



**Universidad
Norbert Wiener**

UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER

Escuela Académico Profesional de Odontología

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL PROPÓLEO Y SU COMBINACIÓN
CON EL HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*.
ESTUDIO IN VITRO 2021**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

Bachiller Perez Llantoy Linda Katherine

Asesora

Mg CD. Dina Vilchez Bellido

LIMA- PERÚ

2022

TESIS

Actividad antibacteriana del propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus faecalis*. Estudio in vitro 2021

Línea de investigación

Salud, enfermedad y ambiente

Asesora

Mg CD. Dina Vilchez Bellido

Código Orcid: 0000-0003-2675-5084

Jurado:

1. Presidente:

Mg. CD. Menacho Angeles Gregorio Lorenzo.

2. Secretaria:

Mg. CD. Huamani Caquiamarca Yuliana.

3. Vocal:

Mg. CD. Soto Vargas Karina Janeth.

Dedicado a mi familia, en especial a mis padres que con paciencia y amor me educaron, acompañándome en cada momento de mi vida y que son parte primordial en mi camino a cumplir mis sueños.

Un agradecimiento muy afectuoso a mi asesora Mg CD. Dina Vilchez Bellido por guiarme, compartir su conocimiento y especialmente por su dedicación en el desarrollo de este estudio.

ÍNDICE

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xi
1. EL PROBLEMA	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema	3
1.2.1. Problema Principal.....	3
1.2.2. Problemas Específicos	3
1.3. Objetivos de la investigación	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Justificación de la Investigación	4
1.5. Limitaciones de la investigación.....	5
1.5.1. Temporal	5
1.5.2. Espacial.....	5
1.5.3. Recursos.....	5
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Antecedentes	6
2.2. Bases Teóricas.....	11
2.3. Formulación de hipótesis	19
2.3.1. Hipótesis general.....	19
2.3.2. Hipótesis específicas	20
3. METODOLOGÍA	20
3.1. Método de la investigación	21
3.2. Enfoque de la investigación	21
3.3. Tipo de investigación	21
3.4. Diseño de la investigación.....	21
3.5. Población, muestra y muestreo.....	21
3.6. Variables y operacionalización	23
3.6.1. Operacionalización de variables	23
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	24
3.7.1. Técnica:.....	24
3.7.2. Descripción de instrumentos.....	29
3.7.3. Validación	29
3.7.4. Confiabilidad.....	29

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos.....	29
3.9. Aspectos éticos.....	30
4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	31
4.1. Resultados	31
4.2. Discusión de resultados	40
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
5.1. Conclusiones	45
5.2. Recomendaciones.....	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

ANEXOS

ANEXO 1: SOLICITUD DE CARTA DE PRESENTACIÓN

ANEXO 2: DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA

ANEXO 3: RESULTADOS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

ANEXO 4: ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE RESULTADOS

ANEXO 5: FOTOGRAFÍAS

ANEXO 6: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ANEXO 7: INFORME DE ENSAYO DEL LABORATORIO SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.

ANEXO 8: INFORME DEL ASESOR DE TURNO

ANEXO 9: INFORME TURNITIN

ANEXO 10: MATRIZ DE CONSISTENCIA

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla N° 1	Estimación del tamaño muestral. 22
Tabla N° 2	Actividad antibacteriana del extracto de propóleo, hidróxido de calcio e hidróxido de calcio más extracto de propóleo sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas). 31
Tabla N° 3	Actividad antibacteriana del extracto de propóleo 30% sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas). 33
Tabla N° 4	Actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas). 34
Tabla N° 5	Actividad antibacteriana del hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas). 35
Tabla N° 6	Comparación de la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 (Diferencias de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas). 36
Tabla N° 7	Comparación por pares para muestras independientes de la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de 37

calcio y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Diferencias de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

Tabla N° 8	Distribución de los grupos de estudio experimental y control de las sustancias de prueba in vitro a las 24 y 48 horas.	56
Tabla N° 9	Resultados de los halos de inhibición frente <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI de Extracto etanólico de propóleo al 30%, Hidróxido de calcio 70% e Hidróxido de calcio 70% más Extracto etanólico de propóleo al 30%.	57
Tabla N°10	Análisis de Normalidad de las diferencias de los halos de inhibición frente <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI de extracto de propóleo, Hidróxido de calcio, Hidróxido de calcio más extracto de propóleo.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1	32
Actividad antibacteriana del extracto de propóleo, hidróxido de calcio e hidróxido de calcio más extracto de propóleo sobre cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 (Medias de halos de inhibición frente <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI).	
Figura 2	56
Distribución de los grupos de estudio experimental y control de las sustancias de prueba in vitro a las 24 y 48 horas.	

RESUMEN

El propósito de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo al 30 % y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433. La muestra estuvo conformada por cultivos de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, 4 grupos de 25 cultivos, tres de pastas experimentales (Hidróxido de calcio “PrevestDenPro” 70%, Extracto de Propóleo 30% e Hidróxido de calcio 70% más propóleo 30%), y un control negativo (agua destilada), midiéndose los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. Como resultado se encontró que hubo actividad antibacteriana en las tres pastas experimentales (halos de inhibición > 0): hidróxido de calcio 70% (M: 7,164 y M: 7,664), hidróxido de calcio 70% más propóleo 30% (M: 7,804 y M: 8,184) y en el extracto de propóleo 30% (M: 12,848 y M: 13,428), a las 24 y 48 horas, respectivamente. Se encontró diferencias significativas entre los halos de inhibición a las 24 y 48 horas, para cada sustancia (p valor < 0.05); al compararlas en pares, hubo diferencias significativas entre el extracto de propóleo y el hidróxido de calcio (sig: 0.00), y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo y el extracto de propóleo (sig: 0.00), sin diferencia significativa entre el hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo (sig: 0.080 y 0.484, a las 24 y 48 horas). En conclusión, existe efectividad antibacteriana del extracto de propóleo 30 % y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, a las 24 y 48 horas, siendo el extracto de propóleo 30%, quien mostró mayor actividad antibacteriana.

