAL (CHICLAYO)
EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO COMERCIAL

Nombre del microorganismo: *STREPTOCOCCUS MUTANS ATCC 25175*.

A qué porcentaje tiene efecto antibacteriano: AL 75% DEL PROPÓLEO NATURAL

PROPÓLEO NATURAL		
PROPÓLEO	CEPAS	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN
25%	SM	RESISTENTE
50%	SM	10 ,7 mm
75%	SM	6 halos de 10 mm y 2 halos de 8 mm
100%	SM	2 halos de 8 mm 1 halos de 10 mm 2 halos de 12 mm

PROPÓLEO COMERCIALIZADO		
PROPÓLEO	CEPAS	MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN
25%	SM	RESISTENTE
50%	SM	RESISTENTE
75%	SM	RESISTENTE
100%	SM	8mm

Anexo 3: Tablas de ANOVA

Tabla ANOVA para Halos de inhibición por Concentración Propóleo Natural

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	188.275	3	62.7583	3.7	0.0202
Intra grupos	610.1	36	16.9472		
Total (Corr.)	798.375	39			

Tabla de Medias para Halos de inhibición por Concentración Propóleo Natural con intervalos de confianza del 95.0%

<i>Error Est.</i>					
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
100%	10	4.2	1.30181	2.33309	6.06691
25%	10	0.0	1.30181	-1.86691	1.86691
50%	10	1.7	1.30181	-0.166909	3.56691
75%	10	5.6	1.30181	3.73309	7.46691
Total	40	2.875			

Tabla ANOVA para Halos de Inhibición por Concentración Propóleo Comercial

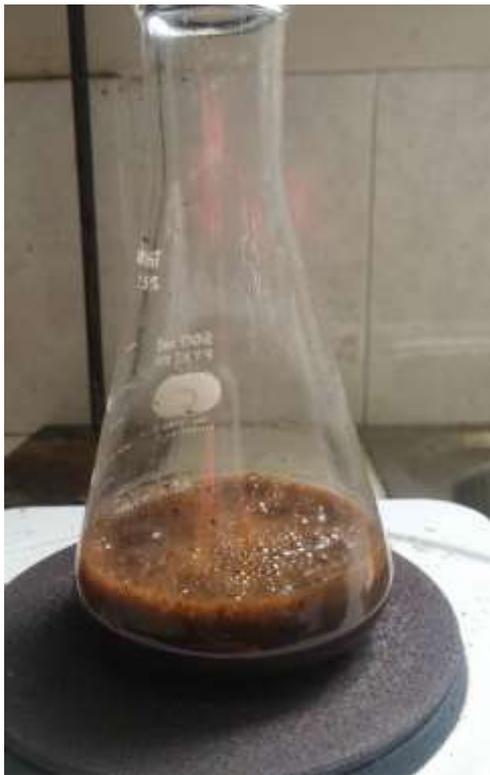
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4.8	3	1.6	1.00	0.4040
Intra grupos	57.6	36	1.6		
Total (Corr.)	62.4	39			

Tabla de Medias para Halos de Inhibición por Concentración Propóleo Comercial con intervalos de confianza del 95.0%

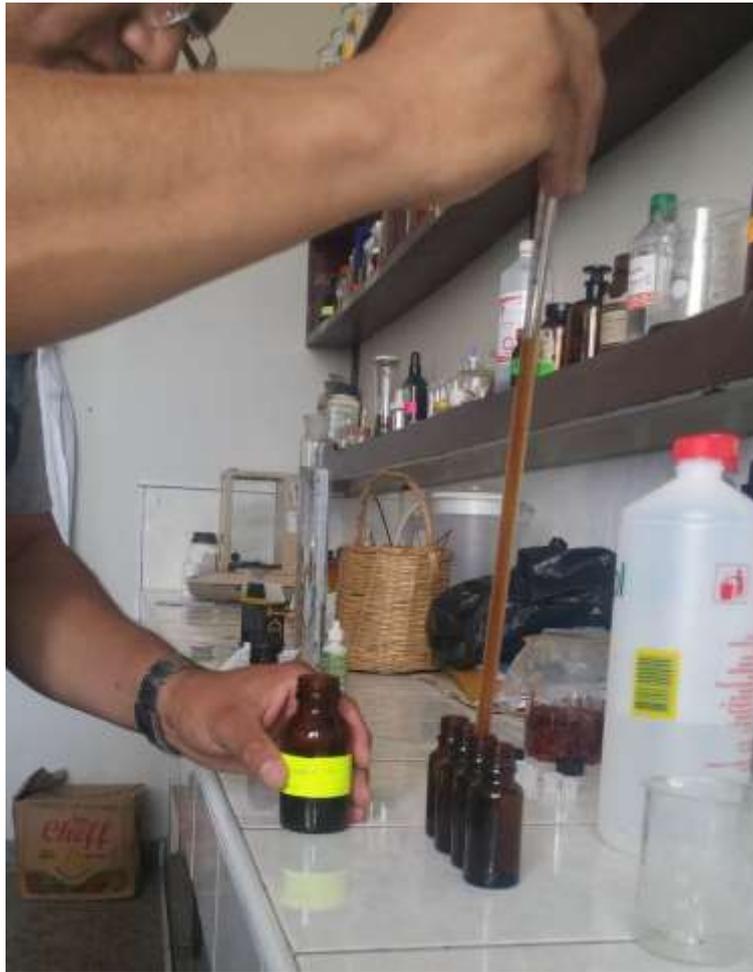
<i>Error Est.</i>					
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
100%	10	0.8	0.4	0.0381418	1.56186
25%	10	0.0	0.4	-0.761858	0.761858
50%	10	0.0	0.4	-0.761858	0.761858
75%	10	0.0	0.4	-0.761858	0.761858
Total	40	0.2			

