



# **Universidad Norbert Wiener**

**UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER**

**Escuela de posgrado**

**Tesis**

EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

**TITULO DE CIRUJANO DENTISTA**

Rubila Celeste, OCHOA CONCHA

**2021**

**LIMA – PERÚ**

**Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de Streptococcus Mutans (ATCC 25175).**

**Estudio comparativo in vitro. 2021**

**Asesor:**

**Dr. Schwan Silva, Ignacio Segundo**

**Código ORCID:  
0000-0002-7129-745X**

## DEDICATORIA

*Este proyecto va dedicado a mi padre.*

## AGRADECIMIENTO

*Agradecimiento especial a las personas que me brindaron su apoyo en todo momento durante la realización de este proyecto y a mi asesor, el Dr. Ignacio Schwan Silva por la orientación y el apoyo otorgado.*

## **MIEMBROS DEL JURADO**

*Asesor: Dr. Ignacio Segundo Schwan Silva*  
*Presidente: Dra. Llerena Meza de Pastor, Veronica Janice*  
*Secretario: Dra. Araujo Farje, Jessica Jazmín*  
*Vocal: Dra. Huapaya Pisconte, Gian Viviana*

## INDICE GENERAL

CAPITULO I: EL PROBLEMA .....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	1
1.2 Formulación del problema .....	4
1.2.1 Problema general.....	4
1.2.2 Problemas específicos .....	4
1.3 Objetivos de la investigación .....	5
1.3.1 Objetivo general .....	5
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 Justificación de la investigación .....	5
1.4.1 Teórica.....	5
1.4.2 Metodológica.....	6
1.4.3 Práctica .....	6
1.4.4 Social.....	6
1.5 Delimitaciones de la investigación .....	6
1.5.1 Temporal .....	6
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Antecedentes .....	7
2.2 Bases teóricas.....	11
2.2.1 Caries dental.....	11
2.2.1.1 Microbiología .....	12
2.2.1.2 Etiología .....	12
2.2.1.3 Epidemiología.....	12
2.2.1.4 Métodos de diagnóstico de caries .....	13
2.2.1.5 Proceso .....	14
2.2.2 Streptococcus mutans.....	15
2.2.2.1 Biopelícula dental.....	15
2.2.2.2 Formación de biopelículas.....	15
2.2.2.3 Acidogenicidad.....	15
2.2.2.4 Clasificación .....	16
2.2.3 Propóleo .....	17
2.2.3.1 Generalidades .....	17
2.2.3.2 Composición.....	17

2.2.3.3 Efecto antibacteriano .....	18
2.2.3 Cloruro de cetilpiridinio .....	18
2.2.3.1 Generalidades .....	19
2.2.3.2 Efecto antimicrobiano.....	19
2.2.3.3 Composición.....	19
2.2.3.4 Efectos adversos .....	20
2.2.3.5 Mecanismo de acción .....	20
2.2.4 Clorhexidina.....	20
2.2.4.1 Generalidades .....	20
2.2.4.2 Características.....	21
2.2.4.3 Mecanismo de acción .....	21
2.3 Formulación de hipótesis .....	22
2.3.1 Hipótesis general .....	22
2.3.2. Hipótesis específicas .....	22
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....	23
3.1 Método de la investigación .....	23
3.2 Enfoque de la investigación .....	23
3.3 Tipo de investigación.....	23
3.4 Nivel de la investigación.....	23
3.5 Diseño de la investigación .....	23
3.6 Población, muestra y muestreo .....	24
3.6.1 Población.....	24
3.6.2 Muestra.....	24
3.6.3 Tipo de muestreo.....	24
3.6.4 Variables y operacionalización .....	24
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	26
3.7.1 Técnica .....	26
3.7.2 Descripción de instrumentos .....	28
3.7.3 Validación .....	31
3.7.4 Confiabilidad.....	31
3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos .....	32
3.9 Aspectos éticos y administrativos.....	32
CAPITULO IV: DISCUSION DE LOS RESULTADOS.....	33

4.1 Resultados de investigación.....	33
4.1.1 Efecto antibacteriano a las 48 horas .....	33
4.1.2 Análisis de normalidad de resultados.....	37
4.1.3 Análisis de varianza de un factor (ANOVA) de los resultados.....	38
4.1.4 Grado de sensibilidad según la escala de Duraffourd a las 48 horas .....	39
4.2 Comprobación de hipótesis.....	40
4.3 Discusión de resultados .....	43
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	46
5.1 Conclusiones .....	46
5.2 Recomendaciones .....	46
REFERENCIAS .....	47
ANEXOS .....	51
ANEXO N°1: Matriz de consistencia.....	51
ANEXO N°2: Matriz de operacionalización de variables .....	55
ANEXO N°3: Ficha de recolección de datos.....	57
ANEXO N°4: Adquisición de la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans .....	59
ANEXO N°5: Materiales y equipos.....	60
ANEXO N°6: Obtención del extracto de propóleo al 30%.....	64
ANEXO N°7: Preparación de medio de cultivo del agar.....	67
ANEXO N°8: Preparación del inóculo de streptococcus mutans .....	69
ANEXO N°9: Inoculación de las placas con streptococcus mutans .....	70
ANEXO N°10: Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba .....	72
ANEXO N°11: Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente a Streptococcus Mutans .....	74
ANEXO N°12: Constancia de eliminación de desechos.....	76
ANEXO N°13: Bioseguridad y eliminación de desechos.....	77
ANEXO N°14: Validación de la ficha de recolección de datos.....	78
ANEXO N°15: Constancia del ensayo y recolección de datos.....	84
ANEXO N°16: Resultados.....	86
ANEXO N°17: Informe del asesor de turno .....	89

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de los halos de inhibición frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre y la diferencia entre el Extracto etanólico de propóleo al 30% y Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% mas Digluconato de clorhexidina al 0.05% .....	33
Tabla 2: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de extracto etanólico de propóleo al 30% vs Cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0.05% - Digluconato de Clorhexidina 0.05% frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas. ....	36
Tabla 3: Análisis de Normalidad de halos de inhibición frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre de Extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12% .....	38
Tabla 4: Prueba de Homogeneidad de Varianza para halos de inhibición de 48 horas.....	38
Tabla 5: Halos de inhibición a las 48 horas .....	39
Tabla 6: Grado de sensibilidad según escala de Duraffourd .....	40
Tabla 7: Prueba Post hoc de Bonferroni para comprobar efectividad antibacteriana a las 48 horas .....	41

## INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1: Medianas del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre. ....	35
Gráfico 2: Comparación del efecto antibacteriano de extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12% frente a Streptococcus mutan ATCC 25175 .....	36

## RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo comparar y determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175) mediante pruebas microbiológicas. De tipo experimental *in vitro*, usando como muestra 1, el extracto etanólico de propóleo al 30% y muestra 2, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y como grupo control el digluconato de clorhexidina al 0.12%. Se realizó la medición de halos de inhibición que se formaron alrededor de cada uno de los discos embebidos de las sustancias antibacterianas colocados en las placas, se incubarán por 48 horas y se medirán con regla de vernier. Se usará la escala de Duraffourd et al., 1986 para la interpretación del efecto antibacteriano frente a *streptococcus mutans*. Se usará la técnica de estriado y agotamiento en los agares. Se sembraron 30 unidades experimentales en agar sangre en el cual se colocarán 3 discos estériles de antibiograma de 6mm por placa inoculadas con *Streptococcus Mutans*. Se depositó en cada disco antibiograma 10 uL de cada sustancia de prueba y se anotó en una ficha de recolección de datos. Los resultados indicaron que para la muestra 1, extracto etanólico de propóleo al 30% con un promedio de medidas de halo de 18,79mm una media de 18.78 y desviación estándar 2.78. Para la muestra 2, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% obtuvo un promedio de 16,87mm de medición de halos, una media de 16,86 y desviación estándar 2,81. Son diferentes significativamente entre sí, ya que el valor de  $p=0.017$  siendo menor que  $p=0.05$ . En conclusión, el extracto etanólico de propóleo presentó una mayor efectividad antibacteriana frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas.

**PALABRAS CLAVE:** Efecto antibacteriano, halo de inhibición, *Streptococcus mutans*, *in vitro*, Propolis.

## ABSTRACT

The objective of this study was to compare and determine the antibacterial effect of 30% propolis ethanolic extract and 0.05% cetylpyridinium chloride plus 0.05% chlorhexidine digluconate on *Streptococcus Mutans* strains (ATCC 25175) through microbiological tests. Experimental in vitro type, using as sample 1, 30% propolis ethanolic extract and sample 2, 0.05% cetylpyridinium chloride plus 0.05% chlorhexidine digluconate and 0.12% chlorhexidine digluconate as a control group. The measurement of inhibition halos that formed around each of the disks embedded with the antibacterial substances placed in the plates was carried out, they will be incubated for 48 hours and they will be measured with a vernier rule. The scale of Duraffourd et al., 1986 will be used for the interpretation of the antibacterial effect against *Streptococcus mutans*. The striatum and depletion technique will be used in the agars. 30 experimental units were seeded in blood agar in which 3 sterile 6mm antibiogram discs per plate inoculated with *Streptococcus Mutans* will be placed. 10 uL of each test substance was deposited on each antibiogram disk and recorded on a data collection sheet. The results indicated that for sample 1, 30% propolis ethanolic extract with an average halo measurements of 18.79mm, a mean of 18.78 and a standard deviation of 2.78. For sample 2, 0.05% cetylpyridinium chloride plus 0.05% chlorhexidine digluconate obtained an average of 16.87mm of halo measurements, a mean of 16.86 and standard deviation 2.81. They are significantly different from each other, since the value of  $p = 0.017$  being less than  $p = 0.05$ . In conclusion, the ethanolic extract of propolis presented a greater antibacterial effectiveness against the ATCC 25175 strain of *Streptococcus mutans* at 48 hours.

**KEY WORDS:** Antibacterial effect, inhibition halo, *Streptococcus mutans*, in vitro, Propolis.

## INTRODUCCION

Actualmente, están apareciendo más colutorios o enjuagatorios con el fin de prevenir y evitar la aparición de caries dental o biofilm. Debido a esto, el tema de efectividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* es muy concurrida. Los *Streptococcus mutans* son bacterias que se encuentran en cavidad oral adheridas al biofilm.

Se informa todo el procedimiento y la serie de investigación in vitro del extracto etanólico del propóleo, un producto natural que posee una alta cantidad de flavonoides, producto proveniente de las abejas reconocido por sus propiedades antibacterianas.

Conforme va pasando el tiempo se están llevando a cabo investigaciones sobre productos naturales, ya que es importante para la investigación de fármacos y el progreso de medicamentos.

El objetivo de esta investigación es comparar el efecto antibacteriano de un compuesto natural como es el extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05%.

## **CAPITULO I: EL PROBLEMA**

### **1.1 Planteamiento del problema**

Considerada como una enfermedad de extrema importancia; la caries dental, para la odontología, ya que si no se trata a tiempo puede conllevar a la pérdida de dientes. Esta enfermedad está definida por la disipación química de la extensión del diente incitada por la actividad metabólica, llamada biopelícula dental que se caracteriza por la continua actividad microbiana. Se estima que el 85% del trabajo de la comunidad odontológica está dedicado solo al tratamiento de caries. (1)

La caries es una afección que abarca a nivel mundial, debido a su epidemiología varios países de Latinoamérica han decidido optar por la prevención; en México, se tiene como objetivo mejorar la salud oral de toda la ciudad proponiendo normas para controlar y prevenir las enfermedades orales, destacando la prohibición de venta de sal yodada fluorada, ya que el agua posee una concentración mayor a 0.7 ppm y fomentando la realización de semanas de la salud oral. En Argentina, de manera preventiva se recomendó el cepillado semanal con gel de fluorofosfato acidulado al 4660 ppm bajo supervisión, colutorio cada semana después del cepillado dental con fluoruro al 0.2% con esto se podría reducir la prevalencia de caries. En Chile, se relacionó que los niños de estrato social bajo padecen de más lesiones cariosas que los niños de estrato acomodado. Para la prevención al alcance de todos, en zonas rurales se facilitó la vía de acceso para los fluoruros a través del consumo de agua potable y leche, también se priorizó la atención odontológica en edades con riesgo (2, 4, 6, 12 años y mujeres embarazadas.) En Paraguay, el 98% sufre de problemas bucodentales incidiendo en escolares de 6 a 12 años para la cual se adaptaron

estrategias para el control de la caries como firmar convenios con diferentes instituciones para la calidad de vida y salud, se extendieron e implementaron especialidades odontológicas en las redes de salud y se abrieron clínicas móviles de salud bucal. Se registró una baja del 98% al 86% en incidencia de caries. En Brasil, se creó un programa con el fin de extender el acceso a la atención odontológica gratuita por medio del Sistema Único en salud para garantizar promociones de salud oral, prevención y recuperación de la población brasilera. Se implementaron equipos de salud oral, centros de especialidades odontológicas y laboratorios de prótesis dental. En Venezuela, prevalece la caries en niños de 5 a 12 años con un 80.5%. Se creó un plan con el fin de determinar la influencia de frecuencia de aplicación de barniz de flúor fluorado. Hasta el 2014 se concluyó que ningún niño dentro del programa presentaba caries luego de la colocación del flúor. En Ecuador, prevalece en niños de 3 a 11 años un 62.39% y de 12 a 19 años un 31.28% existe un programa con el fin de vigilar, prevenir y controlar las enfermedades que ataca a embarazadas, niños de 0 a 5 años y de 6 a 14 años. En el Perú, según MINSA en el 2005 se halló el 90% de prevalencia en escolares. Un 90.6 % en zonas urbanas y 88.7% en rurales. Se adoptó la medida de actividades preventivas, la fluorización de la sal donde se deben indicar el contenido de 200 ppm de flúor en su composición. Debido a que no existe control de la composición de la sal fluorada, se está llevando a cabo un ensayo clínico en una población donde se está agregando el xilitol en la leche para la prevención en escolares de 4 a 8 años. Se sugiere establecer un sistema de atención epidemiológica y agregar actividades preventivas eficientes. (2)

El microorganismo más vinculado al inicio de caries es el *Streptococcus mutans*, un agente etiológico que fue descrito a mediados de la década de los 60 encontrado mayormente en el biofilm o biopelícula, considerado el agente etiológico principal de caries, ya que se adapta fácilmente a cambios de ambiente inesperados y sustanciales. (3) *Streptococcus Mutans*

(St. Mutans) puede sobrevivir en un pH bajo aparte de producir ácido causando la desmineralización del diente. Sin embargo, con una buena remoción del biofilm con el uso del cepillo y el hilo dental se puede reducir la carga de bacterias cariogénicas.

Actualmente, se ha estado aplicando agentes profilácticos con el objetivo de evitar la acumulación de biofilm dental y mantener el control de este, el más eficiente es la clorhexidina, antibacteriano con gran espectro de acción contra gramnegativos y gram positivos. (4) Los agente profilácticos como la clorhexidina, reprimen las funciones metabólicas de microorganismos orales como la síntesis extracelular de polisacáridos y actividad proteasa, el transporte de azúcar y la producción de ácidos favoreciendo al control y disminución de biofilm dental para evitar el alcance del pH crítico que tarda 2 días en madurar. (3)

Comúnmente se usa en concentraciones de al 0.12% o 0.2% para la prevención de caries, ya que disminuye la densidad del agente patógeno es decir el st. Mutans. (4) Las moléculas de la clorhexidina inhiben la formación, adhesión y crecimiento del biofilm, dañando la membrana de la célula bacteriana. Disminuye biofilm dental y previene la gingivitis. Está disponible en varias presentaciones como son los enjuagues, geles y barnices. (3)

Otra sustancia poseedora de propiedades antibacterianas es el propóleo, constituida por varios compuestos químicos que varían según su procedencia. Posee también propiedades fungicidas, antiinflamatorias, antivirales y analgésicas. El propóleo descompone la membrana citoplasmática, el citoplasma y la pared celular inhibiendo la síntesis proteica causando bacteriólisis parcial. Es un potente antimicrobiano poseedor de flavonoides que inhiben distintas clases de bacterias, enzimas virales, protozoos y diversas proteasas. (5) Se estima que está formado por resinas 50%, cera 30%, polen 5%, aceites esenciales 10% y otros residuos orgánicos. (6) El propóleo fué usado también como anestésico local en el

área de salud, así como en el tratamiento de enfermedades respiratorias al ser bactericida y bacteriostático. En odontología, se usa en tejidos orales como anestésico y cicatrizante. (7)

Actualmente, el cloruro de cetilpiridinio (CPC) es muy conocido por tener un amplio espectro antimicrobiano con propiedades tensioactivas que elimina gram positivos y levaduras en cavidad bucal. Los colutorios que contienen CPC han demostrado la efectividad en contra de biofilm y la gingivitis. (8)

Por tal motivo la presente investigación tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre streptococcus mutans, bacteria responsable de la caries dental, con el fin de llevar a la práctica métodos complementarios para la prevención y tratamiento de esta enfermedad.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿Cuál es la comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro?