Palabras clave: Extracto etanólico de Propóleo, Hidróxido de calcio, *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of propolis extract at 30% and its combination with calcium hydroxide on strains of *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433. The sample consisted of cultures of *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, 4 groups of 25 cultures, three groups of experimental pastes (Calcium Hydroxide "PrevestDenPro" 70%, Propolis Extract 30% and Calcium Hydroxide 70% plus propolis 30%), and 1 negative control (distilled water), measuring the inhibition halos at 24 and 48 hours. As a result, it was found that there was antibacterial activity in the three experimental pastes (inhibition halos > 0): calcium hydroxide 70% (M: 7.164 and M: 7.664), calcium hydroxide 70% plus propolis 30% (M: 7.804 and M: 8.184) and in the propolis extract 30% (M: 12.848 and M: 13.428), at 24 and 48 hours, respectively. Significant differences were found between the inhibition halos at 24 and 48 hours, for each substance (p value 0.05); when compared in pairs, there were significant differences between propolis extract and calcium hydroxide (sig: 0.00), and calcium hydroxide plus propolis extract and propolis extract (sig: 0.00), with no significant difference between calcium hydroxide and calcium hydroxide plus propolis extract (sig: 0.080 and 0.484, at 24 and 48 hours). In conclusion, there is antibacterial effectiveness of propolis extract 30% and its combination with calcium hydroxide on strains of *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, at 24 and 48 hours, being propolis extract 30%, which showed greater antibacterial activity.

Keywords: Ethanolic extract of Propolis, Calcium hydroxide, *Enterococcus faecalis*.

1. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La anatomía de la pulpa dentaria le confiere una capacidad defensiva limitada ante agresiones que provienen de infecciones de canalículos secundarios, del ligamento periodontal o desde un ápice con proceso periodontal, caracterizadas por una microflora bacteriana diversa, que hace imprescindible el uso de medicación intraconducto para el éxito de la terapia endodóncica¹⁻³.

La medicación intraconducto fue utilizada de forma empírica; es en 1950 que Hermann BW, publicó un estudio evaluando “la acción del arsénico en el tratamiento de conductos”; posteriormente en noviembre de ese mismo año, con el fin de encontrar un sustituto de esta droga, se empieza a usar “el calxyl” cuyo objetivo fue usar un producto no corrosivo a base de “hidróxido de calcio” pero agregando otros componentes para aumentar su compatibilidad con el tejido pulpar; así mismo abrió las puertas a más investigaciones, como la reacción del tejido pulpar a esta nueva sustancia posterior a su extirpación, apreciando una ligera necrosis pero con una escara firme y protectora, impidiendo la penetración del cáustico limitando así el avance de la lesión, y debajo de esa zona necrótica la formación de una nueva capa de dentina. Hoy en día, este medicamento (hidróxido de calcio) es utilizado ampliamente en diversos casos, como protector pulpar y medicación intraconducto entre sesiones^{4,5}.

El objetivo principal de la endodoncia es la eliminación de microorganismos en todo el sistema del conducto radicular; la instrumentación mecánica y limpieza química es, a veces, insuficiente para el desbridamiento total por la alta complejidad anatómica del sistema de canales, siendo la medicación intraconducto, el pilar que complementa el tratamiento. Sin embargo, el *Enterococcus Faecalis*, anaerobio gram positivo facultativo, cuya prevalencia oscila entre el 24 y el 77%, es la bacteria más prevalente en infecciones persistentes y

secundarias, y exige el empleo de un medicamento intracanal que pueda eliminarlo totalmente. En este contexto, “el hidróxido de calcio” ha sido la elección más comúnmente utilizada, a pesar que ya diversos estudios han demostrado su ineficacia contra el *E. faecalis*, debido a que no puede mantener su alto ph^{6,7}.

Los medicamentos químicos están asociados con diversas desventajas, como la resistencia (en caso de antibióticos) y la reacción citotóxica. Debido a los efectos secundarios de los medicamentos convencionales, se ha vuelto popular el empleo de los productos naturales, principalmente debido a su baja toxicidad, baja resistencia microbiana, bajos costos y fácil disponibilidad. El propóleo, rico en flavonoides y formado por varios aceites y ceras, puede ser soluble en alcohol y tiene propiedades antisépticas, bactericidas, bacteriostáticas, antiinflamatorias, antifúngicas y cicatrizantes, no es tóxico y posee un elevado índice anestésico, engrandeciendo la actividad de los antibióticos⁸⁻¹⁰.

Es así que, con el fin de buscar un nuevo medicamento de uso endodóntico que tenga mayor eficacia que los medicamentos ya usados en la clínica, que no represente un riesgo para el paciente y que sea de fácil accesibilidad, y conociendo las propiedades de las sustancias ya empleadas, se realizó este estudio basado en el análisis de la unión de las propiedades y características que tiene el propóleo más el hidróxido de calcio.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema Principal

¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433?

1.2.2. Problemas Específicos

1. ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas?
2. ¿Cuál es la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas?
3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con el hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas?
4. ¿Cuál es la diferencia de la actividad antibacteriana entre el extracto de propóleo, el hidróxido de calcio, y el extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.

2. Determinar la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.
3. Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.
4. Comparar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.

1.4. Justificación de la Investigación

Numerosos estudios han demostrado que la especie bacteriana más frecuente en los casos de diagnóstico de necrosis pulpar es el *Enterococcus Faecalis*, siendo la medicación intraconducto quien ocupe un papel esencial como bactericida, impidiendo la formación de nuevos cultivos, y ayudando en los procesos inflamatorios.

En lo práctico, esta investigación nació de la necesidad de añadir nuevos medicamentos endodóncicos más eficaces; ya que “el hidróxido de calcio” a pesar de ser la primera opción no deja de presentar ciertas deficiencias en su acción; en esa búsqueda se ha encontrado que el propóleo presenta propiedades dentro del campo odontológico, entre las que destacan las antibacterianas, antifúngicas y antivirales. En este estudio se utilizó el medicamento intraconducto más usado, hidróxido de calcio, en asociación y comparación con el propóleo, en búsqueda de lograr una combinación medicamentosa ideal, de fácil acceso, bajo costo y con menos efectos adversos para los pacientes y sobre todo que tenga una buena efectividad antibacteriana con el objetivo de mejorar los tratamientos endodóncicos a largo plazo.