Anexo 4: Fotografías

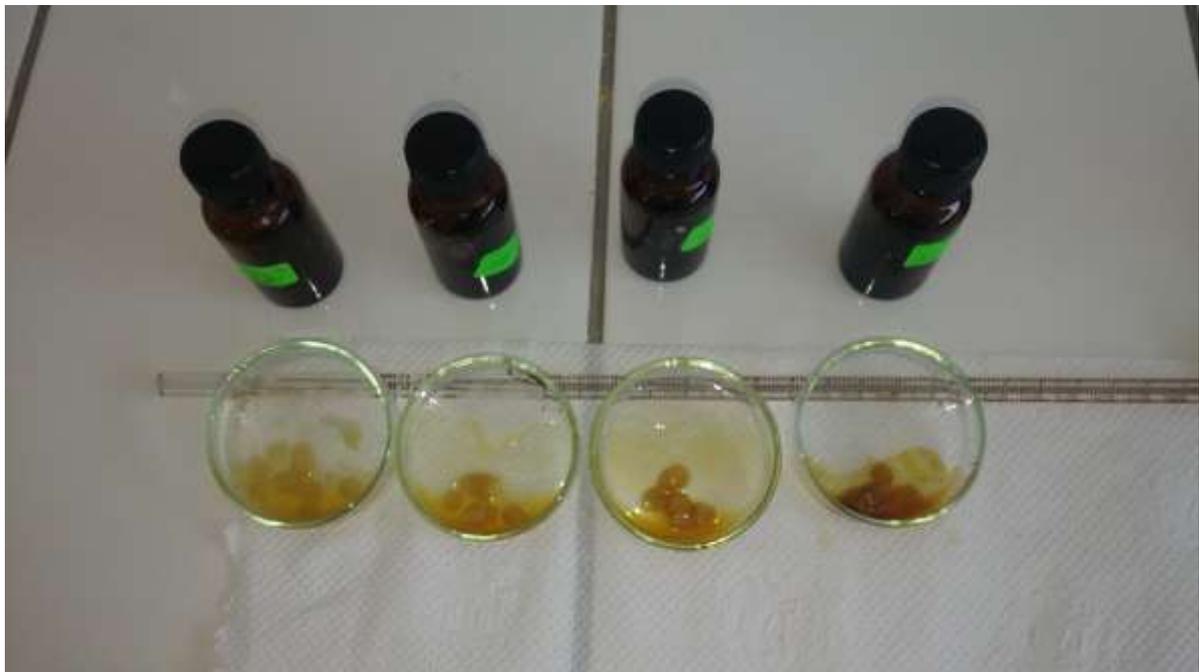


















*100% Propóleo Natural



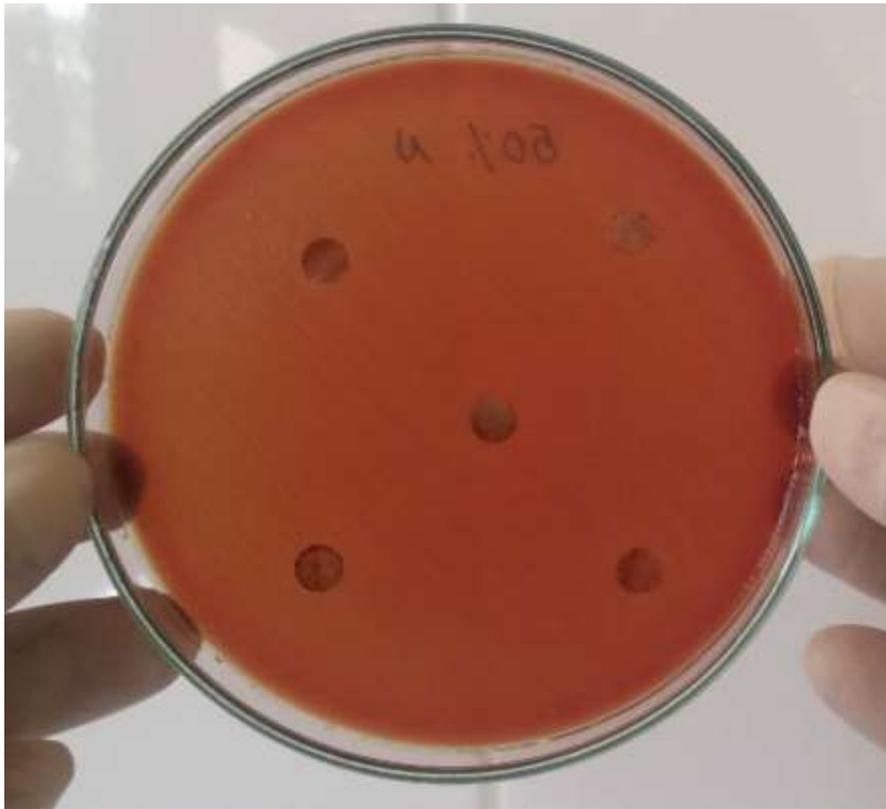
*100% Propóleo Comercial