### **1.2.2 Problemas específicos**

- ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?
- ¿Cuál será el efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?

- ¿Cuál es la diferencia antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?

### **1.3 Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1 Objetivo general**

Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro.

#### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Identificar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.
- Identificar el efecto antibacteriano del cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.
- Establecer la diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

### **1.4 Justificación de la investigación**

#### **1.4.1 Teórica**

El método experimental in vitro de esta investigación asegura que los resultados sean de gran utilidad y valiosos para la comunidad odontológica, de tal manera poder agregar a los

aportes científicos anteriormente reportados sobre la actividad antibacteriana de dichos antimicrobianos.

#### **1.4.2 Metodológica**

Al ser este trabajo in vitro, será desarrollada en un laboratorio de microbiología. El instrumento será una ficha de recolección de datos en el cual estarán las medidas en milímetros de los halos de inhibición que se formarán como reacción a la sensibilidad frente a S.M.

#### **1.4.3 Práctica**

El fruto de esta investigación asegura la aportación de conocimientos o bases sobre el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo, digluconato de clorhexidina y cloruro de cetilpiridinio y así tener más opciones en la práctica odontológica. Es necesario contribuir conocimientos sobre los efectos de cada antibacteriano que puedan servir de guía al odontólogo.

#### **1.4.4 Social**

El presente estudio contribuye a la sociedad a tener más alternativas para el uso diario como antiséptico bucal tanto en el consultorio como fuera de. Además, es una alternativa más económica que otros y al alcance de la población.

### **1.5 Delimitaciones de la investigación**

#### **1.5.1 Temporal**

El presente trabajo no presenta ningún tipo de limitación para su desarrollo.

## CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

**Checalla y Sánchez. (2021)** en la investigación tuvieron como objetivo “*caracterizar químicamente un extracto etanólico de propóleo peruano y evaluar su actividad antibacteriana frente a Streptococcus mutans (St. mutans).*” El estudio es analítico, prospectivo, transversal y experimental in vitro. Se empleó una muestra de 150 gr del propóleo proveniente de Tacna que fueron almacenados en frascos esterilizados previamente, para obtener el extracto etanólico de propóleo (EEP) se procesó hasta obtener un polvo fino, se colocó 100 gr de propóleo en un frasco al cual se agregó 500 ml de alcohol al 70% posteriormente colocado al horno en 37°C por 15 días. Se diluyó en agua destilado para obtener concentraciones de EEP al 25%, 50% y 75%. Se usó la prueba de difusión en disco sobre un medio agar Brain Heart inoculado con St. Mutans. El instrumento usado fue el compás Vemier que sirvió para medir los halos de inhibición. Se demostró que las composiciones terpenos, diterpenos y terpenoidales del propóleo presentan actividad antibacteriana frente al St. Mutans (25 % =  $17,582 \pm 2,578$  mm; 50 % =  $16,906 \pm 1,892$  mm; 75 % =  $16,881 \pm 2,013$  mm; 100 % =  $17,201 \pm 1,305$  mm). Como control positivo se utilizó la clorhexidina al 0.12% ( $24,543 \pm 2,486$  mm) que según la escala de Duraffourd fué sumamente sensible (+++) ( $p < 0,05$ ) a comparación del EEP que fue sensible (+) y muy sensible (++) para todas las concentraciones. Se concluye que todas las concentraciones de EEP si presentan actividad antibacteriana significativa. (7)

**Nazeri, et al., (2019)** en este estudio el objetivo fué “*determinar las propiedades antibacterianas del propóleo y evaluar su uso como enjuague bucal antibacteriano con mínimas complicaciones.*” Se realizó un estudio in vitro experimental. Se calculó la concentración inhibitoria mínima para cuatro especies bacterianas, incluida streptococcus

mutans. Se usó una dilución de agar triptosa. Se recogieron muestras salivales de ratas a las 12 horas, 1 semana y 2 semanas luego de haber usado el colutorio antibacteriano de propóleo y se examinó mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

El nivel basal de st. Mutans según el método de ANOVA unidireccional no mostro ninguna diferencia ( $p=0,843$ ) Estadísticamente, el colutorio de propóleo ( $p<0.05$ ) mostró una notable diferencia de gran significado con clorhexidina ( $p=0-024$ ) y Listerine ( $p= 0.001$ ) frente a colonias de streptococcus mutans. En conclusión, en enjuague oral de propóleo fue más eficaz contra bacterias orales a comparación del Listerine y la clorhexidina. (9)

**Tabango, et al., (2018)** en la presente investigación se tuvo como objetivo “*determinar y comparar el efecto antibacteriano de tres enjuagues bucales fluorados de uso pediátrico sobre cepas de Streptococcus mutans.*” Se realizó un estudio de tipo experimental in vitro usando 20 cepas de st. Mutans y enjuagues orales para niños como el Plax Kids (cloruro de cetilpiridinio 0.075%), Denture Kids (xilitol 10%) y Blendy (xilitol 10%) teniendo como control a la clorhexidina 0.12% y agua destilada. El instrumento usado fué una regla milimetrada. El método de difusión fué en disco según Kirby Bauer. Se usó una muestra de 60 placas Petri que fueron repartidas en 3 grupos experimentales con un cantidad de 10 uL, 15 uL y 20uL de solución, más 15 uL de los 2 grupos de control. Se obtuvo según la prueba de U Mann Whitney con 5% de nivel de significancia que la dosis de 20 UI de cloruro cetilpiridinio al 0,075% al compararlo con la clorhexidina no tuvo diferencias de gran significado y que las dosis de 10, 15 y 20 uL que contienen xilitol al 10% mostraron diferencias de gran significado al compararlo con clorhexidina. Las cantidades de 10, 15 y 20 uL de cloruro de cetilpiridinio indicaron un halo de inhibición  $>14$  mm ( $P=0.001$ ), es decir muy sensible. Los enjuagatorios de xilitol mostraron un halo de inhibición  $\geq 8$ mm

(P=0.1) sensibilidad media y la cantidad de 20 uL de cloruro de cetilpiridinio no indicó ninguna diferencia de gran significancia al compararlo con 15 uL de clorhexidina (P=1.0).

Se concluye, los colutorios a base de xilitol indicaron sensibilidad media y el colutorio a base de cloruro de cetilpiridinio, fué el que presentó mayor efectividad antibacteriana. (10)

**Cayo, et al., (2016)** en la investigación tuvieron como objetivo “*evaluar el efecto antibacteriano in vitro del Propolis en el crecimiento de cepas del Streptococcus mutans (ATCC 25175).*” Realizó un estudio experimental in vitro, transversal, prospectivo de tipo aplicada y de nivel descriptivo mediante la medida de cada halo de inhibición que se formaron alrededor de las cepas de streptococcus mutans, se obtuvo una muestra de 30 siembras de St. Mutans de placas contenidas de Agar Muller Hinton encubados en un horno en un ambiente anaerobio por 42 horas. Se aplicaron 2 instrumentos, un pie de rey o calibrador y una regla estándar milimetrada. Se usó como técnica el hisopado sobre los medios de cultivo respectivamente y se dividió en 3 grupos de acuerdo al porcentaje de concentración (10%, 20% y 30%) para el primer grupo con un coeficiente de variación de 80.3%, media aritmética de 0.486, desviación estándar 0.39 y mediana de 0.5. Para el segundo grupo el coeficiente de variación fue de 45.2%, media aritmética de 0.714, desviación estándar 0.3231 y mediana 0.5 y para el tercer grupo, se obtuvo el coeficiente de variación de 63.7%, desviación estándar 0.4050, mediana de 0.75 y media aritmética de 0.636. En conclusión, presentan valores de inhibición del halo similar, bastó una concentración de propóleo al 10% para demostrar que existe un efecto antibacteriano frente a cepas del St. Mutans. (11)

**Ramirez, et al., (2016)** en esta investigación se tuvo como objetivo “*determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de Propóleo sobre los microorganismos de Streptococcus mutans y Cándida albicans que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos de la*

*Clínica Odontológica de la Universidad Nacional del altiplano Puno.*” El estudio fue experimental, tipo prospectivo, transversal y racional. Se obtuvieron muestras de streptococcus mutans (st. Mutans) y cándida albicans de pacientes con caries activa y que usan prótesis. Estos fueron expuestos a concentración de extracto de propóleo al 25%, 50%, 75% y 100% 24 horas. El método que se usó fue Kirby Bauer. Se obtuvo como resultado las medias del halo de inhibición del st. Mutans fue 7.5mm, 10.5 mm, 11.7mm y 14.25 respectivamente. Para cándida albicans al 50%, 75% y 100% las medias fueron 6.95 mm, 8.6mm y 11.8 mm respectivamente. La conclusión de dicha investigación fue mientras a mayor concentración de propóleo etanólico mayor efecto inhibitorio para st. Mutans y en menor actividad inhibitoria para cándida albicans. (12)

**Watanabe, et al., (2015)** en el presente estudio se tuvo como objetivo “*comparar la Dilución Inhibidora Máxima (MID) in vitro de 3 enjuagues bucales que contienen diferentes principios activos frente a 36 aislados clínicos de EM.*” El estudio es experimental in vitro. Se evaluó a los siguientes colutorios: PeriogardR, CepacolR y PlaxR Fresh Mint y el efecto antibacteriano se evaluó en 36 muestras aisladas clínicas de streptococcus mutans. Se determinó a partir de las puntuaciones determinadas del MID. Se usó la prueba no paramétrica de Kruskal Waallis para determinar la diferencia significativa entre grupos y se usó la prueba de comparación múltiple de Dunn para comparar de 2 por 2 entre grupos. Los resultados estadísticamente relevados que el MID de Periogard no tuvo diferencia con el CepacolR ( $p>0,05$ ) porque inhibió la cepa de st. Mutans en el 1/320 de dilución siendo mayor que PlaxR ( $p<0,05$ ) donde inhibió la cepa en el 1/20 de dilución. En conclusión, los colutorios que contienen clorhexidina como el PeriogardR y el CepacolR que contiene cloruro de cetilpiridinio obtuvieron la mayor actividad antimicrobiana frente a streptococcus mutans que el colutorio PlaxR que contiene triclosán. (13)

**Mohsin S, et al., (2015)** en la presente investigación se tuvo como objetivo “*evaluar la eficacia antibacteriana de un dentífrico a base de propóleo sobre los estreptococos mutans que colonizan la cavidad bucal de pacientes jóvenes que utilizan la prueba Dentocult® SM strip mutans.*” El estudio fue experimental in vivo. Se evaluó 30 niños y se les indicó que usaran la pasta a base de propóleo (Probee) diariamente durante tres minutos por cuatro semanas. Se recolectaron muestras de saliva y biofilm al inicio, a la 1ra, 3ra y 4ta semana. Se usó el kit Dentocult SM strip mutans. Se usaron la prueba t y la prueba de Friedman para el análisis estadístico. Los resultados estadísticamente revelaron una desviación estándar de la línea base 0.4795 y mediana 2. En la 1ra semana una desviación estándar de 0.4498 y mediana 2. En la 3ra semana una desviación estándar de 0.4795 y mediana 1 y en la 4ta semana una desviación estándar de 0.4795 y mediana 1. En conclusión, la pasta dental a base de propóleo reduce la carga microbiana in vivo del streptococcus mutans en cavidad oral de pacientes jóvenes. (14)

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Caries dental**

Proveniente de etiología multifactorial, mayormente se debe a la degradación de carbohidratos, influencias genéticas y salivales, azúcares por los microorganismos encontrados en cavidad bucal como los lactobacilos y especialmente streptococcus. Empieza por la desmineralización del esmalte propagándose muy rápido hasta causar intenso dolor. Se estima que entre un 27% a 64% prevalece en niños y un 26% a 83% prevalece en adultos. Actualmente, la prevención es la mejor opción en estos casos, una buena higiene oral, una dieta saludable, evitar alimentos con alto contenido de azúcar y la ayuda de colutorios orales son importantes. (15)(16)

### **2.2.1.1 Microbiología**

La caries dental ha ido desarrollándose cada vez más con la intervención de microorganismos desde del año 1800. Proviene del latín caris, decadencia y se descompone del antiguo Arachrinn. Término que refiere a “agujeros en los dientes”. El streptococcus mutans se reconoce como un prominente causante de los procesos cariogénicos, como las lesiones de esmalte, lesiones de dentina o lesiones de primera infancia. El alto bajo nivel de oxígeno y el alto contenido de azúcar favorecen a la fermentación rápida y a la producción de ácido, ambiente apto para formación de colonias de streptococcus mutans. (17)

### **2.2.1.2 Etiología**

Definida como una enfermedad o afección que no tiene una sola causa por eso se dice que es multifactorial resultado de una variación ecológica en la proporción de la microbiota oral y el huésped que debido a los cambios de la biología oral y al cambio de estilo de vida pueden conllevar a enfermedades. El consumo alterado de carbohidratos fermentables como el azúcar y/o una secreción de saliva reducido son factores de riesgo. (15)

### **2.2.1.3 Epidemiología**

Actualmente, la caries dental es una afección crónica que se puede prevenir provocada por biopelículas multifactoriales de la cavidad oral, tiempo prolongado de pH bajo en boca y la desmineralización de los dientes. Se creía que los lactobacilos y streptococcus eran los únicos microorganismos involucrados en la evolución de la caries. Afecta tanto a niños como a adultos, en dientes de leche y dientes permanentes y en distintas superficies y/o capas del diente llegando hasta al nervio y/o provocando la pérdida de este. (18)

Los agentes son la actividad bacteriana, la dieta, el pH, la saliva y la genética. Hasta ahora se han identificado más de 54 bacterias cariogénicas potenciales. Si dichos agentes estas

siendo manejados o bien controlados se puede interrumpir, precaver y revertir como remineralizar el diente. (18)

#### **2.2.1.4 Métodos de diagnóstico de caries**

Las áreas más expuestas a caries suelen ser las fosas y fisuras debido a las características morfológicas que presentan, esto contribuye a la fácil evolución y progresión de estas.