Esta investigación también se justifica en lo teórico ya que se obtuvo información actualizada, aportando así con el conocimiento sobre el uso del propóleo e hidróxido de

calcio frente al “*Enterococcus Faecalis*”, buscando acciones sinérgicas, con el fin de mejorar su acción.

En lo metodológico esta investigación siguió el método científico permitiendo obtener información verídica y actual sobre las características de la asociación del propóleo con el hidróxido de calcio, además de la comparación de sus propiedades individuales; esta información que se obtuvo podrá ser reproducida y aplicada a otros estudios.

1.5. Limitaciones de la investigación

1.5.1. Temporal

El desarrollo de nuestra investigación se llevó a cabo desde el mes de agosto del año 2021 hasta febrero del presente año en curso. Al ser una investigación experimental, la evaluación fue medida en el tiempo programado en el laboratorio, en 24 y 48 horas, que puede diferir a la acción en vivo.

1.5.2. Espacial

La evaluación fue in vitro en un laboratorio privado de Lima Metropolitana, en un área conocida y accesible para el investigador del estudio. Este estudio experimental fue in vitro por lo tanto no se podrá reproducir en su totalidad las condiciones en vivo.

1.5.3. Recursos

En el estudio se contó con los recursos humanos y de tiempo para la elaboración del mismo, con los materiales y recursos financieros necesarios, acceso libre a la información necesaria para la base teórica del presente estudio, sin embargo, no existe mucha información directa acerca de la asociación que se ha propuesto en este trabajo. En lo que respecta al recurso humano se contó con la asistencia de un técnico de laboratorio para la ejecución del trabajo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Abhishek P, et al., (2021). Su investigación tuvo el objetivo de “determinar el efecto antibacteriano de nanopartículas de propóleo sobre biopelículas de *Enterococcus faecalis*, dentro del sistema de conductos radiculares”. La investigación experimental, in vitro, se realizó seccionando 6 mm del tercio medio de 210 dientes humanos extraídos, posteriormente se amplió el canal de las raíces a un diámetro de 0.9 mm para ser inoculados con *Enterococcus faecalis* por 21 días, dividiéndose al azar en 7 grupos con 30 especímenes cada uno: grupo I-solución salina, grupo II-propóleo 100 µg/ml, grupo III-propóleo 300 µg/ml, grupo IV-nanopartícula de propóleo 100 µg/ml, grupo V-nanopartículas de propóleo 300 µg/ml, grupo VI-hipoclorito de sodio al 6%, grupo VII-clorhexidina al 2%. La evaluación se hizo recogiendo virutas de dentina a 200 y 400 µm de profundidad para determinar el número de UFC (unidades formadoras de colonias) después de uno, cinco y diez minutos por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM). Se utilizaron pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney para evaluar las diferencias en los resultados entre los grupos. En los resultados se encontró que el grupo V-nanopartículas de propóleo 300 µg/ml fue significativamente más eficaz en la reducción de UFC que los demás grupos de estudio ($p < 0,05$), llegando a una media de resultados de 19.85 UFC/ml y 20.65 UFC/ml a 200 µg y 400 µg de profundidad respectivamente, excepto para el grupo VI-hipoclorito de sodio al 6% y grupo VII-clorhexidina al 2% ($p > 0,05$) en todos los intervalos de tiempo. Llegaron a la conclusión que las nanopartículas de propóleo (PN 300) fueron eficaces en la reducción de biopelículas de *Enterococcus faecalis*¹¹.

Parolia A, et al., (2020). El objetivo de su investigación fue “conocer la actividad antibacteriana de la nanopartícula de quitosano más propóleo como medicamento

intraconducto sobre el *Enterococcus faecalis*". Hicieron una investigación experimental, in vitro, la muestra fue conformada por 240 dientes humanos extraídos, de lo cual se obtuvo 6 mm del tercio medio de la raíz a 200 y 400 μm de profundidad, estas muestras fueron inoculadas con *E. Faecalis* posteriormente se dividieron en 8 grupos, G1: solución salina, G2: quitosano, G3: propóleo 100 μg / ml (P100), G4: propóleo 250 μg / ml (P250), G5: nanopartícula de quitosano-propóleo 100 μg / ml (CPN100), G6: nanopartícula de quitosano-propóleo 250 μg / ml (CPN250), G7: hidróxido de calcio (CH) y G8: clorhexidina gel al 2% (CHX); finalmente los especímenes fueron evaluados por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM). Las mediciones se hicieron al día 1, 3 y 7; además se utilizaron las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney. En los resultados, todas las pastas experimentales mostraron efectos antibacterianos a 200 y 400 μm de profundidad; en cuanto a los grupos G3: propóleo 100 μg / ml (P100) y G4: propóleo 250 μg / ml (P250), presentaron su máxima capacidad antibacteriana sólo el día uno logrando un mínimo de 34 % de cobertura de *E. Faecalis*, mientras que el G6 (CPN250) fue significativamente superior ($p < .05$) mostrando una cobertura mínima de *Enterococcus faecalis* de 5 a 33 % en el día uno y tres; posteriormente en el día 7 se presentó una efectividad similar entre G6 (CPN250), G5 (CPN100), G7 (HC) y G8 (CHX 2%) que mostraron menos del 5% de cobertura de *Enterococcus faecalis*. En conclusión, la asociación de nanopartícula de quitosano y propóleo en diferentes concentraciones mostró actividad antibacteriana ante el *E. Faecalis*, específicamente CPN250 fue el más efectivo en el día uno y tres en ambas profundidades, mientras que en el día 7 CPN 250 fue igual de efectivo que CPN 100 Y CHX AL 2 %¹².