*75% propóleo Natural



*75% Propóleo Comercial



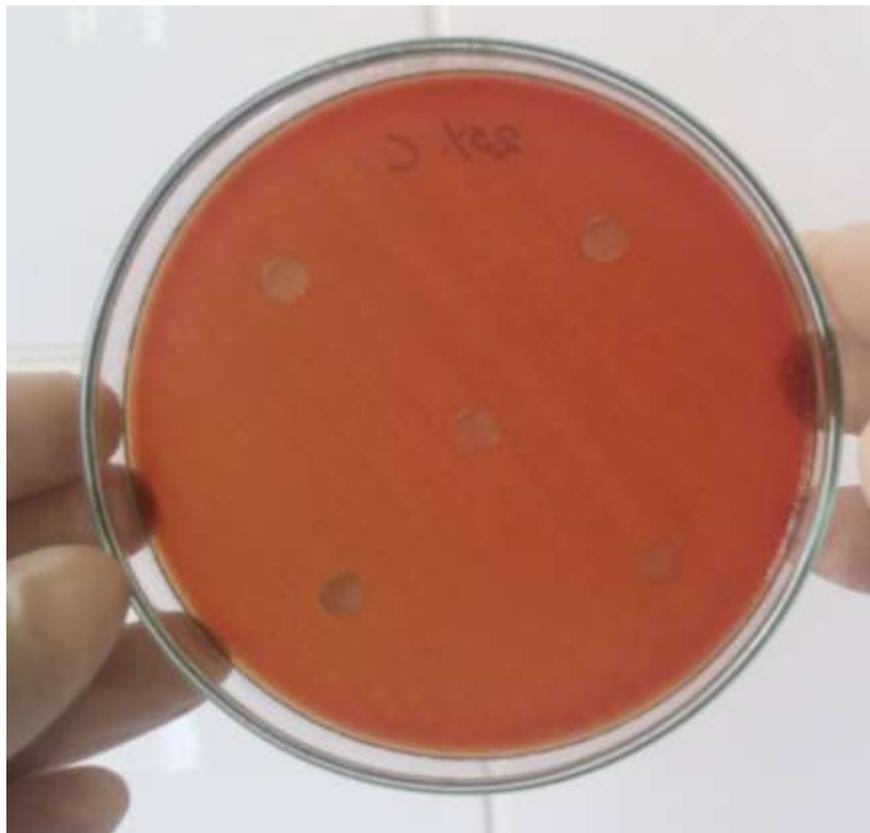
*50% Propóleo Natural



*50% Propóleo comercial



*25% Propóleo Natural



*25% Propóleo Comercial