En la actualidad, se ha estado usando el flúor como prevención especialmente en estas áreas más susceptibles que otras. Existen varios procedimientos para detectar una lesión cariosa tanto clínico como paraclínico:

El procedimiento clínico más usado por el odontólogo es la inspección visual, que incluye el uso de las cámaras intraorales para la amplificación visual, ya que permite monitorear la evolución de la caries. Se requiere para un buen diagnóstico tener el diente limpio libre de biofilm, una superficie seca y buena iluminación. (19)

El procedimiento de inspección al tacto, la mayoría de los odontólogos usaban este procedimiento en la década de los 80 que consiste en atascamiento del explorador en una fosa o fisura; en la actualidad, ya no es indicador de un buen diagnóstico debido a 5 razones: en la fase inicial de la caries, la desmineralización afecta por debajo de la superficie, mientras esta se encuentra intacta no se produce el estancamiento del explorador; los exploradores no llegan a penetrar las fisuras, ya que la punta no es lo suficiente delgada; se impide la remineralización al colocar el explorador debido a una fractura de la superficie; se pueden contaminar algunas fosas y fisuras; el estancamiento del explorador se puede deber a la profundidad de fisura o a la fuerza aplicada al examinar la pieza o la punta muy afilada. (19)

El procedimiento radiográfico, se considera un examen complementario al procedimiento de inspección visual, ya que al ojo clínico se suele subestimar las lesiones cariosas

profundas. Este método permite determinar la evolución de la lesión así como la desmineralización del diente. (19)

El procedimiento de transiluminación, se realiza colocando una luz que atraviesa el tejido dental y deja ver el afectado por caries. La lesión de caries se observa con una cantidad mayor de luz que el diente sano, ya que la estructura se vuelve porosa. Se visualizará una parte más oscura a comparación de la brillantez y claridad de un diente sano. (19)

Cuando ocurre la desmineralización dental se incrementa normalmente la conductividad eléctrica en dicha pieza debido al daño de esta. El Caries meter es un instrumento que usa ondas de 400 Hz junto a 2 electrodos, usado en el procedimiento de conductividad eléctrica, estos electrodos se colocan respectivamente en el carrillo y la lesión cariosa. El uso adecuado es mantener el diente seco para humedecerla con una solución salina para favorecer la conductividad. Este procedimiento es más sensible que la inspección visual y el examen radiográfico. (19)

Por último, se creó un procedimiento con el objetivo de diagnosticar las lesiones adamantinas incipientes. Se genera una luz fluorescente que indica cuanto abarca dicha lesión. El instrumento usado es el Diagnodent de la empresa reconocida Kavo. Una alternativa a los procedimientos convencionales. Existen lesiones que no pueden ser diagnosticadas a través de una radiografía pero si a través del Diagnodent. (19)

#### **2.2.1.5 Proceso**

La desmineralización se debe a la acidez de la cavidad oral debido a la concentración de bacterias, sacarosa o lo que la conforman. Juntos promueven el desarrollo de streptococcus mutans y otras bacterias acidogénicas tolerables a los ácidos. Se concluye que el azúcar realiza cambios químicos y fisiológicos en plena formación de biofilm, induciendo a la formación de caries. El azúcar es el carbohidrato más cariogénico. El pH de la microflora

dental suele disminuir al entrar en contacto con la glucosa, sacarosa o fructosa conduciendo a la desmineralización y desintegración desmesurada del esmalte. El bajo PH desequilibra la microflora favoreciendo al crecimiento de bacterias como streptococcus mutans, lactobacilos y bifidobacterias. (20)

### **2.2.2 Streptococcus mutans**

Como protagonista de biopelículas en la superficie del diente, llamado biofilm o sarro dental. La bacteria de Streptococcus mutans (st. Mutans) es el microorganismo fundamental en humanos de caries dental. La propiedad del st. mutans de adaptarse a cambios ambientales inesperados lo coloca como principal factor de caries. (3)

#### **2.2.2.1 Biopelícula dental**

Llamada también biofilm está compuesta por numerosas especies de bacterias orales. El biofilm sano puede estar conformado por más de 700 tipos de bacterias, pero solo el 1% puede ser cariogénico, el biofilm sano sirve como defensa a infecciones por microorganismos u otros tipos de patógenos. Al haber un cambio de la microflora dental conlleva a la formación de bacterias patogénicas acidúricas y acidogénicas. (21)

#### **2.2.2.2 Formación de biopelículas**

Streptococcus mutans tiene como propiedad principal formar biofilm dental en la superficie de los dientes con la interacción de la saliva. Este microorganismo mediante la acción de los glucosiltransferasas simplifica el glucano adherente a partir del azúcar. Las proteínas de unión a glucanos (Gbp), proteína de superficie celular (PAc), junas están a cargo de la producción del biofilm dental llevando a la formación de caries. (22)

#### **2.2.2.3 Acidogenicidad**

Los productos de fermentación producidos por streptococcus mutans son el lactato, acetato, etanol y lactato. Se produce el producto principal; el lactato, cuando abunda la

glucosa. *Streptococcus mutans* tiene un Ph de 7.0 a 5.0 sobrepasando a los diferentes streptococcus de la cavidad oral. Se dice que ocasiona cambios ecológicos en la flora del biofilm, incluyendo a otros microorganismos acidógenos y tolerantes al pH ácido. El pH del biofilm inferior a 5,4 ocasiona caries dental y la desmineralización del esmalte. (23)

#### **2.2.2.4 Clasificación**

De acuerdo a su composición y sus enlaces de polisacáridos de la pared que rodea la célula, se clasifica en 8 serotipos: st. Downei (serotipo h), st. Macacae (serotipo c), st. Ferus (serotipo c), st. Rattus (serotipo b), st. Cricetus (serotipo a), st. Sobrinus (serotipo d y g) y siendo el que más predomina en cavidad bucal st. Mutas (serotipo c, e, f y k). *Streptococcus mutans* se conoce especialmente como patógeno de la cavidad bucal, asimismo es causante de la endocarditis infecciosa y de la bacteremia. (21)

#### **2.2.2.5 Colonización**

Como en la mayoría de las enfermedades infecciosas, previamente se necesita ser colonizada por un agente patógeno antes de la infección. Existen factores de virulencia que influyen a la capacidad de sobrevivir en diferentes condiciones ambientales. Existen estudios que afirman que la primera transmisión de st. Mutans se da de madre a hijo conocido como transmisión vertical, esto ocurre en los primeros años de vida. Mientras que el contacto entre, padres, hermanos y personas adyacentes constituyen la transmisión horizontal. La colonización de los niños por *streptococcus mutans* se da en la erupción del primer diente del niño, conocido como ventana de infección, que ocurre a los 6 meses de vida. (21)

### **2.2.3 Propóleo**

#### **2.2.3.1 Generalidades**

Desde el año 300 a.C., ha sido usado como fármaco para la salud y bienestar general y como alimento. Se describió al propóleo como un medicamento recuperador de lesiones. Actualmente, se usa como parte de bebidas para la mejora de la salud y la prevención de enfermedades. Es conocido por tener propiedades antiinflamatorias, antiviral, antibacteriana, anestésico, antioxidantes, antitumoral, anticanceroso, anti fúngico, antiséptico y también por su actividad citotóxica. También ha sido demostrado que actúa frente a otros microorganismo como los parásitos, bacterias, virus y levaduras. No es toxico para humanos ni animales. Se ha comprobado que el potencial antibacteriano que posee se debe a la cantidad de compuestos, más de 200 sustancias. Debido a esto, se ha estado usando para la investigación y tratamiento de diversas enfermedades así como para la creación de nuevos fármacos. (24)

La palabra propóleo deriva del griego pro que quiere decir “en la entrada” y polis quiere decir “ciudad”, indicado para la utilización en defensa de la colmena. Es usado como cemento para preservar la humedad y temperatura de la colmena en todo el año, para sellar grietas y espacios abiertos. En la antigüedad, el propóleo fue usado en diferentes campos especialmente en la medicina tradicional. (25)

#### **2.2.3.2 Composición**

Está relacionada con los bálsamos de fuentes de origen vegetal y con las resinas. Se han identificado de 300 compuestos químicos como las ceras, poli fenoles como lo ácidos fenólicos y flavonoides, y terpenoides. Los más activos son los poli fenoles y terpenoides. Dentro del grupo de flavonoides está incluida la crisina, apigenina, pinocembrina,

galangina, quercetina y otros. Otro grupo son los ácidos aromáticos como el ácido ferúlico, cinámico, cefeico entre otros. También se pueden encontrar micro elementos y macro elementos como el manganeso, hierro, zinc, magnesio, calcio, potasio, selenio, sodio y cobre. Y vitaminas como B1, B2, B6, C y E. la unión de componentes activos en diferentes proporciones evita que se vuelva resistente a alguna bacteria. (26)

Dicha composición está influenciada por la iluminación, las variaciones de estación, los campos de alimentación de abejas y la altitud. No es consistente, ya que la producción depende de la variedad de especies de plantas alrededor de su colmena. (24)

### **2.2.3.3 Efecto antibacteriano**

Se considera en 2 niveles. El primer nivel está coordinado con la acción directa sobre el microorganismo y el otro sobre la estimulación del sistema inmunológico, es decir la activación de defensas naturales del cuerpo humano. Se observa que el efecto antibacteriano es más efectivo sobre bacterias gram positivas que gram negativas. (26)

Se sabe que según donde se encuentran ubicados y se recolecta varía el efecto antibacteriano. El propóleo chileno evidenció una alta eficacia contra streptococcus mutans. Se estima que el propóleo mejora la inmunidad del organismo y ejerce su efectividad. El ácido cinámico abunda en el propóleo y es un considerado también un potente antibacteriano sobre bacterias como streptococcus pyogenes, bacillus spp, micrococcus fllavus, mycobacterium tuberculosis, entre otros. Este ácido desempeña su actividad al alterar la membrana celular de la bacteria, impidiendo la función de las ATPasas y la formación de biofilm sobre la superficie. (24)

### **2.2.3 Cloruro de cetilpiridinio**

### **2.2.3.1 Generalidades**

Utilizado desde el año 1930 para desinfectar la piel, membranas mucosas, superficies duras y las formulaciones cosméticas. Desde el año 1939 se describió por primera vez como antimicrobiano. Es un compuesto a base de amonio cuaternario monocatiónico (QAC) compuesto de nitrógeno cuaternario unido a 1 o más cadenas laterales hidrófobas. Se presenta como sal beige y es soluble al agua. Está conformado por una piridina con carga positiva como un grupo de cabeza hidrófilo combinado con una cadena de hexadecano como cadena lateral lipófila. Por esta composición molecular es caracterizado como tensioactivas anfótero. (27)

### **2.2.3.2 Efecto antimicrobiano**

Lee Huyck demostró por primera vez el efecto bacteriostático del cloruro de cetilpiridinio frente a las bacterias orales midiendo la caída del pH en la saliva luego de mascar chicle azucarado. Actualmente, es usado en odontología como una agente antibacteriano en productos como enjuagatorios bucales y pastas en venta libre. Funcionan como prevención y reducción de biofilm e inflamación de las encías. Para el aumento de la actividad bacteriana se decidió combinar el cloruro de cetilpiridinio con otro antiséptico como la clorhexidina. (27)

### **2.2.3.3 Composición**

La principal composición del cloruro de cetilpiridinio es el amonio cuaternario, pertenece a la primera generación; es decir, de baja sustantividad según la clasificación de Kronman 1990, Bascones 1991. Reduce el biofilm en un 35%. Al aumento de la porosidad de la

pared bacteriana facilita la lisis y disminuye la facultad de la bacteria para adherirse a la superficie del diente. Su efecto es moderado y es fácil de eliminarse del espacio bucal. (28)

#### **2.2.3.4 Efectos adversos**

Principalmente el cloruro de cetilpiridinio que se encuentra mayormente en pastas dentales y enjuagatorios al 0.5% conllevan a la tinción de las superficies dentales, ardor, lesiones ulcerosas, aftas y quemazón en cavidad bucal y en algunos casos pérdida del gusto. (28)(29)

#### **2.2.3.5 Mecanismo de acción**

Basado en la carga fuerte positiva y la parte hidrófoba de este que se interrelaciona con la superficie de la célula microbiana y se junta con la membrana celular, a esta interacción continua una salida de componentes del citoplasma que se da en el metabolismo de la célula debido a la interrupción de la conformación de la membrana, impidiendo el crecimiento y ocasionando la muerte celular. (30) Incitan la ruptura de la pared de la célula y alteran el citoplasma. Se retiene en cavidad oral mucho más que la clorhexidina y son menos efectivos inhibiendo el biofilm y previniendo la gingivitis. (31)

### **2.2.4 Clorhexidina**

#### **2.2.4.1 Generalidades**

Actualmente, se usan varios compuestos para supeditar el biofilm oral como el triclosán, cloruro de cetilpiridinio, aceites esenciales incluida la clorhexidina. Aparentemente el

gluconato de clorhexidina es el agente antibacteriano más repasado, estudiado y eficaz para prevenir y controlar la biopelícula dental. Existen 2 tipos de clorhexidina, con alcohol y sin alcohol que son comercializadas a nivel mundial. El alcohol funciona como antiséptico y disolvente también asegura la esterilización del contenido. (32)

#### **2.2.4.2 Características**

Estudios han demostrado que neutralizan también patógenos como prevotella intermedia, streptococcus aereus y porphyromans gingivalis. Ejerce acción dentro de la membrana citoplasmática, dicatiónico marcando 3.5, pH superior. Evita el acaparamiento de biofilm, disminuye la adhesión a las células epiteliales de porphyromonas gingivales. Actúa contra bacterias gram positivas, gram negativas. También hongos como los dermatofitos y virus lipolíticos. Así también sobre el virus de la hepatitis B y de la inmunodeficiencia humana, hongos y levaduras. Una característica importante es la retención oral, que depende mucho de la concentración de uso, el pH, temperatura y tiempo de contacto. (33)

#### **2.2.4.3 Mecanismo de acción**

La clorhexidina es un componente antimicrobiano que atraviesa y desequilibra la membrana de la célula bacteriana, acelera el citoplasma y obstaculiza la función de dicha membrana, impidiendo que llegue oxígeno, ocasionando la muerte de dicha célula. Actúa por 20 segundos máximo sobre la membrana citoplasmática, inhibiendo el crecimiento de microorganismos durante 29 horas aproximadamente. En bajas proporciones evidencia un efecto bacteriostático y en altas funciona como bactericida. Presenta actividad in vitro contra virus que presentan capsula como el VIH, herpe simple, citomegalovirus e influenza. Actúa sobre el biofilm oral alrededor de 24 horas. (34)

## **2.3 Formulación de hipótesis**

### **2.3.1 Hipótesis general**

Hi: Existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro.

Ho: No existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro.

### **2.3.2. Hipótesis específicas**

1. Hi: Existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Ho: No existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

2. Hi: Existe un efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Ho: No existe un efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

3. Hi: Existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Ho: No existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

## **CAPITULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1 Método de la investigación**

Método deductivo hipotético cuyo objetivo es dar replicato a la hipótesis de este estudio in vitro, comparando los descubrimientos de estudios y trabajos anteriores con lo observado y encontrado en la experimentación presente.

### **3.2 Enfoque de la investigación**

Cuantitativo

### **3.3 Tipo de investigación**

La presente investigación es de tipo aplicado, ya que tiene como objetivo determinar y comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y el cloruro de cetilpiridinio más digluconato de clorhexidina.

### **3.4 Nivel de la investigación**

Estudio aplicativo porque medirá el efecto antibacteriano entre dos variables.

### **3.5 Diseño de la investigación**

Experimental in vitro, analítico, prospectivo y de corte transversal.

### 3.6 Población, muestra y muestreo

#### 3.6.1 Población

La población del presente trabajo de investigación se basa en productos a base del extracto etanólico de propóleo y cloruro de cetilpiridinio más digluconato de clorhexidina para determinar los efectos antibacterianos sobre cepas de streptococcus mutans.

#### 3.6.2 Muestra

ESTIMAR UNA MEDIA	
Total de población (N)	
Nivel de confianza o seguridad (1- $\alpha$ )	95%
Precisión (d)	3
Varianza (S <sup>2</sup> )	70
<b>TAMAÑO MUESTRAL (n)</b>	<b>30</b>

EL TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO A PERDIDAS	
Proporción esperada de perdidas ( R )	15%
<b>MUESTRA AJUSTADA A LAS PERDIDAS</b>	<b>35</b>

#### 3.6.3 Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia porque se recogen muestras de propóleo a disponibilidad del investigador.

#### 3.6.4 Variables y operacionalización

##### CUADRO DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variables	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
Efectividad	Capacidad	-	Halos de		Nula (-):

antibacteriana del extracto etanólico de propóleo	inhibitoria del crecimiento bacteriano de st. Mutans debido a la presencia del propóleo.		inhibición de crecimiento bacterianos y propóleo al 30%.	Nominal: Cualitativa (Escala de Duraffourd )	<8mm Sensible (+): entre 9 y 14 mm Muy sensible (++) : entre 15 y 20 mm Sumamente sensible (+++) : >20 mm 48 horas
Efectividad antibacteriana del Cloruro de cetilpiridinio más digluconato de clorhexidina	Capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de st. Mutans debido a la presencia del compuesto de amonio cuaternario y de una base fuerte dicatiónica con un PH superior a 3.5 respectivamente usados como medida profiláctica en colutorios	-	Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.05%	Nominal: Cualitativa (Escala de Duraffourd )	Nula (-): <8mm Sensible (+): entre 9 y 14 mm Muy sensible (++) : entre 15 y 20 mm Sumamente sensible (+++) : >20 mm 48 horas

Fuente: elaboración propia

### **3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

#### **3.7.1 Técnica**

Se usó la observación científica, consiste en examinar u observar fenómenos, en esta oportunidad, el ensayo in vitro sirvió para medir, analizar, comparar y analizar datos estadísticamente con el objetivo de discutirlo con la evidencia previa y obtener conclusiones actualizadas. Este proyecto se trabajó directamente con el laboratorio, ya que se tuvo una relación con la sustancia a tratar, por lo cual se desarrollará en un ambiente de laboratorio de microbiología equipado. Se presenta una ficha para la recolección de datos.

(35) (ANEXO N°3)

Para la ejecución del presente proyecto se solicitó el apoyo del Laboratorio Microbiológico Scientific Quality situado en la ciudad de Lima. Seguidamente, se hizo la coordinación necesaria para la adquisición y préstamo de los diferentes materiales y equipos requeridos para la investigación. Así como también, el apoyo del personal microbiólogo autorizado para el seguimiento de dicho estudio que fué realizado con los propios recursos del autor.