Raof M, et al., (2019). Su objetivo "fue analizar la actividad antimicrobiana sobre el *Enterococcus faecalis* de los extractos metanólicos de *Myrtus communis* L. y *Eucalyptus galbie*, solos y en combinación con hidróxido de calcio". Fue un estudio experimental, de

tipo in vitro, con fines de comparación y control también se evaluó el yodoformo con hidróxido de calcio y también con agua destilada. La muestra fue conformada por 10 tubos que contenían los extractos para cada grupo, y 2 tubos para el Cefoxitin (control positivo), y el Dimetilsulfóxido (control negativo). Para obtener los extractos metanólicos se utilizó el método de maceración, y la zona de inhibición se determinó por prueba agar y prueba de difusión; también se usó la prueba de dilución en tubo y la microtitulación seguido por métodos colorimétricos con violeta cristal. Se midió las zonas de inhibición 48 horas después, obteniendo como resultado que los dos extractos de hierbas mostraron un efecto antimicrobiano, la zona de inhibición del extracto de eucalipto (Media = 9,63 mm) fue mayor que la de Myrtus (Media = 7.6 mm), sin embargo, los resultados de la prueba ANOVA mostró que no hubo diferencia significativa entre los efectos antibacterianos de los extractos metanólicos de Eucalyptus y Myrtus, con el control positivo (Cefoxitina M= 13.7 mm) (valor de $p = 0,987$). Por otro lado, no mostraron crecimiento de zonas de inhibición los 2 extractos de las 2 plantas en combinación con el hidróxido de calcio, ni las combinaciones de este último con agua destilada y yodoformo. Concluyendo que, si bien frente al *Enterococcus faecalis* ambos extractos metanólicos de Eucalyptus galbica y Myrtus communis mostraron un ligero a moderada actividad antimicrobiana, no hubo ninguna actividad de éstos en combinación con hidróxido de calcio dentro de las 48 horas¹³.

Torres M. (2019). Su investigación buscó “comparar la capacidad antibacteriana del paramonoclorofenol alcanforado (PMCFA) con el extracto etanólico de propóleo (EEP), en 2 concentraciones de 20 % y 30%, sobre el *E. Faecalis* y *F. Nucleatum*”. El estudio fue experimental in vitro; además se determinó la muestra en base de una prueba piloto, obteniéndose 15 placas Petri, empleó el método de “Kirby-Bauer” y se midió los resultados a las 24 y 48 horas para el *Enterococcus Faecalis*, y como instrumento de medición de la

inhibición bacteriana se usó un calibrador vernier; se utilizó además clorhexidina al 2% como control positivo y agua destilada como control negativo. En los resultados obtenidos 24 horas después, se encontró que el EEP al 30% tuvo una media de 14,23 mm, siendo superior que la concentración al 20% (M:10,32 mm) y que el PMCFA que mostró una media de 9,10 mm, siendo el valor más bajo en comparación con los otros grupos ($p = 0,000$) en esta primera lectura. La segunda lectura a las 48 horas, definió al EEP al 30% como la sustancia experimental más efectiva aumentando su efecto antibacteriano (M: 14,96 mm), mientras el EEP al 20% también evidencia un aumento (M: 11,00 mm), sin embargo, no fue una diferencia estadísticamente significativa, por otro lado, el PMCFA mostró una disminución de su actividad antibacteriana con una media de 8.94 mm. Además, se concluyó luego de comparar los diferentes grupos entre sí que hay diferencias estadísticamente significativas entre estos, con un $p < 0,005$, por medio de la prueba HSD de Tukey. Concluyendo que la sustancia experimental que consiguió mayores resultados, fue la concentración del extracto de propóleo al 30%, en segundo lugar, la concentración al 20% de propóleo y por último el paramonoclorofenol alcanforado¹⁴.

Pereira C, et al., (2018). Tuvieron el objetivo de comparar las capacidades y propiedades del hidróxido de calcio (HC) más diferentes vehículos y asociaciones, evaluando los valores de pH y liberación de iones de calcio a los 7, 15 y 30 días; además del volumen de pasta perdido en 15 días. Realizaron un estudio experimental, in vitro, se utilizó para el estudio dentina bovina estándar, contaminada con *Enterococcus Faecalis* y la muestra fue conformada por 50 dientes acrílicos; para evaluar la viabilidad bacteriana se usó microscopía confocal de barrido láser y cultivo microbiológico; para evaluar el pH además de la liberación de iones de calcio, se usó el pHmetro y espectrofotómetro de absorción atómica; para valorar la solubilidad se emplearon imágenes micro-tomográficas computarizadas antes

y después. Las pastas experimentales de HC fueron: G1 (HC más agua destilada), G2 (HC más Propilenglicol), G3 (HC más Propilenglicol y extracto etanólico de propóleo al 10%), G4 (HC más Propilenglicol y Clorhexidina) y G5 (HC más Propilenglicol y Paramanoclorofenol alcanforado). En los resultados todas las muestras disminuyeron la contaminación bacteriana, luego de 15 días, con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en comparación con el control negativo, sin embargo, en el G5 (HC más Propilenglicol y Paramanoclorofenol alcanforado) se encontró menor porcentaje de bacterias vivas por μm^3 (5 %) en comparación a los otros grupos como el G1: HC más agua destilada (30% por μm^3), y el G3: HC más Propilenglicol y extracto etanólico de propóleo al 10% (20% por μm^3). Concluyeron que las adiciones al hidróxido de calcio, con excepción del agua destilada, pueden aumentar la efectividad antibacteriana contra el *Enterococcus Faecalis*, pero con una pequeña diferencia estadística¹⁵.

Del Carpio P, et al., (2017). El estudio tuvo como fin “evaluar la capacidad antibacteriana del hidróxido de calcio asociado al extracto etanólico de propóleo y nanopartículas de Quitosano frente al *Enterococcus Faecalis*”. Hicieron una investigación experimental, tipo in vitro, donde para obtener dentina de raíz se instrumentaron premolares humanos extraídos con el sistema Pro Taper Gold y se seccionaron las raíces horizontalmente en discos de 4 mm, obteniéndose una muestra conformada por 40 discos, además de utilizar agua destilada como control negativo; se realizó un análisis microbiológico para establecer la reducción de las colonias de *Enterococcus Faecalis*. Las pastas experimentales fueron: G1-Ca(OH)₂ (Hidróxido de calcio), G2-Ca(OH)₂/CNP (Hidróxido de calcio más nanopartículas de quitosano), G3- Ca(OH)₂/EPE (Hidróxido de calcio más extracto etanólico de propóleo). En los resultados se demostró la capacidad antibacteriana de todas las pastas experimentales (En comparación con el grupo de control negativo) a los 7 y 14 días, disminuyendo la cantidad

de células de *Enterococcus Faecalis* viables, sin embargo, hay un mejor resultado del G1(hidróxido de calcio más nanopartículas de Quitosano) con presencia bacteriana más baja, ($P < .05$) tanto a los 7 (M: 0.49 log en CFU/mL) como a los 14 días (M: 0,09 log en CFU/mL); por otro lado se observa mayor número de bacterias viables en el G1 (Hidróxido de calcio) tanto a los 7 (M: 2.04 log en CFU/mL) como a los 14 días (M: 2.51 log en CFU/mL); por último el G3 (Hidróxido de calcio más extracto etanólico de propóleo) fue solo efectiva a los 7 días de iniciado el tratamiento ($p < 0,05$) (M:1,36 log en CFU/mL), mientras que a los 14 días aumentó la presencia de células bacterianas (M:2.7 log en CFU/mL). Concluyendo que la incorporación tanto del propóleo como de nanopartículas de Quitosano al hidróxido de calcio tienen un gran potencial para aumentar su actividad antibacteriana sin embargo la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2/\text{EPE}$ no fue capaz de mantener su eficacia a los 14 días en comparación con la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2/\text{CNP}$ que si puedo aumentar su eficacia a través del tiempo¹⁶.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Definición de variables

- **Propóleo:** sustancia resinosa y pegajosa, cuyo color puede ser verde pardo, castaño o negro. Producida por la abeja *Apis mellifera*, por medio de exudados vegetales combinados con sustancias salivales provenientes de las abejas además de bálsamos que se encuentran en el polen. Su fin natural en la colmena es la de sellarla herméticamente además de evitar que se produzcan infecciones en esta¹⁷.
- **Hidróxido de calcio:** es una sustancia color blanco y alcalino, con poca solubilidad en agua; para obtener la disociación iónica se combina con un vehículo hidrofílico como agua estéril y suero fisiológico¹⁸.
- **Actividad antibacteriana:** se dice de la propiedad de impedir el crecimiento de bacterias o su eliminación, sin causar daños, del hospedador infectado¹⁹.

- **Enterococcus Faecalis:** Se trata de una “Bacteria coco Gram positivo anaerobio facultativo”, puede encontrarse solo o en cadenas, teniendo un tamaño que oscila entre 0,5 y 0,8 um; crece a una temperatura de 35°C. Es tolerante frente al cloruro de sodio al 6.5% y también a sales biliares, y se muestra en el biofilm endodóntico con un gran índice de congregación ²⁰.

2.2.2. Infecciones intrarradiculares persistentes/ secundarias.

Se ha comprobado que la generalidad de los dientes endodonciados que mantienen una agresión permanente de una patología periapical desarrollan una infección intrarradicular. Los microorganismos encontrados dentro de piezas endodonciados que han fracasado, se precisan “persistentes”, en virtud de que pueden sobrevivir dentro de los tratamientos de lavado intrarradicular, a la obturación o ser efecto de una filtración coronal post tratamiento, predisponiendo al fracaso del tratamiento. Con la finalidad de que estos microorganismos recidivantes causen una periodontitis apical de tipo crónica, deben aclimatarse a las variaciones del medio provocadas por la terapéutica, y en ese estado conseguir nutrientes y sobrevivir a los efectos antimicrobianos de los materiales obturadores, alcanzando un valor crítico para manifestar suficiente agresividad que mantenga una irritación perirradicular, a fin de perjudicar libremente a los tejidos peri radiculares y así ejercer su patogenicidad²¹⁻²³.

2.2.2.1. Microbiota de los dientes endodonciados

La microbiota encontradas en las piezas dentarias endodonciadas que presentan periodontitis apical de forma persistente existen por la integración de microorganismos limitados. El *Enterococcus faecalis* (coco gram positivo anaerobio facultativo) se halla alrededor de 30% a 90% dentro de dientes endodonciados, con una posibilidad nueve veces por arriba que los dientes que aún no han recibido ningún tratamiento “infecciones primarias”. Los hongos

como la *Candida* se sitúan dentro de infecciones primarias de forma ocasional, sin embargo, cuando hablamos de infecciones persistentes están en 3%-18%. Entonces, tanto como el *E. faecalis* al igual que *C. albicans* poseen distintas características que permite su supervivencia al interior del sistema de conductos endodonciados, y que podría mostrar resistencia a los fármacos intrarradiculares, además de formar biopelículas y soportar periodos de privación nutricional prolongado^{24, 25}.

2.2.2.1.1. *Enterococcus faecalis*

Se trata de una bacteria “gram positiva, anaerobia facultativa”, que tiene un metabolismo fermentativo y toman un lugar en la flora habitual del tracto gastrointestinal, además de la cavidad oral, el cual posee una dimensión que fluctúa en medio de 0,5 a 0,8 micrómetros. Esta bacteria tiene gran relevancia en las infecciones endodóncicas persistentes, potenciada por la característica de ser resistente a los antibióticos más usados en el tratamiento endodóncico, debido a sus factores de virulencia, como la producción extracelular de superóxido, la sustancia de agregación, las proteínas de superficie enterocócica, la gelatinasa y los polisacáridos capsulares. Son muy resistentes y bajo condiciones adversas pueden estar en ambientes extremos, incluyendo un pH alcalino de 9,6 y altas concentraciones de sal²⁶.

En las infecciones endodóncicas primarias, que se entienden como dientes necróticos sin tratamiento previo, existe el predominio principal de bacterias estrictamente anaerobias y pocas bacterias anaerobias facultativas. Dentro de este tipo de infecciones, el *E. faecalis* ha sido ocasionalmente encontrado; caso contrario ocurre en las infecciones persistentes o secundarias donde ha sido aislado comúnmente e identificado tradicionalmente con métodos de cultivo²⁷.

Medios de cultivo convencionales para *Enterococcus*

Dentro de los diversos medios de cultivo que se han desarrollado para el aislamiento de *Enterococcus*, se han utilizado diversos agentes selectivos, como el cloruro de sodio, el tiocianato de potasio, el cristal de violeta, además de algunos antibióticos como la gentamicina, la kanamicina, etc. Estos agentes ya mencionados participan en el metabolismo de los *Enterococcus* y se encargan de inhibir el crecimiento de hongos y bacterias Gram negativas, pero existe el inconveniente que no logran su inhibición total, logrando crecer otros microorganismos, a lo que se suma la alta toxicidad de la mayoría de estos agentes, que exige una manipulación cuidadosa, y ser perceptibles a la luz y temperatura, que le restaría estabilidad^{28, 29}.