En primer lugar, se dio inicio a los papeles para la adquisición de la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* (ANEXO N° 4). Se siguieron normas de bioseguridad y control de infecciones en todas las visitas al laboratorio microbiológico, incluyendo la colocación del equipo personal de protección como botas descartables, mandil desechable, gorro descartable, lentes de protección, mascarilla y guantes. Medidas necesarias e importantes para que al momento de interactuar con la cepa bacteriana evitemos cualquier riesgo de contaminación.

#### **Materiales y equipos:**

A continuación, se nombraran los materiales y equipos usados para lograr la ejecución: cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), 150 gr de propóleo sólido de abeja, Agar

Brain Heart Infusion, frasco de vidrio ámbar de 500 ml, mortero de metal de 100 mm de diámetro, micropipeta, placas Petri de vidrio, bandeja de porcelana, pinza de acero inoxidable, alcohol de 96%, embudo de vidrio de 10 mm de diámetro, papel de filtración rápida, baño termostático, congeladora, balanza, refrigerador, incubadora, autoclave, baño termostático, contador de colonias con lupa de 4 aumentos, fluconazol al 15%, jarra de anaerobiosis, regla vernier, discos de antibiograma de 6 mm estériles, mechero de bunsen, agua destilada y la sustancia a probar el extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% (PerioAid-mantenimiento y control). (ANEXO N° 5)

#### **Obtención del extracto etanólico de propóleo al 30%:**

Se recolectará el propóleo con todas las condiciones de higiene y precauciones para evitar la contaminación mientras sea transportado hacia el laboratorio en un frasco estéril para ser procesado. Se obtendrá basado en la metodología de Calderón A. (2010) de la siguiente manera: se usarán 100 mg de sólidos de propóleo disueltos en 111 ml de solución etanólica al 96%, se mantendrán en reposo por 2 horas, terminado el procedimiento se coloca en un baño termostático a 38°C y se calienta suavemente con agitación por 15 minutos obteniendo el extracto de propóleo al 30%. (36) (ANEXO N°6)

#### **Metodología:**

Se medirá el efecto antibacteriano usando la técnica de medición de halos de inhibición que se formarán alrededor de cada uno de los discos embebidos de las sustancias antibacterianas colocados en las placas, se incubarán por 48 horas y se medirán con la ayuda de un calibrador o regla de vernier. Se usará la escala de Duraffourd et al., 1986 para la interpretación del efecto antibacteriano frente a streptococcus mutans. (37)

1. Nula (-) si es menor a 8 mm.

2. Sensible (+) si es de 9 a 14 mm.
3. Muy sensible (++) si es de 15 a 19 mm.
4. Sumamente sensible (+++) si es mayor que 20 mm. (37)

Se sembrarán 30 unidades experimentales en agar sangre en el cual se colocarán 3 discos estériles de antibiograma de 6mm por placa inoculadas con *Streptococcus Mutans*. Se depositó en cada disco antibiograma 10 uL de cada sustancia de prueba: extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12% como grupo control. El grupo control tiene el objetivo de comprobar si tenía actividad antibacteriana en relación a las sustancias empleadas.

Se empleará como instrumento una ficha de recolectora de datos, en el cual se anotará la medida de los halos de inhibición en milímetros de cada muestra.

### **3.7.2 Descripción de instrumentos**

#### **Evaluación del efecto antibacteriano:**

Para la evaluación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC25175), se procedió a seguir dicha secuencia: preparación del medio de cultivo del agar, activación de la cepa y reconocimiento de *Streptococcus mutans*, preparación del inóculo de *Streptococcus mutans*, inoculación de las placas con *Streptococcus mutans*, colocación de los discos antibiograma y la sustancia prueba y medición de halos de inhibición de sustancias frente a *Streptococcus mutans*.

#### **1. Preparación del medio de cultivo del agar:**

Se preparó 950 ml de agar Brain Heart Infusion (BHI) según las instrucciones del fabricante, pesándolo en una balanza e hidratándolo con agua destilado y se autoclavó

durante 15 minutos a 121°C. Luego, se procedió a temperar en baño termostático a 45°C. Posterior a eso se colocó en esterilidad 50 ml de sangre de ovino y 100 ml de fluconazol al 0.15%. Inmediatamente, en esterilidad se depositó agar sangre en las placas Petri dejándola solidificar por 15 minutos con dicho medio de cultivo para ser utilizada en el ensayo rotulándolas según las sustancias a ensayar y el número de placa Petri. Se realizó la prueba de esterilidad de las placas de agar sangre incubándolas a 37°C por 24 horas. (ANEXO N°7)

## **2. Activación de la cepa y reconocimiento de streptococcus mutans:**

El medio que se usó para la activación de Streptococcus mutans ATCC 25175 fue caldo BHI, el cual se incubó a 37°C por el tiempo de 24 horas en anaerobiosis. Todo el procedimiento fue realizado en condiciones estériles. Se procedió a sembrar el microorganismo por la técnica de estriado y agotamiento en placas Petri de agar BHI, las cuales se incubaron por 24 horas a 37°C en anaerobiosis para la identificación de las colonias jóvenes de Streptococcus mutans.

## **3. Preparación del inóculo de streptococcus mutans:**

Bajo condiciones estériles y cerca del mechero bunsen, se tomó una porción de una colonia aislada y se inoculó en caldo BHI estéril de 5 ml, se incubó a 37°C por 24 horas. A este cultivo en BHI se le estandarizó a una turbidez de Mcfarland de 0.5, es decir a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml. (ANEXO N° 8)

## **4. Contaminación de las placas con streptococcus mutans:**

Luego, de acoplar la suspensión del inóculo, se coge un estéril hisopo, este se humecta con cultivo en caldo BHI de streptococcus mutans de 24 horas y ase diseminaron con hisopo en las 30 placas Petri con agar sangre a ensayar, las cuales se realizaron en cuatro direcciones sobrepuestas para asegurar la presencia de streptococcus mutans en toda la

placa Petri. Después, se procedió a rotular cada grupo de 10 placas, las sustancias de prueba como el extracto etanol de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12%.

En total se emplearon 30 placas con agar sangre inoculada con la cepa en estudio.  
**(ANEXO N°9)**

#### **5. Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba:**

Se procedió a la colocación de los discos, depositando con pinza estéril los discos de antibiograma (3 discos por placa) en las 30 placas de agar sangre inoculadas con streptococcus mutans. Luego, se procedió a trabajar con los grupos de 10 placas ya determinados en los rótulos. Se depositó con micropipeta en cada disco antibiograma, 10 ul de cada sustancia de prueba: extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12%, las cuales están en el rótulo de las placas. Luego, se dejaron reposar 30 minutos y se colocaron en jarras de anaerobiosis. Estas jarras fueron colocadas en la incubadora a una temperatura de 37°C por un tiempo de 48 horas.

El desarrollo de todo el procedimiento microbiológico del ensayo se realizó dentro de un área de 10 cm de radio alrededor de la llama del mechero bunsen. **(ANEXO N°10)**

#### **6. Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente streptococcus mutans:**

Después de 48 horas de incubación, las placas fueron examinadas y se procedió a la lectura con ayuda de un contador de colonias, se evaluó según la escala de Duraffourd, el cual consiste en la medición de halos de inhibición para interpretar el efecto antibacteriano frente a streptococcus mutans, los cuales fueron medidos con una regla de vernier, el cual brindó una dimensión individual de halos (mm) constituidos alrededor de los discos de

papel remojados en las sustancias a usar, es decir, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y clorhexidina al 0.12%, y el extracto etanólico de propóleo al 30% en las placas de cultivo. (ANEXO N°11)

### **Bioseguridad y eliminación de desechos:**

Al terminar las respectivas pruebas de laboratorio, se procedió a eliminar todo insumo y equipo usado como las cajas Petri de acuerdo a los protocolos de bioseguridad de desechos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables, ambos serán colocados por separado en bolsas de riesgo biológico y se colocaran en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos, pasaran por controles de calidad para ser reutilizados. (ANEXO N° 12) Respecto al material descartable, después de haber sido minimizado, tratado eliminando todo riesgo significativo, se realiza su disposición final como residuo solido municipal según Ley General de Residuos Sólidos. (ANEXO N° 13)

### **3.7.3 Validación**

En este estudio se validó la ficha de recolección de datos a través de 5 expertos, cirujanos dentistas y el grado de magister. Se envió el formato de validación con respuesta aprobatoria para la ficha de recolección de datos. (ANEXO N° 14)

### **3.7.4 Confiabilidad**

Los datos serán obtenidos de manera directa, observable en base a milímetros con la supervisión del microbiólogo a cargo del laboratorio que entregará una constancia del informe del ensayo certificada. (ANEXO N° 15)

### **3.8 Plan de procesamiento y análisis de datos**

Se empleará el programa estadístico SPSS versión 25 para procesar los datos obtenidos, empleando la estadística descriptiva (ED), en este caso se utilizarán medidas de tendencia central que implica hallar la media, moda y mediana. También medidas de dispersión la cual hallará la desviación estándar midiendo la varianza para datos cuantitativos. Se determinarán pruebas de parametricidad para determinar qué tipo de prueba estadística se utilizan para variables cuantitativas.

### **3.9 Aspectos éticos y administrativos**

- Se respetó la secuencia metodológica y las técnicas de laboratorio requeridas que se adaptaron a los hechos del estudio.
- Respetar normas de bioseguridad como el uso de gorro, botas y guantes descartables.
- Respetar principios éticos de la Declaración de Helsinki de la AMM.

## CAPITULO IV: DISCUSION DE LOS RESULTADOS

### 4.1 Resultados de investigación

En breves, se presentarán los resultados de esta investigación experimental a través de estadísticas inferenciales y descriptivas. Se inspeccionaron 30 muestras por cada elemento estudiado y nombrado en dicho estudio y sus resultados se explayan siguiendo los objetivos planteados. (ANEXO N° 16)

#### 4.1.1 Efecto antibacteriano a las 48 horas

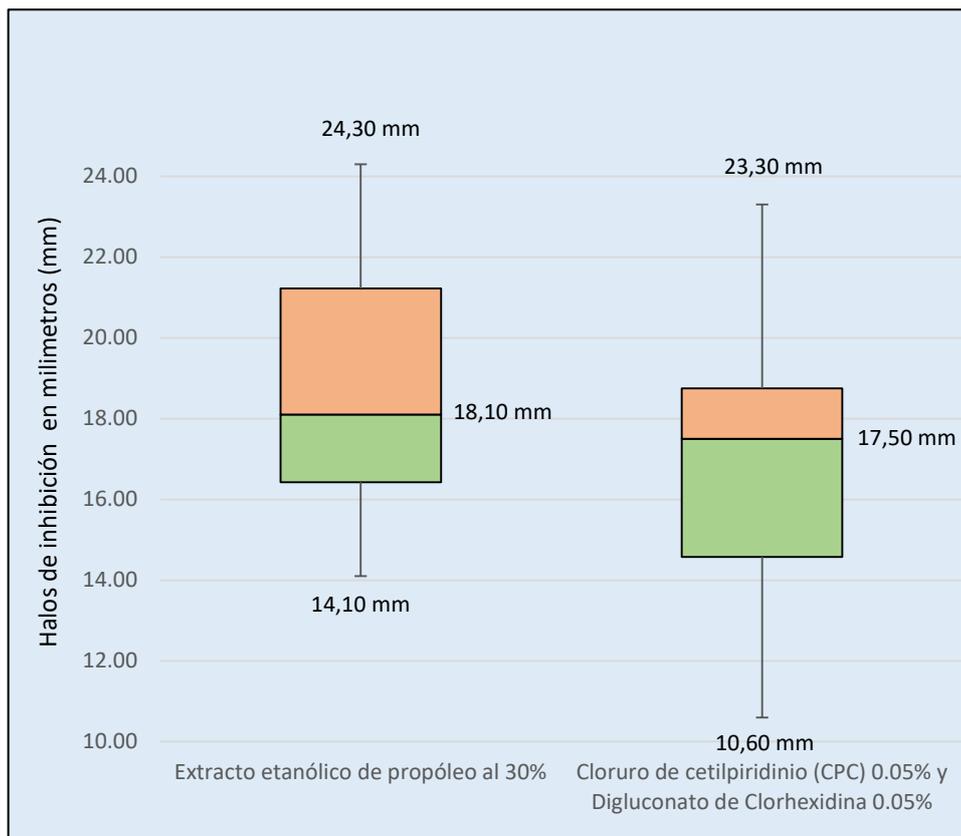
**Tabla 1. Resultados de los halos de inhibición frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre y la diferencia entre el Extracto etanólico de propóleo al 30% y Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más Digluconato de clorhexidina al 0.05%**

N° Réplica de disco antibiograma	M1: Extracto etanólico de propóleo al 30%	M2: Cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0.05% más Digluconato de Clorhexidina 0.05%	M3: Digluconato de Clorhexidina 0.12%	Diferencias entre Extracto etanólico de propóleo al 30% y Cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0.05% y Digluconato de Clorhexidina 0.05%
1	16,5	13,6	13,1	2.9
2	14,1	14,9	15,0	-0.8
3	16,0	10,6	13,1	5.4
4	17,6	14,5	17,1	3.1
5	20,5	15,1	17,0	5.4
6	18,1	13,1	16,2	5
7	16,8	17,8	17,0	-1
8	19,1	23,3	16,6	-4.2

9	17,5	13,2	17,2	4.3
10	20,2	17,2	16,0	3
11	14,4	15,0	17,0	-0.6
12	19,7	19,1	16,3	0.6
13	15,1	18,4	20,0	-3.3
14	22,6	16,5	21,5	6.1
15	22,1	18,3	18,7	3.8
16	18,1	14,6	16,3	3.5
17	16,0	18,5	18,8	-2.5
18	18,1	16,7	17,7	1.4
19	22,1	18,9	20,7	3.2
20	17,4	13,0	18,6	4.4
21	22,8	17,2	19,5	5.6
22	21,3	18,7	19,1	2.6
23	24,3	20,9	19,0	3.4
24	22,0	13,5	19,7	8.5
25	20,3	18,6	17,0	1.7
26	15,4	19,3	20,5	-3.9
27	17,1	18,6	21,8	-1.5
28	21,0	19,4	21,1	1.6
29	16,2	19,5	18,3	-3.3
30	21,2	18,0	19,8	3.2

Fuente: elaboración propia

**Gráfico 1: Medianas del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre.**



Fuente: elaboración propia

En la **tabla 1** observamos los resultados de cada halo en milímetros del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y las diferencias de medidas de los resultados de los halos de inhibición frente a *Streptococcus mutans* en milímetro (mm) a las 48 horas de incubación en agar sangre, así también, las medidas del grupo de control del digluconato de clorhexidina al 0.12%.

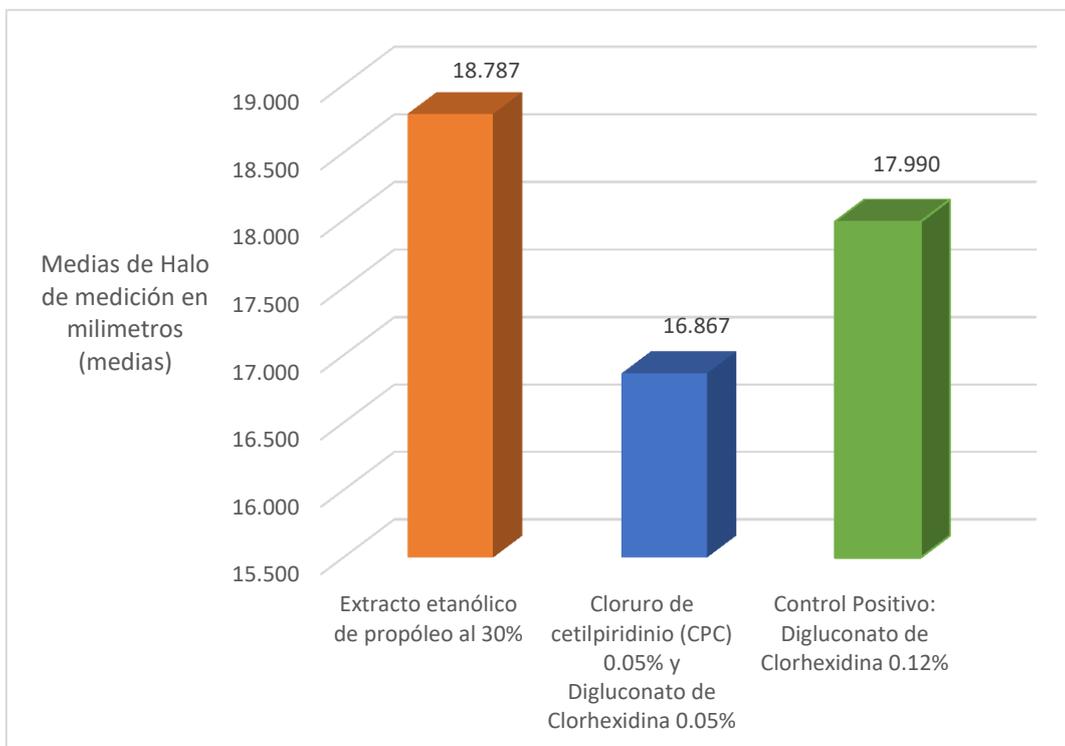
Según el **gráfico 1 de cajas y bigotes**, se pueden observar las medianas de los resultados frente a *Streptococcus mutans* ATCC25175 en milímetros (mm), del extracto etanólico de propóleo al 30% siendo 18.10 mm y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05 más digluconato de clorhexidina a 0.05% siendo 17.50 mm a las 48 horas de incubación en agar sangre.