Para analizar los métodos de cultivo existen otros factores importantes tales como los términos de crecimiento, el pH del medio, la temperatura para su incubación y la concentración de los inhibidores utilizados. El valor bajo de Ph, adicionado a una alta temperatura de incubación son condiciones idóneas para el crecimiento de ciertos cultivos, sin embargo, también es importante el aumento o disminución de la concentración de los inhibidores que también determinan la selectividad del medio. También es importante la adición de sustancias indicadoras que identifican especies de microorganismos, en el caso del *Enterococcus* se utiliza la capacidad de este de reducir el tetrazolio a fomazán, dentro de un medio de pH de 7,0, ocasionando la aparición de colonias rojas brillosas; pero si cambiamos el pH a 6.2 o próximo a 6,0, esta respuesta sólo será clara cuando se trata de *Enterococcus faecalis*, mientras tanto las otras especies presentarán una respuesta baja, mostrándose como colonias claras con un centro rojo o levemente rosadas^{29, 30}.

Existen una gran variedad de medios para el crecimiento de *Enterococcus*, que se favorecen por la existencia de peptonas, hidrolizados y extractos; para seleccionar el tipo de medio se debe tener en cuenta principalmente el patrón de muestra y procedimiento de cultivo considerando el rango de infección con otros microorganismos ya posiblemente existentes. Dentro de la existencia de “los medios no selectivos” para el *Enterococcus*, podemos claramente considerar el agar y el caldo cerebro corazón, indicados en el cultivo y sostenimiento de *Enterococcus* y otros como “el caldo Tood- Hewitt, caldo cerebro corazón con 6,5 % de cloruro de sodio, el agar MRS, el agar triptona glucosa extracto, caldo Elliker, el agar y caldo triptona soya, el agar M17 y el agar Rogosa”^{30,31}.

Uso de sustratos Fluorogénicos y Cromogénicos

Los métodos convencionales siguen siendo los más empleados, sin embargo, en búsqueda de una mayor eficacia, también han acontecido técnicas desarrolladas para el hallazgo y diferenciación basados en el empleo de sustratos fluorogénicos como cromogénicos, así se podrían revelar actividades enzimáticas específicas de los microorganismos, obteniendo resultados más exactos y rápidos, ya que no sería necesario el aislamiento previo del microorganismo, pero existen reglas internacionales establecidas que recomiendan los métodos convencionales como oficiales, aunque no se prohíbe métodos alternativos³².

Uno de los sustratos fluorogénicos, el 4-metillumbeliferil- β -D-glucósido, es utilizado para la identificación de *Enterococcus* siendo hidrolizado gracias a la enzima de éste (β -D-glucosidasa), desprendiéndose desde esta reacción “la 4-metillumbeliferona”, que al someterse a la luz ultravioleta, se ilumina mostrando un color azul- verdoso. Otro medio importante es el fluorogénico agar carbonato de talio gentamicina (FGTC), que incluye un sustrato fluorogénico de 4-metilumberiferil- α -D-galactósido y almidón, permitiendo

mediante una hidrólisis del almidón y la existencia de fluorescencia, reconocer y diferenciar especies como el *Streptococcus bovis* y *E. faecium*, de otros *enterococos* o *estreptococos*; en el caso del *Enterococcus*, si no hay existencia de la hidrólisis del almidón, pero sí emisión de fluorescencia, se identificaría al *Enterococcus faecium* y biotipos relacionados, mientras que el negativo de ambas reacciones identifica al *Enterococcus faecalis*, *E. avium*, *S. equinus*, entre otros estreptococos^{32,33}.

2.2.3. Medicación Intraconducto.

Los procedimientos mecánicos, no bastan para obtener los resultados deseados en la terapia endodóntica, siendo así la medicación intraconducto el complemento que permitirá el alcance de los objetivos deseados para este fin debemos considerar: la patología diagnosticada, el efecto bactericida e antiinflamatorio de la sustancia, además de no ser tóxica al paciente logrando de este modo alcanzar el reparo tisular³⁴.

En caso de infecciones, el objetivo de la medicación intraconducto es la eliminación de las bacterias resistentes a la instrumentación; debiendo ser de amplia acción dentro de un periodo largo, además de poseer la capacidad de disminuir la inflamación en los tejidos periapicales empezando de esta forma el proceso de reparación, neutralizar los restos orgánicos aún existentes y no menos importante contribuir a secar el sistema de conductos que se encuentran húmedos por causa del exudado³⁵.

2.2.3.1. Hidróxido de calcio.

Se trata del medicamento, probablemente, más empleado en medio de citas o en largos estadios; está recomendado en el control y terapéutica de reabsorciones radiculares, procesos de fracturas transversales, perforaciones, así como apicogénesis e inducción de cierre apical,

dentro de piezas dentales vitales o sin vitalidad, y en este caso en particular, en piezas con o sin lesión apical, estando recomendado en dientes con tejido pulpar necrótico y contaminación bacteriana. La actividad antimicrobiana de este medicamento es debido a su pH alcalino, ayudando así a la disolución de restos de tejido necrótico, bacterias y otros sub productos; su mecanismo de acción radica en el producto de la disociación de sus componentes, liberándose así iones de calcio e hidroxilo. Los iones de hidroxilo invierten el pH del medio inflamado, ya que provocan una alcalinidad en el área de acción que es ácida, adicionalmente crea un ambiente hostil para el crecimiento y supervivencia bacteriana³⁶.

En la práctica clínica, el Ca (OH) debe ser usado junto con un vehículo que le permita cumplir o mejorar su propósito y asegurar su permanencia en el medio, ya que para que cumpla su objetivo debe indicarse por 7 días. Este vehículo asociado al Ca(OH), adiciona al medicamento en conjunto, características de mayor o menor velocidad de disociación de iones; puede ser inerte, como el polietilenglicol, un anestésico o el aceite de oliva, que ayuden a cumplir su función, o asociarlo a otro medicamento con actividad antibacteriana, mejorando así esta función, en este caso el más usado para dicha asociación es el PMCF (Paramonoclorofenol)³⁷.