**Tabla 2: Comparación de estadísticos descriptivos de las mediciones de halo de inhibición en réplicas de extracto etanólico de propóleo al 30% vs Cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0.05% - Digluconato de Clorhexidina 0.05% frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 a las 48 horas.**

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación	Varianza
M1: Extracto etanólico de propóleo al 30%	30	14,1	24,3	18,787	2,7881	7,774
M2: Cloruro de cetilpiridinio (CPC) 0.05% y Digluconato de Clorhexidina 0.05%	30	10,6	23,3	16,867	2,8169	7,935
M3: Digluconato de Clorhexidina 0.12%	30	13,1	21,8	17,990	2,2248	4,950

Fuente: elaboración propia

**Gráfico 2: Comparación del efecto antibacteriano de extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12% frente a Streptococcus mutan ATCC 25175**



Fuente: elaboración propia

Luego de haber obtenido los resultados finales luego de 48 horas con dichas medidas en milímetros, según la **tabla 2 y gráfico 2** , se determinó que las tres sustancias de prueba tienen efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. En el primer lugar, la muestra 1 presenta una media de 18,78 y una desviación estándar (D.E) de 2,78; en segundo lugar, la muestra 2 presenta la media de 16,86 y una D.E de 2.81 y en tercer lugar, la muestra 3 que viene a ser el grupo control presenta una media de 17,99 y una D.E de 2,22. Por otro lado, se puede concluir que según los valores de desviación estándar y varianza obtenido de cada grupo de resultados, el conjunto de resultados que tiene mayor dispersión con respecto a la media es el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05%. Y el conjunto de resultados que presenta la menor dispersión con respecto a la media es el digluconato de clorhexidina al 0.12%.

#### **4.1.2 Análisis de normalidad de resultados**

Se realiza para determinar que análisis estadístico se debe aplicar en el análisis de comprobación de hipótesis general y específica.

**Tabla 3: Análisis de Normalidad de halos de inhibición frente a Streptococcus mutans ATCC 25175 en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre de Extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12%**

SUSTANCIA	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HALOS CLORHEXI	,105	30	,200 <sup>*</sup>	,966	30	,430
CPC-CLOR	,130	30	,200 <sup>*</sup>	,961	30	,320
Propoleo	,131	30	,200 <sup>*</sup>	,963	30	,369

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: elaboración propia

De la **tabla 3**, se interfiere que el conjunto de resultados de los halos de inhibición de las sustancias de prueba frente a Streptococcus mutans a las 48 horas presentan una distribución normal, puesto que los valor p (sig.) obtenidos son mayores al nivel de significancia (0.05) en la prueba de normalidad de Shapiro Wilk. Se consideró la prueba de Shapiro Wilk, ya que los datos analizados son menores a 50. La prueba de Kolmogorov-Smirnov es para datos mayores a 50.

#### 4.1.3 Análisis de varianza de un factor (ANOVA) de los resultados

Se aplica el ANOVA, puesto que todos los resultados de las diferentes concentraciones presentan una distribución normal.

**Tabla 4: Prueba de Homogeneidad de Varianza para halos de inhibición de 48 horas**

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
HALOS	Se basa en la media	1,677	2	87	,193
	Se basa en la mediana	1,145	2	87	,323
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,145	2	81,801	,323
	Se basa en la media recortada	1,672	2	87	,194

Fuente: elaboración propia

Según la **tabla 4**, los halos de inhibición formados luego de las 48 horas de los conjuntos de resultados presentan p valor (sig.) mayores al nivel de significación (0.05), lo cual significa que existe homogeneidad de varianzas en los conjuntos de resultados.

**Tabla 5: Halos de inhibición a las 48 horas**

HALOS	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	55,830	2	27,915	4,054	,021
Dentro de grupos	599,088	87	6,886		
Total	654,918	89			

Fuente: elaboración propia

Según la **tabla 5**, el p-valor (sig.) es menor al nivel de significancia (0.05), lo cual significa que al menos 2 conjuntos de resultados presentan diferencia significativas entre sí. Para determinar si son significativamente diferentes entre sí a las 48 horas el extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina 0.05% y digluconato de clorhexidina 0.12%, si es eficaz frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y por presentar homogeneidad de varianzas, se realizara la prueba post hoc de Bonferroni.

#### **4.1.4 Grado de sensibilidad según la escala de Duraffourd a las 48 horas**

Se determinará el grado de sensibilidad de *Streptococcus mutans* ATCC25175 frente a las muestras de estudio a las 48 horas de exposición.

**Tabla 6: Grado de sensibilidad según escala de Duraffourd**

<b>MUESTRAS</b>	Tiempo de exposición	Sensibilidad nula menor de 8 mm	Sensible de 9 a 14 mm	Muy sensible de 15 a 19 mm	Sumamente sensible más de 20 mm
Extracto etanólico de propóleo al 30%	48 horas			18.79 mm	
Cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05%	48 horas			16.87 mm	

Fuente: elaboración propia

En la **tabla 6**, se observa el análisis de tipo cualitativo según las escalas de Duraffourd que indica el grado de sensibilidad de las muestras luego de 48 horas. Ambas muestras son muy sensibles, ya que el extracto etanólico de propóleo al 30% marcó un halo de inhibición de 18,79 mm y el cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% marcó un halo de inhibición de 16.87 mm. Se concluye que no existe una diferencia de gran significado debido que se separan por medidas de halo de inhibición muy cortos por lo cual se determina que las muestras son similares en cuanto a sus características cualitativas.

## **4.2 Comprobación de hipótesis**

### **Hipótesis general:**

Existe diferencia del efecto antibacteriano del propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio comparativo in vitro.

**Tabla 7: Prueba Post hoc de Bonferroni para comprobar efectividad antibacteriana a las 48 horas**

(I) SUSTANCIA	(J) SUSTANCIA	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
1	2	1,9200*	,6775	,017	,266	3,574
	3	,7967	,6775	,729	-,857	2,451
2	1	-1,9200*	,6775	,017	-3,574	-,266
	3	-1,1233	,6775	,303	-2,777	,531
3	1	-,7967	,6775	,729	-2,451	,857
	2	1,1233	,6775	,303	-,531	2,777

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: elaboración propia

1. Extracto etanólico de propóleo al 30%.
2. Cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05%.
3. Digluconato de clorhexidina al 0.12%

**Conclusión.:** según la **tabla 7**, en la cual evaluó la prueba Post Hoc de Bonferroni, los resultados de las sustancias de extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% son diferentes significativamente entre sí, puesto que el valor de P (sig.) es 0.017 y es menor a 0.05 (nivel de significancia). Por ende, se acepta la **hipótesis de investigación (HI)** y se rechaza la **hipótesis nula (H0)**

Según la **tabla 7**, se concluye de los resultados de las sustancias de prueba lo siguiente:

- a. Los resultados de las sustancias extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% son diferentes significativamente entre sí porque el valor de p (sig.) es 0.017 y es menor a 0.05 (nivel de significancia).
- b. Los resultados de las sustancia cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12% no

son diferentes significativamente entre sí, puesto que el valor de p (sig.) es 0.303 y es mayor a 0.05 (nivel de significancia).

- c. Los resultados de las sustancias digluconato de clorhexidina al 0.12% y extracto etanólico de propóleo al 30% no son diferentes significativamente entre sí, ya que el valor de p (sig.) es 0.729 y es mayor a 0.05 (nivel de significancia).

### **Hipótesis específicas**

1. Existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de *Streptococcus mutans* en 48 horas.

Según la **tabla 2**, en la cual se evaluó la prueba de estadísticos descriptivos, el valor mínimo, máximo y la media del conjunto de datos del extracto etanólico de propóleo al 30% son diferentes de cero con respecto al halo de inhibición en milímetros. Por lo cual se rechaza la **hipótesis nula 1** y se acepta la **hipótesis de investigación 1**.

2. Existe un efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de *Streptococcus mutans* en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Según la **tabla 2**, en la cual se evaluó la prueba de estadísticos descriptivos, el valor mínimo, máximo y la media del conjunto de datos del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% son diferentes de cero con respecto al halo de e inhibición en milímetros. Por lo cual se rechaza la **hipótesis nula 2** y se acepta la **hipótesis de investigación 2**.

3. Existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de *Streptococcus mutans* en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Según la **tabla 7**, en la cual se evaluó mediante la prueba Post Hoc de Bonferroni, los resultados de las sustancias de extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio (CPC) al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% son diferentes significativamente entre sí, puesto que el valor de  $p= 0.017$  y es menor a 0.05 (nivel de significancia). Por ende, se rechaza la **hipótesis nula 3** y se acepta la **hipótesis de investigación 3**.

#### **4.3 Discusión de resultados**

La finalidad de este trabajo experimental in vitro es evaluar la efectividad antibacteriana en 48 horas del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05%, como control se usó el digluconato de clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, teniendo como guía diversos estudios como el de Duraffourd que determinó la sensibilidad ante dicha cepa. Al analizar los datos, se determinó que el extracto etanólico de propóleo presenta más efecto antibacteriano que el cloruro de cetilpiridinio.

Según **Checalla y Sanchez (2021)**, evaluó como actúa de forma antibacteriana del extracto etanólico de propóleo peruano, a través de un estudio experimental in vitro usando como instrumento una regla vernier para la medición de halos de inhibición. Concluyó que todas las concentraciones que usaron de extracto etanólico al 25%, 50% y 75% presentan

actividad antibacteriana, usaron como estudio la escala de Duraffourd dando como resultado sensible y muy sensible.

En nuestro estudio se concuerda con el estudio presente, ya que el extracto etanólico al 30% presentó la mayor sensibilidad, es decir mayor efecto antibacteriano al igual que el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más el digluconato de clorhexidina al 0.05%.

Según **Nazeri et al., (2019)**, evaluaron al propóleo como enjuagatorio bucal antibacteriano y se obtuvo que este fué más eficaz contra bacterias orales a comparación del Listerine y la clorhexidina, comprobando la efectividad antibacteriana.

En el estudio de **Tabango, et al., (2018)** compararon el efecto antibacteriano entre el cloruro de cetilpiridinio al 0.075% y 2 colutorios más, obteniendo que la mayor efectividad antibacteriana la obtuvo el cloruro de cetilpiridinio, en nuestro estudio se usó la concentración 0.05% siendo mucho menor y con digluconato de clorhexidina al 0.05% confirmando la existencia de efectividad antibacteriana aun con menos concentración.

Según **Cayo, et al., (2016)** evaluaron 3 tipos de concentración de propóleo al 10%, 20% y 30% en cepas de *Streptococcus mutans* para ver el efecto antibacteriano, se concluyó que con un 10% de propóleo ya existía un efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans* afirmando con nuestro estudio en la existencia de efectividad del propóleo frente a dicha cepa.

En otro estudio, **Ramirez, et al., (2016)** determinó el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo en concentraciones 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans* y *Cándida Albicans*, se concluyó que a más concentración de propóleo etanólico mayor efecto inhibitorio para *streptococcus mutans*, en nuestro estudio bastó un 30% para mostrar mayor sensibilidad a *Streptococcus mutans*.

**Watanabe, et al., (2015)** en su investigación evaluaron la dilución inhibidora máxima de 3 enjuagues bucales, entre ellos el PeriogardR (clorhexidina 0.12%), CepacolR (cloruro de cetilpiridinio 0.05%) y PlaxR (triclosán 0.03%) demostrando que la mayor actividad antimicrobiana la tienen el PeriogardR con clorhexidina 0.12% y el CepacolR que contiene cloruro de cetilpiridinio al 0.05%, difiriendo de nuestro estudio donde el mayor efecto antibacteriano lo tiene el digluconato de clorhexidina al 0.12%; grupo control, que el cloruro de cetilpiridinio 0.05% más digluconato de clorhexidina 0.05%.

Por último, **según Mohsin S, et al., (2015)** tuvo como objetivo evaluar la eficacia antibacteriana de una pasta a base de propóleo sobre *Streptococcus mutans*, obteniendo la eficacia antibacteriana frente a la carga de esta cepa, demostrando que no solo se puede usar como enjuagatorio o extracto al propóleo, sino en otra presentación demostrando la efectividad antibacteriana.

## CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

- Luego de las pruebas microbiológicas realizadas se concluye que el mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* lo tiene el extracto etanólico de propóleo al 30%.
- El cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% también posee efecto antibacterianos frente a *Streptococcus mutans*.
- El promedio de la dimensión de halos de inhibición a las 48 horas para el extracto etanólico de propóleo al 30% fué 18.79 mm, mientras que el promedio de la medición de los halos de inhibición a las 48 horas del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% fué 16.87 mm, con una diferencia de 1.92mm entre ambas muestras sobre *St. Mutans*, ambos siendo muy sensibles según la escala Duraffourd.
- Los halos formados alrededor de las sustancias muestran bien definidos y uniformes en su extensión garantizando la efectividad de ambas muestras.

### 5.2 Recomendaciones

- Se recomienda crear o elaborar un colutorio a base de extracto de propóleo con el objetivo de evaluarlo en pacientes de la consulta diaria.
- Realizar campañas para dar información de los beneficios del extracto de propóleo como prevención oral.
- Elaborar una pasta dental a base de extracto de propóleo, ya que está comprobado científicamente que actúa de manera antibacteriana contra la caries.
- Continuar la investigación del extracto de propóleo en otras concentraciones para evaluar la efectividad antibacteriana.

## REFERENCIAS

1. Kidd E, Fejerskov. Essentials of dental caries. 4th ed. New York, NY, USA: Oxford University Press; 2016.
2. Álvarez E, Abanto J, Cabrera A, López RA, Masoli C, Echevarría S, et al. Epidemiología de la caries dental en américa latina. Revista de odontopediatría Latinoamericana. 2014; 4(2)
3. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of Streptococcus mutans. Microbiol Spectr. 2019;7(1):1–18.
4. Lee DW, Jung JE, Yang YM, Kim JG, Yi HK, Jeon JG. The antibacterial activity of chlorhexidine digluconate against Streptococcus mutans biofilms follows sigmoidal patterns. Eur J Oral Sci. 2016;1–7.
5. 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 para optar el título de cirujano dentista]. Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2014.
6. Delgado ML, Andrade JA, Ramirez CA. Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. 2015;6(28):74–87.
7. Checalla JL, Sánchez MA. Caracterización química y actividad antibacteriana in vitro de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a Streptococcus mutans. Int J Odontostomat. 2021;15(1):145–51.
8. García M, Zurlohe M, Alonso B, Serrano J, Sanz M, Montero E, et al. Evaluation of new chlorhexidine- and cetylpyridinium chloride-based mouthrinse formulations adjunctive to scaling and root planing : pilot study. Int J Dent Hyg. 2016;(1):1–11.

9. Nazeri R, Ghaïour M, Abbasi S. Evaluation of antibacterial effect of propolis and its application in mouthwash production. *Front Dent.* 2019;16(1):1–12.
10. Lema V, Reyes JA, Aillón E, Tello G. Efecto antibacteriano de enjuagues bucales pediátricos comercializados en el Ecuador sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudio in vitro. *Odontología.* 2018;20(2):56–67.
11. Cayo C, Quijandría L, Ramos J. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del Propóleo sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). *Ciencia y desarrollo. Universidad Alas Peruanas* 2016;19(2):19–24.
12. Ramirez T, Vilcapaza MN. Efecto inhibitorio del extracto de propóleo sobre los microorganismos *streptococcus mutans* y *cándida albicans* que colonizan la cavidad oral en pacientes adultos de la clínica odontológica, Una Puno. [Tesis para optar el título de cirujano dentista]. Puno; 2016.
13. Watanabe E, Nascimento AP, Guerreiro JM, Razaboni AM, Andrade D, Tanomaru M. Antiseptic mouthwashes: in vitro antibacterial activity. *Acta Odontol Latinoam.* 2015;28(2):180–4.
14. Mohsin S, Manohar B, Rajesh S, Asif Y. The effects of a Dentifrice containing propolis on mutans streptococci: a clinico microbiological study. *Ethiop J ealth Sci.* 2015; 25 (1)
15. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos F et al. Dental caries. *Nature Reviewas Disease Primers.* 2017;1–45.
16. Mathur VP, Dhillon JK. Dental caries : a disease which needs attention. *Indian J Pediatr.* 2018;85(3):202–6.
17. Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. *Monogr Oral Sci.* 2018;27:1–10.
18. Wong A, Subar PE, Young DA. Dental caries an update on dental trends and

- therapy. *Advances in pediatrics*. 2017;64(1):307–30.
19. Cueto V. Diagnóstico y tratamiento de lesiones cariosas incipientes en caras oclusales. *Odontoestomatología*. 2009;11(13):4–15.
  20. Sheiham A, James WP. Diet and dental caries : The pivotal role of free sugars reemphasized. *Journal of Dental Research*. 2015;1–7.
  21. Ojeda JC, Oviedo E, Andrés L. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Revista CES Odontología*. 2013;26(1):44–56.
  22. Matsumoto M. Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japanese Dental Science Review* 2018;54(1):22–9.
  23. Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci*. 2004 1;9:1267-77.
  24. Almuhayawi MS. Propolis as a novel antibacterial agent. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020;27(11):3079–86
  25. Zabaïou N, Fouache A, Trousson A, Baron S, Zellagui A, Lahouel M et al. Biological properties of propolis extracts : Something new from an ancient product. *Chemistry and Physics Lipids*. 2017;207:214–22.
  26. Przybyłek I, Karpinski T. Antibacterial properties of propolis. *Molecules*. 2019;1–17.
  27. Mao X, Auer DL, Buchalla W, Hiller K, Maisch T, Hellwig E et al. Cetylpyridinium chloride: mechanism of action, antimicrobial efficacy in biofilms, and potential risks of resistance. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2020;64:1–14.
  28. Bascones A, Morante S. Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. Vol. 18. 2006. 31–59 p.
  29. Pacho León I. Eficacia, seguridad y efectos adversos de los agentes químicos

- antiplaca. [Tesis] 2015.
30. Cabezas AM. Efecto inhibitor de crecimiento de la cepa pura de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de dentífricos y enjuagues bucales de uso pediátrico expendidos en la ciudad de Quito, Ecuador. [Tesis para optar el título de especialista]. Ecuador; 2017.
  31. Enrile FJ, Santos A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica mouthrinses. *RCOE*. 2005;10(4):445–52.
  32. Otero G, Carpes Milanesi F, Greggianin B, Fernandes M, Oppermann R, Weidlich P. Chlorhexidine with or without alcohol against biofilm formation: efficacy, adverse events and taste preference. *Braz Oral Res*. 2017;1–9.
  33. Balagopal S, Arjunker R. Chlorhexidine: The Gold standard antiplaque agent. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2013;5(12):270–4.
  34. Armenta MG, Serrano P, García R, Díaz A, Acosta L. Efecto antimicrobiano de la clorhexidina en odontología. *Revista Odontológica Latinoamericana*. 2016;8(2):31–4.
  35. San Juan L. La observación. 2010. 1–29.
  36. Calderon A. Actividad antibacteriana in vitro de soluciones de propóleo etanólico sobre dos bacterias periodontopatógenas frecuentes en la enfermedad gingivoperiodontal. [Tesis para optar el título de cirujano dentista]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano; 2010.
  37. Duraffourd C, Lapraz J, Hervicourt L. Cuadernos de fitoterapia clínica. Barcelona: Masson SA; 1987.

## ANEXOS

### ANEXO N°1: Matriz de consistencia

**Título de investigación:** “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans (ATCC25175). Estudio comparativo in vitro.”

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p><b>General:</b> ¿Cuál es la comparación del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro?</p>	<p>Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro</p>	<p>Hi: Existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro.</p>	<p>Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo y del cloruro de cetilpiridinio más digluconato de clorhexidina.</p>	<p>El presente estudio es de tipo aplicativo, diseño experimental in vitro, retrospectivo y de corte transversal. Constituidas por 30 muestras experimentales sobre placas en agar Brain Heart Infusion sobre cepa de Streptococcus</p>

		<p>Ho: No existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y el cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro.</p>	<p>mutans para determinar mediante halos de inhibición en milímetros el efecto antibacteriano.</p>
<p><b>Específico 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</li> </ul>	<p>Hi: Existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</p> <p>Ho: No existe un efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</p>	

<p><b>Específico 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cuál será el efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar el efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</li> </ul>	<p>Hi: Existe un efecto antibacteriano del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</p>		
<p><b>Específico 3:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cuál es la diferencia antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 30%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Establecer la diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</li> </ul>	<p>Hi: Existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</p>		

		<p>Ho: No existe diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y del cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans en 48 horas. Estudio comparativo in vitro.</p>	
--	--	--	--

**ANEXO N°2: Matriz de operacionalización de variables**

**Variable 1:** Efectividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo

**Definición operacional:** Capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de st. Mutans debido a la presencia del propóleo.

DIMENSION	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION	ECALA VALORATIVA (NIVELES O RANGOS)
-	Halos de inhibición de crecimiento bacterianos y extracto etanólico de propóleo al 30%.	Nominal: Cualitativa (Escala de Duraffourd)	Nula (-): <8mm Sensible (+): entre 9 y 14 mm Muy sensible (++) : entre 15 y 20 mm Sumamente sensible (+++) : >20 mm 48 horas

**Variable 2:** Efectividad antibacteriana del Cloruro de cetilpiridinio más digluconato de clorhexidina.

**Definición operacional:** Capacidad inhibitoria del crecimiento bacteriano de st. Mutans debido a la presencia del compuesto de amonio cuaternario y de una base fuerte di catiónica con un PH superior a 3.5 respectivamente usados como medida profiláctica en colutorios.

DIMENSION	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION	ECALA VALORATIVA (NIVELES O RANGOS)
-	Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.05%	Nominal: Cualitativa (Escala de Duraffourd)	Nula (-): <8mm Sensible (+): entre 9 y 14 mm Muy sensible (++) : entre 15 y 20 mm Sumamente sensible (+++) : >20 mm 48 horas

**ANEXO N°3: Ficha de recolección de datos**

<p align="center"><b>“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS. ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO.”</b></p>			
<i>Muestra</i>	<i>Extracto etanólico de Propóleo al 30% a las 48 horas y halos de inhibición (mm)</i>	<i>Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% a las 48 horas y halos de inhibición (mm)</i>	<i>Diferencia entre propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% a las 48 horas y halos de inhibición (mm)</i>
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			

17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			

**ANEXO N°4: Adquisición de la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans**



**Gen Lab del Perú S.A.C**  
 Jr. Capac Yupanqui N°. 2434  
 Lince - Lima - Perú  
 Central Telefónica  
 (51-1) 203-7600, (51-1) 203-7601  
 Email : [ventas@genlabperu.com](mailto:ventas@genlabperu.com)  
 Web Site : [www.genlabperu.com](http://www.genlabperu.com)

**RUC N°:20501262260**  
**FACTURA**  
**ELECTRONICA**  
**F002-001578**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 31/05/2021	Orden Compra: GL - 21 / 048709
Fecha Vcto : 31/05/2021	Gula de Remisión :
Cilente: UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER S.A.	N° Pedido : 028059
Dirección: AV. REPUBLICA DE CHILE NRO. 432 URB. SANTA BEATRIZ JESUS MARIA - LIMA - LIMA - Peru	
Tipo Mov. : ANTICIPOS	RUC : 20466246370
Lugar de destino : MOLINO DEL GATO 208 TORRE P DPTO 707 - CERCADO DE LIMA	

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Decto	Sub-Total
H0566-A	Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™	1	UND	341.9100	0.00	341.91

CUATROCIENTOS TRES CON 45/100 SOLES



Sub-Total	341.91
Anticipo	
Op. Gravada S/	341.91
IGV 18%	61.54
Importe Total S/	403.45

Representación impresa de la Factura Electrónica  
 Consulte : <http://ope.genlabperu.com>

**Observaciones de SUNAT :**

La FACTURA numero 20501262260-01-F002-001578, ha sido aceptada

Despues de Vencido el plazo de cancelacion, se recargará el Interes legal correspondiente.  
 Sirvanse Realizar el Deposito Respectivo a las Siguyentes Ctas Bancarias:  
 BCP Soles 193-1440607-0-84 BBVA Soles 0011-0139-0100024183-34

## ANEXO N°5: Materiales y equipos

**Autoclave**



**Incubadora**



**Micropipeta**



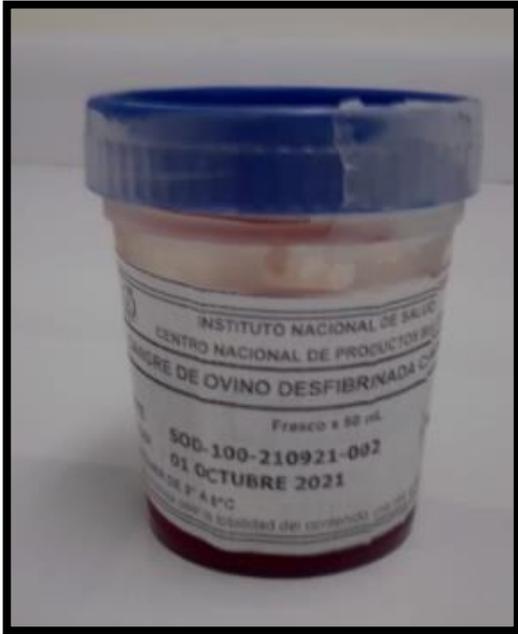
**Contador de colonias**



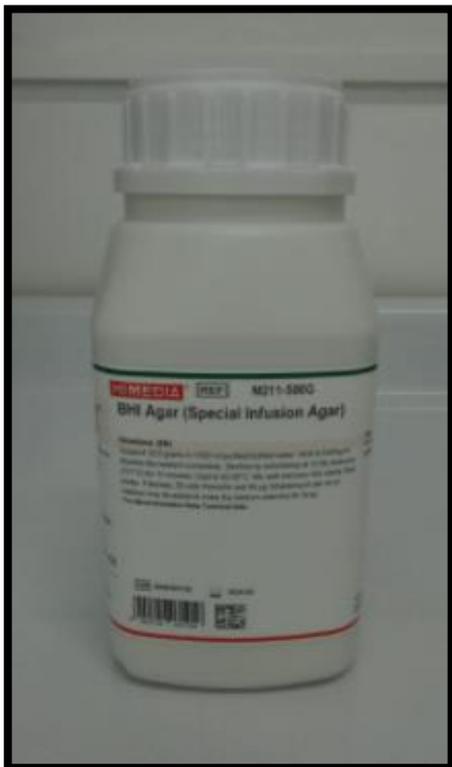
**Regla Vernier**



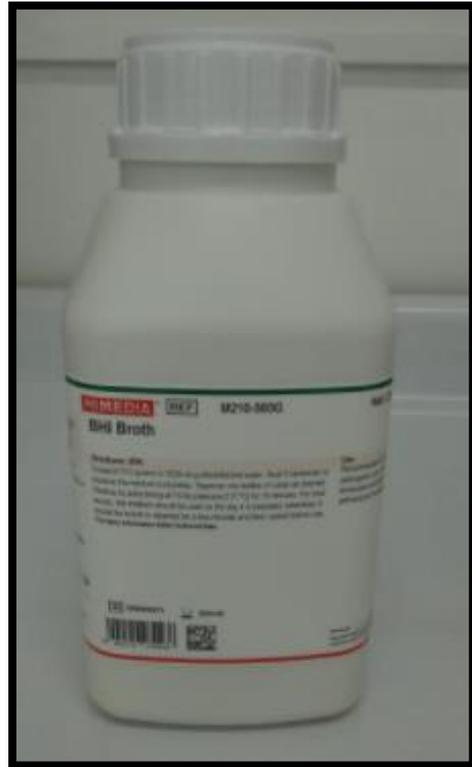
## Sangre de ovino



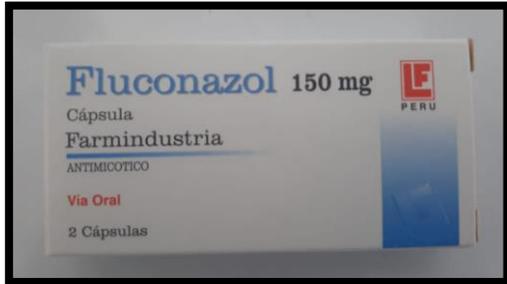
## Agar Brain Heart Infusion



## Caldo Brain Heart Infusion



**Fluconazol:  
Antibiótico empleado en el agar sangre**

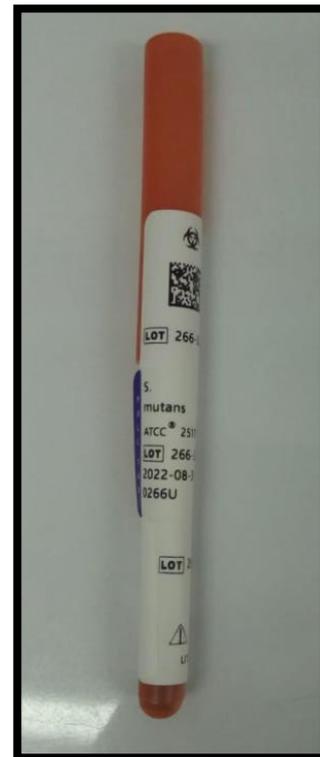


**Propóleo sólido de abeja**



**Cepa de Streptococcus mutans ATCC 25175**

**Empaques de bioseguridad de la cepa**



**Discos antibiograma de 6 mm**



**Alcohol de 96°**



**Digluconato de clorhexidina 0.12% (Periogard)**



**Extracto etanólico de propóleo al 30%**



**Cloruro de cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% (Periogard-mantenimiento y control)**

**ANEXO N°6: Obtención del extracto de propóleo al 30%**

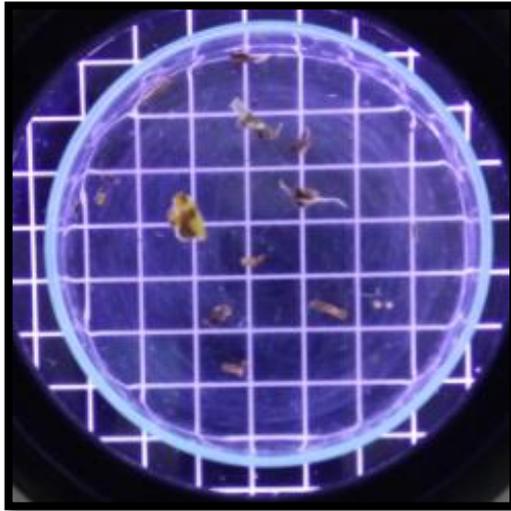
**Materia prima: propóleo solido de abeja**



**Selección de partículas extrañas en bandeja**



**Partículas extrañas (en placa petri) encontradas en el propóleo sólido**



**Trituración de propóleo sólido en mortero**



**Pesaje de propóleo triturado**





### **Traslado de propóleo triturado a frasco ámbar**

En el frasco ámbar con propóleo triturado, se añade 111 ml de alcohol 96% y se mantiene en reposo durante 2h, concluído el tiempo de reposo se coloca en un baño de agua a una temperatura de 38°C y se calienta suavemente con agitación por durante 15 min.