2.2.3.2. Propóleo

Se trata de un compuesto natural resinoso que es recolectado por las abejas de diversas plantas para ser combinadas con cera de abeja, además de enzimas salivales (β -glucosidasa). Este compuesto cumple tareas protectoras y restauradoras, además de ser un aislante térmico y prevenir infecciones microbianas causadas por larvas, mediante la elaboración de antisépticos locales³⁸.

Durante la historia, este compuesto ha sido usado por sus grandes propiedades medicinales, además de la preservación de alimentos, sin embargo, en la actualidad con el objetivo de buscar nuevos compuestos beneficiosos en el campo de la odontología, se han incrementado los estudios para conocer sus alcances³⁹.

2.2.3.2.1. Composición:

Dentro de su composición química, tenemos:

- Resina de cera (50%).
- Aceites esenciales (10%).
- Polen (5%).

Sustratos varios (5%), que incluyen minerales y compuestos orgánicos como:

- Los ácidos fenólicos (cinámico, cafeico, este último a largo plazo puede producir pigmentaciones en los dientes) o ésteres.
- Flavonoides (flavonas, flavanonas, flavonoles, dihidroflavonoles y chalconas).
- Terpenos, aldehídos aromáticos, alcoholes, ácidos grasos, estilbenos y β -esteroides^{40, 41}.

2.2.3.2.2. Propiedades del propóleo

Dentro de la composición del propóleo, encontramos fenoles totales, flavonas y flavonoles; la presencia de estos componentes trae beneficios atribuidos a su función antioxidante por la actividad de ciertas enzimas, como la xantina oxidasa, que inhibe la producción de especies por barrido, causando la interrupción de las acciones que llevan a la peroxidación de los lípidos⁴².

El propóleo también posee una actividad antimicrobiana, sin embargo, dicha función es compleja y se le atribuye al sinergismo de sus compuestos, entre los más resaltantes están:

flavonoides, ésteres, ácidos grasos, así como aromáticos, sesquiterpenos, hidroxiácidos y tantos otros elementos fenólicos⁴³. El propóleo también posee un potencial antiinflamatorio, que se da como consecuencia de estimular la inmunidad celular, actuando en los mediadores de este proceso, promoviendo la actividad fagocítica, así como la inhibición de síntesis de prostaglandinas y leucotrienos⁴⁴.

2.2.3.2.3. Procedencia del propóleo

Diversos estudios concluyen que el propóleo es una sustancia que adopta diversas características particulares relacionadas directamente con la zona de su origen, teniendo importancia la vegetación además de las condiciones ambientales, estos factores determinarán la alta biocompatibilidad y su capacidad antibacteriana⁴⁵.

El Perú tiene una gran biodiversidad, de recursos naturales, flora y fauna; todo esto gracias a la variedad de microclimas que existen, dándonos un recurso natural, como el propóleo. De todas las regiones del Perú, se ha probado que los que tienen su origen en la localidad de Oxapampa del sector de Pasco poseen patrones de índole internacionales, además de atributos superiores en paridad del resto del país. Es claro el potencial del propóleo peruano, sin embargo, hace falta mayor investigación científica acerca de su capacidad y asociación a otros materiales usados en el campo endodóntico⁴⁶.

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

Hi: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

2.3.2. Hipótesis específicas

Hi1: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho1: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Hi2: Existe actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho2: No existe actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Hi3: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho3: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

3. METODOLOGÍA

3.1. Método de la investigación

Hipotético Deductivo.

3.2. Enfoque de la investigación

Cuantitativo.

3.3. Tipo de investigación

Aplicada.

3.4. Diseño de la investigación

Experimental in vitro y longitudinal porque se manipuló deliberadamente las variables. Es decir, se manipuló la variable independiente para ver su efecto y relación con la variable dependiente; además, tuvo como objetivo comparar los grupos de estudio en dos periodos de tiempo. Las muestras y grupos no fueron asignadas aleatoriamente sino fueron elegidos y agrupados de forma conveniente al experimentador. Este estudio se ejecutó en medios de cultivos favorecedores en el crecimiento de la bacteria elegida para nuestro estudio (*Enterococcus faecalis*), además fue manejado dentro de un laboratorio⁴⁷.

3.5. Población, muestra y muestreo

La muestra estuvo conformada por cultivos bacterianos de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, divididos en 4 grupos, donde 3 grupos corresponden a las 3 pastas experimentales y 1 grupo adicional que actúa como control negativo. Para obtener el tamaño muestral se utilizó la siguiente fórmula para determinar una media.

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * S^2}{d^2}$$

Donde:

- n = Sujetos necesarios en cada una de las muestras.
- Z_{α} = Valor Z correspondiente al riesgo deseado.
- S^2 = Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control o de referencia.
- d = Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar (datos cuantitativos).

Tabla 1. Estimación del tamaño muestral

ESTIMAR UNA MEDIA	
Total de la población (N)	
(Si la población es infinita, dejar la casilla en blanco)	
Nivel de confianza o seguridad (1- α)	95%
(El nivel de confianza puede ser al 95% o 99%)	
Precisión (d)	3
Varianza (S ²)	50
(De la variable cuantitativa que se supone que existe en la población)	
TAMAÑO MUESTRAL (n)	21
EL TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO A LAS PÉRDIDAS	
Proporción esperada de pérdidas (R)	15%
MUESTRA AJUSTADA A LAS PÉRDIDAS	25

Según **tabla 1**, el tamaño para cada grupo fue de 25 muestras de cultivo bacteriano de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Criterios de Inclusión y Exclusión de la muestra:

Inclusión

- Cultivos de bacterias *Enterococcus faecalis* provenientes de la cepa ATCC 19433.
- Empleo de extracto de propóleo al 30% de concentración, proveniente de los apiarios localizados en la localidad peruana de Oxapampa perteneciente al área de Pasco.
- Uso de Hidróxido de calcio químicamente puro de la marca “PrevestDenPro” al 70%.