### **Maceración del Propóleo**

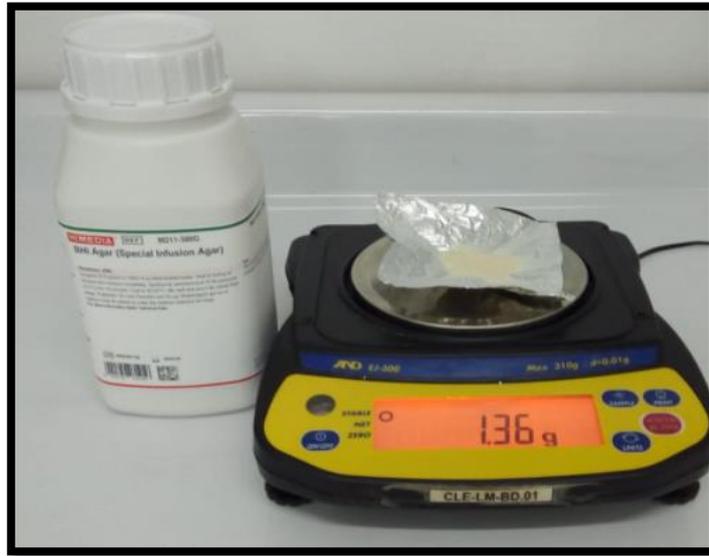
#### **Filtrado:**

Terminado el proceso de maceración, la solución etanólica sobrenadante se decanta cuidadosamente y se filtran previamente a través de papel de filtración rápida.



## **ANEXO N°7: Preparación de medio de cultivo del agar**

### **Pesaje del agar BHI**



**Luego el frasco de agar BHI (Color ámbar) se autoclava y se estabiliza la temperatura del Agar BHI (a 45°C) en baño termostato antes de su combinación con la sangre de ovino y su traslado en placas Petri.**



**Combinación del agar BHI con la sangre de ovino, en esterilidad, con el mechero de Bunsen**



**Traslado del agar Sangre a las placas Petri, en esterilidad, con el mechero de Bunsen**



## ANEXO N°8: Preparación del inóculo de streptococcus mutans

### Activación en esterilidad frente a mechero bunsen en caldo BHI



**ANEXO N°9: Inoculación de las placas con streptococcus mutans**



**Procedimiento de inoculación de 10ul de las sustancias de prueba (Extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05% y digluconato de clorhexidina al 0.12%) con micropipeta, en esterilidad, frente al mechero de bunsen**

**Inoculación de digluconato de clorhexidina al 0.12% (Marca: Periogard)**



**Inoculación de cloruro de cetilpiridinio al 0.05% más digluconato de clorhexidina al 0.05%**



**Inoculación de Extracto etanólico de propóleo al 30%**



**ANEXO N°10: Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba**

**Jarra de anaerobiosis: Se observa la generación de CO<sub>2</sub>, por combustión de una vela, para generar anaerobiosis en el ambiente interno de la jarra.**



**Cuando el ambiente interno de jarra sea anaerobio y termina la combustión de la vela, se procede a incubar.**

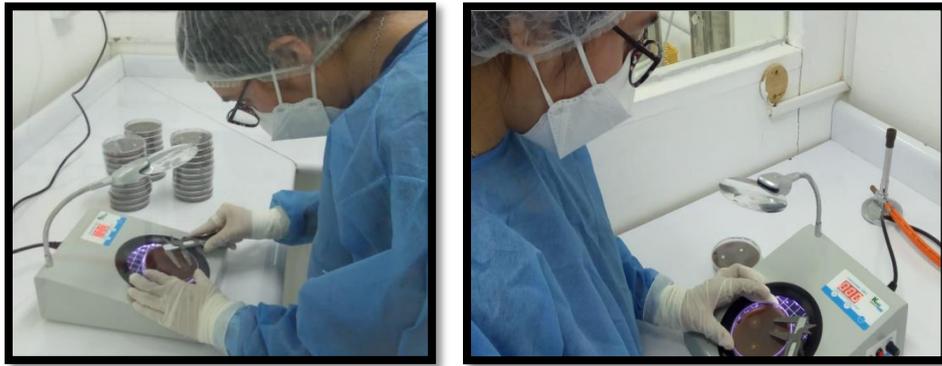


**Incubación de la jarras de anaerobiosis en la incubadora de 37°C durante 48 horas**



**ANEXO N°11: Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente a  
*Streptococcus Mutans***

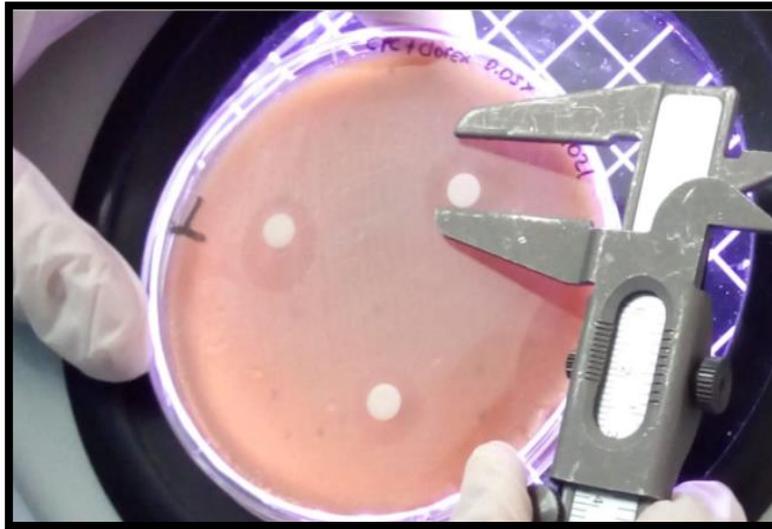
**Después del tiempo de incubación, las placas Petri se sacan de la jarras de anaerobiosis y se miden con una regla Vernier y una lupa de 4 aumentos de un contador de colonias de fondo oscuro que dará contraste para observar detalladamente los halos de inhibición de las sustancias de prueba frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175**



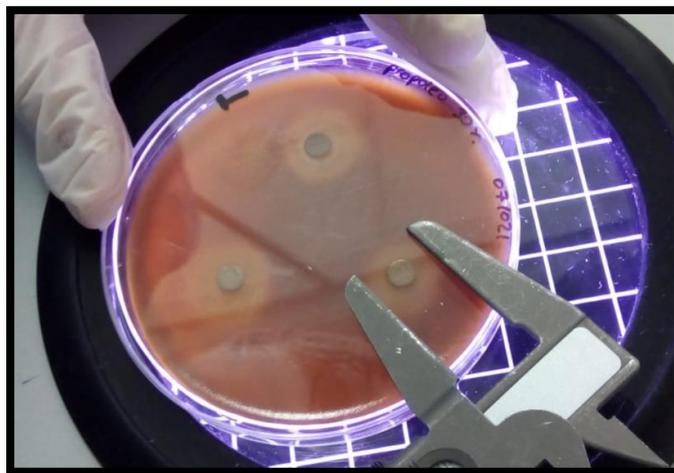
**Medición de los halos de inhibición de una placa con Digluconato de clorhexidina  
0.12%**



**Medición de los halos de inhibición de una placa con cloruro de cetilpiridinio (CPC) a 0.05% y con digluconato de clorhexidina 0.05%**



**Medición de los halos de inhibición de una placa con Extracto etanólico de propóleo al 30%**



## ANEXO N°12: Constancia de eliminación de desechos



### CONSTANCIA

La empresa SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. hace constar que se ha eliminado adecuadamente los residuos biológicos del trabajo de Tesis "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO" como indica nuestro Instructivo de Bioseguridad y eliminación de residuos biológicos del Laboratorio de microbiología I01-P10-GL, el cual indica que los materiales de ensayo biocontaminados se dividirán en materiales de vidrio y descartables. Ambos serán colocados, por separado, en bolsas de riesgo biológico y se colocarán en la autoclave para su proceso a 121°C por 30 minutos.



Luego del proceso de autoclavado, los materiales de vidrio se lavarán y pasarán controles de calidad para ser reutilizados. Con respecto al material descartable, al haber sido **minimizado, tratado,** eliminando el **riesgo significativo;** se realiza su **disposición final** como residuo sólido municipal según Ley N° 27314., Ley General de Residuos Sólidos. Título IV. Artículo 27, inciso 2, el cual dice:

*"27.2 La prestación de servicios de residuos sólidos por pequeñas y microempresas estará restringida a los residuos del ámbito de la gestión municipal, conforme a las disposiciones reglamentarias que al efecto se dicten para promover su participación".*

Lima, 14 de octubre del 2021

Nibgo Oriel Elias Juarez Viquecuma  
Salud de Laboratorio  
C.B.P. 14098

**ANEXO N°13: Bioseguridad y eliminación de desechos**



**ANEXO N°14: Validación de la ficha de recolección de datos**

**CARTA DE PRESENTACIÓN**

Mgtr/Doctor:

Dr. Ignacio Sebastián Schwab Silva

Presente

Asunto: **VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTO.**

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y así mismo, hacer de su conocimiento que siendo estudiante del programa de EAP de Odontología requiero validar los instrumentos con los cuales recogeré la información necesaria para desarrollar mi investigación y con la cual optaré el grado de Título de Cirujano Dentista

El título nombre de mi proyecto de investigación es: "Efecto ambliopérmico del ejercicio aeróbico es propicio a 30% y 45% de centración de la vista en la digitación de dos dígitos a 0,5% y 0,1% de tiempo de reacción (MTC 2575) estudio comparativo in vivo 2021" y siendo imprescindible contar con la aprobación de docentes especializados para aplicar los instrumentos en mención, he considerado conveniente recurrir a Usted, ante su connotada experiencia en temas de la línea de investigación

El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Definiciones conceptuales de las variables y dimensiones.
- Matriz de operacionalización de las variables.
- Certificado de validez de contenido de los instrumentos.

Expresándole los sentimientos de respeto y consideración, me despido de Usted, no sin antes agradecer por la atención que dispense a la presente.

Atentamente,

  
Nombre y Firma: Rubén Osorio Cochac  
D.N.I: 42443299

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Huapaya Pisconte Gian Viviana  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente de la Universidad Norbert Wiener  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor(es) del Instrumento: Ochoa Concha Rubila Celeste  
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				x	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				x	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				x	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				x	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				x	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.				x	
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la Investigación y metodología.				x	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				x	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio				x	
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				x	
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					10	
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1x A) + (2x B) + (3x C) + (4x D) + (5x E)}{50} = \frac{40}{50} = 0.80$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:  
 - Instrumento aplicable al estudio

16 de setiembre del 2021



.....  
 Dr. CD Gian V. Huapaya Pisconte  
 CIRUJANO DENTISTA  
 C.O.P 12648

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: HUAYLLAS PAREDES, BETZABE  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente de la Universidad Norbert Wiener  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor(es) del Instrumento: Ochoa Concha Rubila Celeste  
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				x	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				x	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				x	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				x	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				x	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.				x	
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la Investigación y metodología.				x	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				x	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio				x	
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				x	
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					10	
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{40}{50} = 0.80$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:  
Aplicable para el estudio

16 de setiembre del 2021



.....  
Firma

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

1.1 Apellidos y Nombres del Experto: ALVAN SUASNABAR PABLO CESAR

1.2 Cargo e Institución donde labora: UNIVERSIDAD NORBERT WIENER

1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos

1.4 Autor(es) del Instrumento: Ochoa Concha Rubila Celeste

1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				X	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					X
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				X	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la Investigación y metodología.				X	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio				X	
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					7	3
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{43}{50} = 0.86$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Aplicable

16 de setiembre del 2021

*Pablo Alvan S.*

.....  
Firma y sello

## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

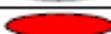
- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Araujo Farje Jessica Jazmín  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Universidad Privada Norbert Wiener  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor(es) del Instrumento: Ochoa Concha Rubila Celeste  
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					X
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					X
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					X
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El Instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						10
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{50}{50} = 1$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

### IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Cumple con los criterios de aplicabilidad para el presente estudio obtenido un promedio de 1.00

17 de setiembre del 2021



## VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

### I. DATOS GENERALES

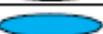
- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Mariela Villacorta Molina  
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente Universidad Privada Norbert Wiener  
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos  
 1.4 Autor(es) del Instrumento: Ochoa Concha Rubila Celeste  
 1.5 Título de la Investigación: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021

### II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					X
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					X
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					X
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)						50
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{50}{50} = 1$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado 	[0,00 – 0,60]
Observado 	<0,60 – 0,70]
Aprobado 	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

✓ Cumple con los criterios de aplicabilidad para el presente estudio

17 de setiembre del 2021

Villacorta M.

## ANEXO N°15: Constancia del ensayo y recolección de datos



### INFORME DE ENSAYO N° SQ211014.01

**SOLICITUD DE ENSAYO** : SQE 210903.01  
**SOLICITANTE** : OCHOA CONCHA, RUBILA CELESTE  
**DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE** : —  
**PROCEDENCIA DE LA MUESTRA** : Proportionado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.<sup>(1)</sup>  
 Proportionado por el cliente <sup>(2)</sup>  
**PROCEDIMIENTO DE MUESTREO** : No aplica  
**IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA** : M1: Extracto estandarizado de propóleo al 30% <sup>(1)</sup>  
 M2: Cloruro de cetipiridinio 0.05% y Digluconato de Clorhexidina 0.05% <sup>(2)</sup>  
 M3: Digluconato de Clorhexidina 0.12% <sup>(2)</sup>  
**CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA** : M1: Una (01) unidad de 250mL,  
 M2: Una (01) unidad de 50mL,  
 M3: Una (01) unidad de 60mL, Marca "Periogard"  
**LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO** : No aplica  
**FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN** : 03 de septiembre del 2021/ 18:00h  
**CONDICIONES A LA RECEPCIÓN** : Temperatura ambiente  
**TÉRMINO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO AL 30%** : 21 de septiembre del 2021  
**ENSAYOS PRELIMINARES** : 22 de septiembre al 06 de octubre del 2021  
**FECHA DE INICIO DEL ANÁLISIS** : 07 de octubre del 2021  
**FECHA DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS** : 09 de octubre del 2021  
**FECHA DE EMISIÓN** : 14 de octubre del 2021



#### RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

N° Réplica de disco antibiograma	Halo de inhibición frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 <sup>1</sup> en milímetros (mm) a las 48 horas en agar sangre		
	M1: Extracto estandarizado de propóleo al 30%	M2: Cloruro de cetipiridinio (CPC) 0.05% y Digluconato de Clorhexidina 0.05%	M3: Digluconato de Clorhexidina 0.12%
1	16,5	13,6	13,1
2	14,1	14,9	15,0
3	16,0	10,6	13,1
4	17,8	14,5	17,1
5	20,5	15,1	17,0
6	18,1	13,1	16,2
7	16,8	17,8	17,0
8	19,1	23,3	16,6
9	17,5	13,2	17,2
10	20,2	17,2	16,0
11	14,4	15,0	17,0
12	19,7	19,1	16,3
13	15,1	16,4	20,0
14	22,8	16,5	21,5
15	22,1	16,3	18,7

Los resultados de los ensayos corresponden solo a las muestras entregadas. Los resultados no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. la actualización o uso indebido del presente informe conlleva un dolo contra la ley pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

**INFORME DE ENSAYO Nº SQ211014.01**

16	18,1	14,6	16,3
17	16,0	16,5	18,8
18	18,1	16,7	17,7
19	22,1	18,9	20,7
20	17,4	13,0	18,6
21	22,8	17,2	19,5
22	21,3	16,7	19,1
23	24,3	20,9	19,0
24	22,0	13,5	19,7
25	20,3	18,6	17,0
26	15,4	19,3	20,5
27	17,1	18,6	21,8
28	21,0	19,4	21,1
29	16,2	19,5	18,3
30	21,2	18,0	19,8



**MÉTODOS DE ENSAYO**

ENSAYOS	NORMA DE REFERENCIA
ANTIBIOGRAMA	Técnica de Kirby-Bauer. Método de disco de difusión en agar.

**OBSERVACIONES:**

(1) El extracto etanólico de propóleo al 30% fue elaborado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., el cual empleo como materia prima el propóleo de abeja en sólido proporcionado por el cliente y alcohol de 96° de elaboración farmacéutica comercial.

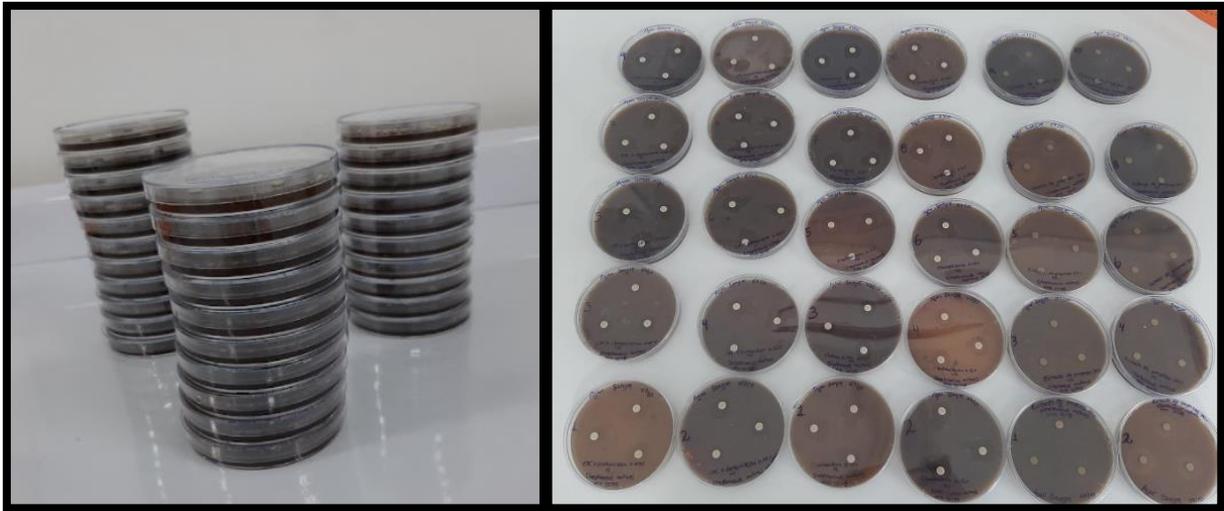
(\*) Concentración de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 es de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. (Estándar de turbidez de McFarland N°0.5).



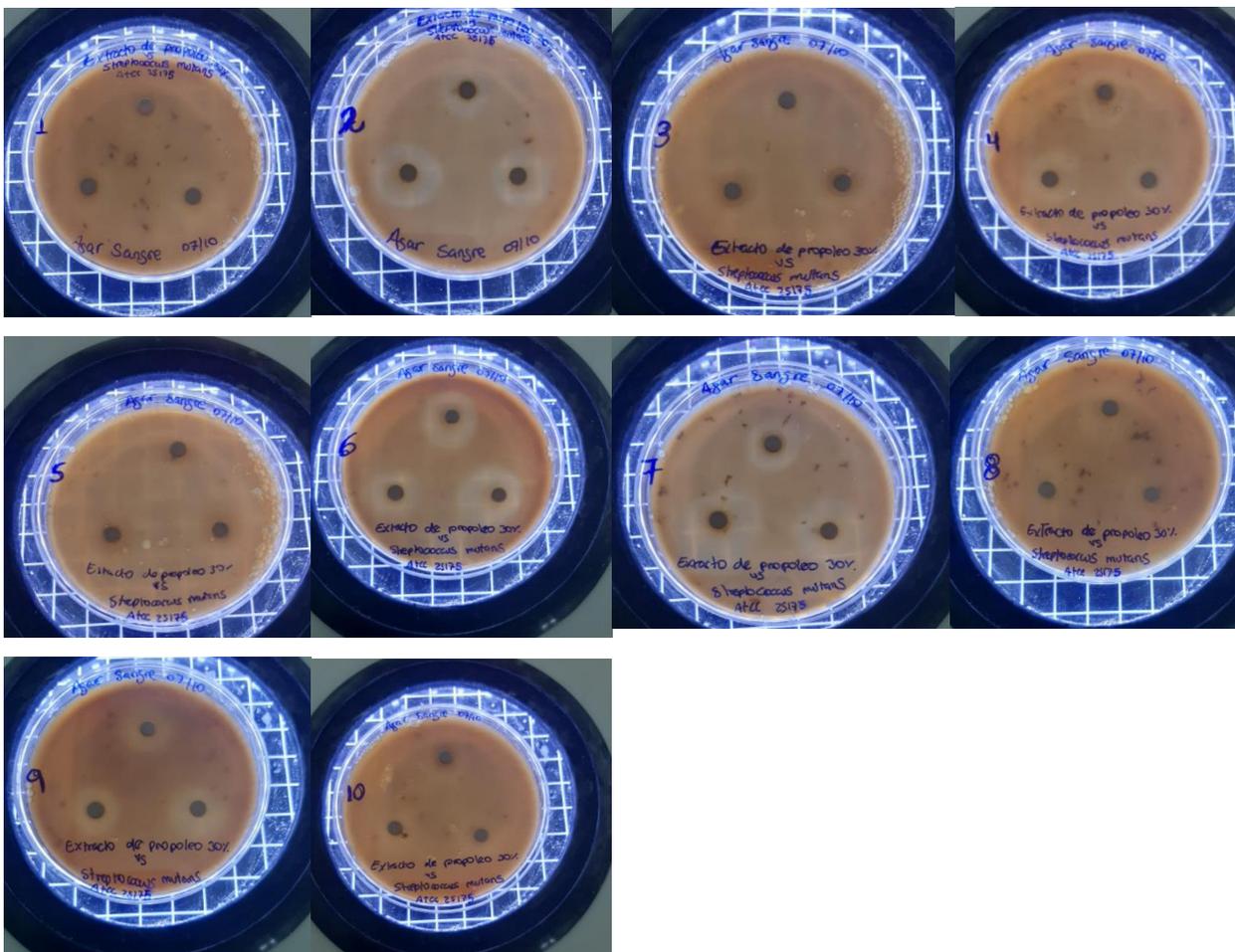
**Mbigo. Oniel Elias Juárez Vilcapuma**  
Gerente de Laboratorio  
C.B.P. 14090

## ANEXO N°16: Resultados

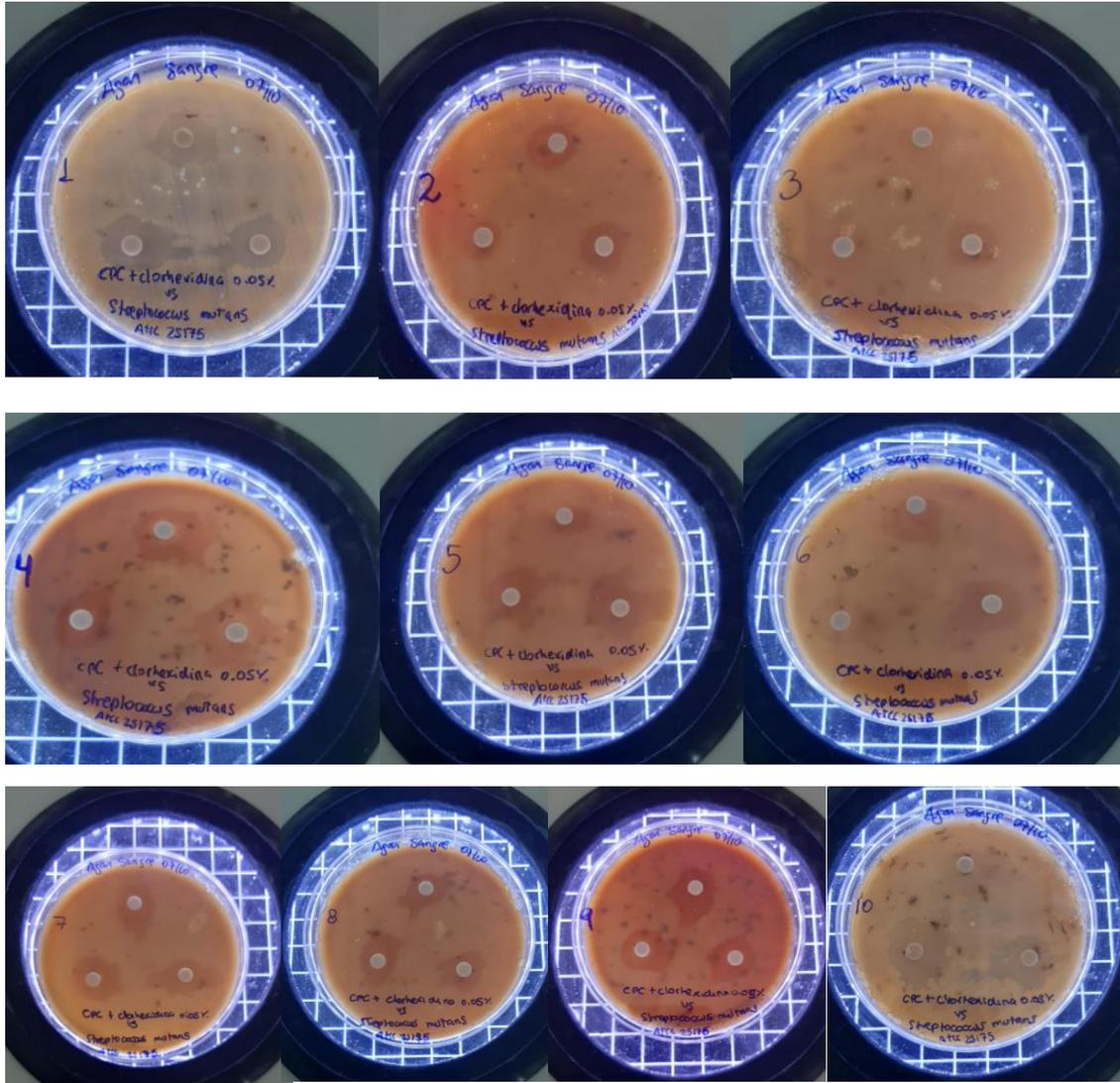
### Conjunto de las 30 placas de análisis



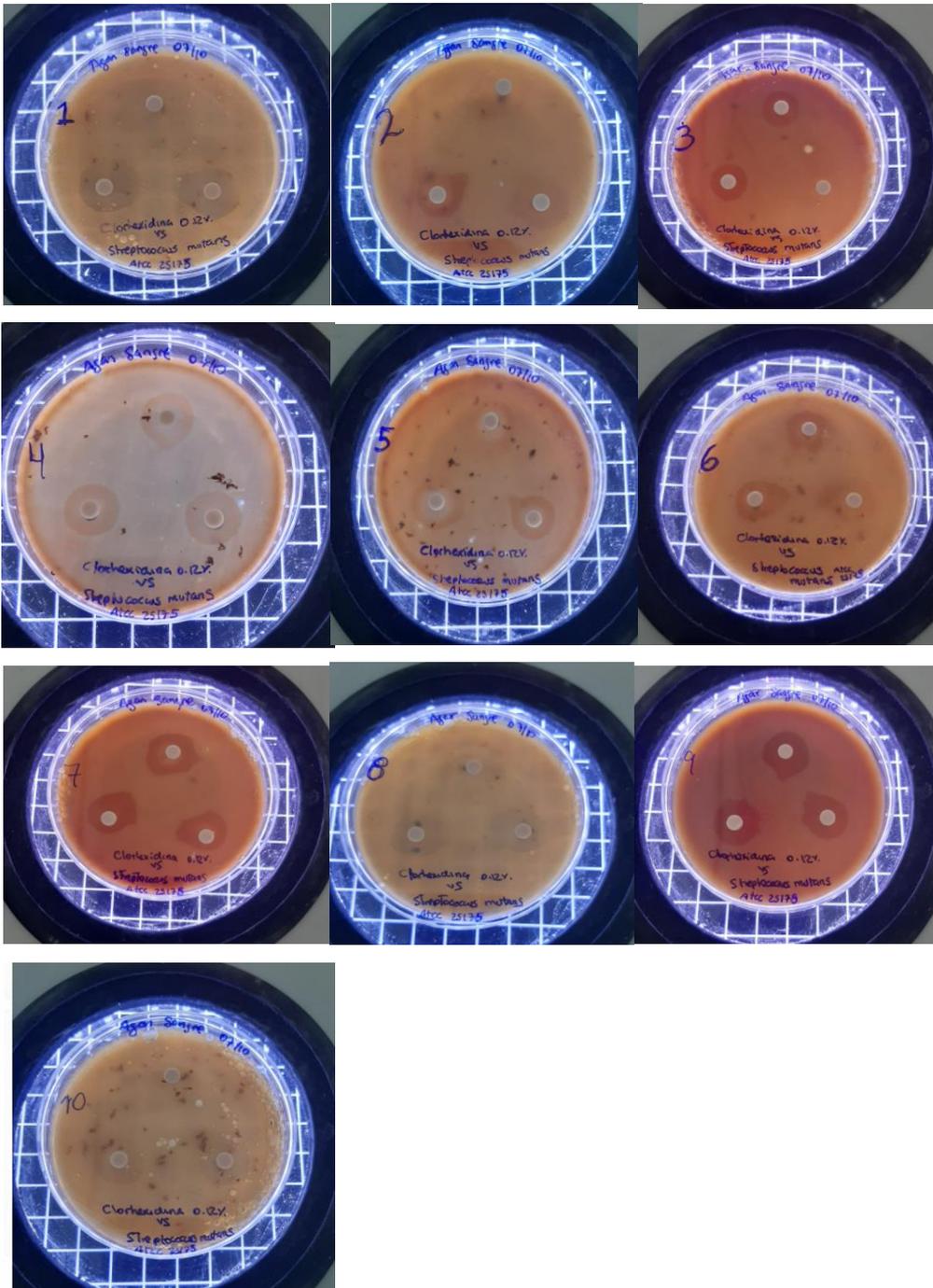
### Placas Petri: Extracto de propóleo AL 30%



**Placas Petri: Cloruro de cetilpiridinio (CPC) a 0.05% y con digluconato de clorhexidina 0.05%**



### Placas Petri: Digluconato de clorhexidina 0.12%



## ANEXO N°17: Informe del asesor de turno



### INFORME DEL ASESOR

Lima, 06 de enero de 2021

Dra. Brenda Roxana Vergara Pinto  
Director(a) de la EAP de Odontología  
Presente.-

De mi especial consideración:

Es grato expresarle un cordial saludo y como Asesor de la tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021"; para la obtención del Título Profesional de Cirujano Dentista; ha sido concluida satisfactoriamente.

Al respecto informo que se lograron los siguientes objetivos:

- Identificar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.
- Identificar el efecto antibacteriano del cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans in vitro a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.
- Establecer la diferencia del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo al 30% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% mas digluconato de clorhexidina al 0.05% sobre cepas de streptococcus mutans a las 48 horas. Estudio comparativo in vitro.

Atentamente,



---

Mg. Ignacio Segundo Schwan Silva  
Asesor de Tesis

Ignacio Segundo Schwan Silva  
Cirujano Dentista  
COP 12615

## CONTROL DE ASESORÍA

NOMBRE DEL EGRESADO:  
Rubila Celeste OCHOA CONCHA

TÍTULO DE LA TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPÍRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175): ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021"

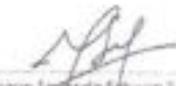
ASESOR: Mg. Ignacio Segundo Schwan Silva

Nº	FECHA DE LA ASESORÍA	TEMA	HORA	FIRMA DE EGRESADO	FIRMA ASESOR
1	10/05/2021	Definición de tema, título y variables de la investigación	02 horas		
2	17/05/2021	Revisión de la matriz de consistencia.	04 horas		
3	21/06/2021	Aprobación de la matriz de consistencia para ser presentada en la Escuela.	02 horas		
4	26/06/2021	Revisión de planteamiento del problema y antecedentes	02 horas		
5	17/07/2021	Revisión del marco teórico y del diseño metodológico	04 horas		
6	20/07/2021	Revisión del proyecto de investigación completo	02 horas		
7	18/08/2021	Revisión final del proyecto. Se aprueba para ser presentado a la Escuela	04 horas		
8	24/09/2021	Revisión del instrumento. Se dan sugerencias.	02 horas		

## CONTROL DE ASESORÍA

9	19/10/2021	Aprobación del instrumento y su confiabilidad para ser aplicado	02 horas	<i>RWD</i>	<i>JH</i>
10	09/11/2021	Verificación de base de datos para que continúe el proceso de estadística.	02 horas	<i>RWD</i>	<i>JH</i>
11	13/12/2021	Revisión de tesis completa. Se indica mejorar presentación de resultados, discusión y conclusiones.	02 horas	<i>RWD</i>	<i>JH</i>
12	06/01/2022	Revisión de tesis. Se aprueba para ser presentado a la Escuela	02 horas	<i>RWD</i>	<i>JH</i>
TOTAL			30		

Nota: Llenar un formulario por cada egresado.

  
 Ignacio Segundo Sotomayor Silva  
 Clínico Dentista  
 CIP 12645



## EVIDENCIA DE ASESORÍA

NOMBRE DEL EGRESADO:

Rubila Celeste, OCHOA CONCHA \_\_\_\_\_

TÍTULO DE LA TESIS:

"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE PROPOLEO AL 30% Y CLORURO DE CETILPIRIDINIO AL 0.05% MAS DIGLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0.05% SOBRE CEPAS DE STREPTOCOCCUS MUTANS (ATCC 25175). ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. 2021" \_\_\_\_\_

ASESOR:

Mg.CD. Ignacio Segundo Schwan Silva \_\_\_\_\_