Exclusión:

- Cultivos contaminados con otras bacterias u hongos.
- Extracto de propóleo de diferente concentración u origen.
- Hidróxido de calcio de diferente casa comercial o en otra presentación.

3.6. Variables y operacionalización

3.6.1. Variables

Actividad antibacteriana sobre el *Enterococcus faecalis*.

Propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio.

3.6.2. Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA VALORATIVA
Propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio	Sustancias antibacterianas utilizadas para la desinfección del sistema de conductos radiculares.	A) Extracto de propóleo al 30 %. B) Hidróxido de calcio al 70 % “PrevestDenPro” C) Combinación de propóleo al 30% con Hidróxido de calcio al 70 % “PrevestDenPro”	Concentración de cada solución preparada por un experto.	Nominal	Componentes activos -Propóleo 30 %. -Hidróxido de calcio 70 % -Propóleo 30 % más Hidróxido de calcio 70 %

Actividad antibacteriana sobre el <i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibición de crecimiento bacteriano del <i>Enterococcus faecalis</i>	Halos de inhibición del <i>Enterococcus faecalis</i>	Diámetros de halos de inhibición del <i>Enterococcus faecalis</i>	Razón	Diámetro en mm.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica:

Solicitamos un documento, que presentó a nuestra investigación frente a un laboratorio, a la escuela de odontología de la Universidad Norbert Wiener de esa forma pudimos acceder a ejecutar nuestra investigación en un laboratorio privado (anexo 1).

Los cultivos de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, se distribuyeron en 4 grupos de 25 cultivos, tres de pastas experimentales (Hidróxido de calcio “PrevestDenPro” 70%, Extracto de Propóleo 30% e Hidróxido de calcio 70% más propóleo 30%), y 1 control negativo (agua destilada) (anexo 2), midiéndose los halos de inhibición a las 24 y 48 horas.

El propóleo que se utilizó es proveniente de los apiarios localizados en la localidad peruana de Oxapampa perteneciente a la zona de Pasco, en su estado natural, que posterior a su recolección fue envasado dentro de un recipiente atóxico y almacenado al interior de un contenedor cuya tapa fue necesariamente hermética, además de ser protegido de la luz. Se eligió trabajar con la concentración al 30% del extracto de propóleo, utilizando como referencia las conclusiones del estudio realizado por Torres M¹⁴, donde este presenta la mayor respuesta antibacteriana sobre la misma bacteria de nuestro estudio.

3.7.1.1. Elaboración del extracto de propóleo al 30%

Selección y/o eliminación de impurezas:

Con la finalidad de realizar el extracto, se retiró de la materia prima impurezas burdas (astillas, extremidades, alas o tórax de las abejas, así como de material de desecho).

Congelado:

Se congeló la masa de propóleo a una temperatura de -20 a -40°C por 48 horas.

Pulverizado y pesado del Propóleo:

Se realizó rápidamente en un mortero de metal y luego se pesó la cantidad necesaria de acuerdo a la concentración de extracto final que se desee obtener y en este caso fue de 100 g para la elaboración del extracto al 30 % respectivamente.

Elaboración de extracto etanólico de Propóleo al 30 % (EPP 30%):

La materia prima pesada se trasvasó a un frasco ámbar de vidrio, luego se añadió 111 ml de solución etanólica al 96 %, se mantuvo en reposo durante 2h, concluido el tiempo de reposo se colocó en un baño termostático a una temperatura de 38°C y se calentó suavemente con agitación por durante 15 minutos. Se obtuvo un extracto de Propóleo al 30 % (concentración 300 ug/ml).

Maceración del Propóleo:

Se colocó en frascos de vidrio de color ámbar que fueron bien cerrados y guardados en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, por 15 días, agitándolos varias veces al día.

Filtrado:

Terminado el proceso de maceración, la solución etanólica sobrenadante se decantó cuidadosamente y se filtró previamente a través de papel de filtración rápida con ayuda de un embudo de vidrio. Luego se sometió a temperatura de refrigeración de 2°C a 8°C durante 24 horas y se procedió a la filtración final con papel de filtración rápida, obteniéndose el EEP 30 %.

3.7.1.2. Realización de antibiograma: sq-le-001. Técnica de Kirby-Bauer. Método de disco de difusión en agar.**Método de prueba:**

El método que se empleó, para el estudio de la efectividad antibacteriana, es el ensayo de antibiograma mediante la técnica de Kirby-Bauer (Método de disco de difusión en agar) empleando discos de antibiograma, estos últimos estuvieron impregnados con las siguientes sustancias: Extracto etanólico de propóleo al 30 %, Hidróxido de calcio al 70 %, Hidróxido de calcio al 70 % asociado con extracto etanólico de propóleo al 30 % y agua destilada.

Cepa bacteriana para el estudio:

Nuestro estudio utilizó la cepa estándar ATCC, (American Type Culture Collection): *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Preparación del medio de cultivo del Agar BHI:

Se preparó 1L agar BHI según las instrucciones del fabricante, pesándolo en una balanza, e hidratándolo con agua destilada 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, 100 mL de fluconazol al 0.15 %. Inmediatamente, en esterilidad, se depositó agar BHI en

las placas Petri a emplear en el ensayo. Se dejó solidificar por 15 minutos las placas con dicho medio de cultivo, para posteriormente ser utilizada en el ensayo antibiograma, y fueron rotulados según las sustancias a ensayar y el número de placa Petri. Se realizó la prueba de esterilidad de las placas de agar BHI incubándolas a 37°C por 24 horas.

Reactivación de la cepa y reconocimiento de *Enterococcus faecalis*:

El medio que se utilizó para la reactivación de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, almacenado en congelación, fue caldo BHI, el cual se incubó a 37°C por el tiempo de 24 horas en aerobiosis. Todo el procedimiento fue realizado en condiciones estériles. Posterior al tiempo mencionado, 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 aerobiosis para la identificación de las colonias jóvenes de *Enterococcus faecalis*.

Preparación del inóculo de *Enterococcus faecalis*:

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.

Inoculación de las placas con *Enterococcus faecalis*:

Posterior al ajuste de la suspensión del inóculo, se tomó un hisopo estéril para humectar con el cultivo en caldo BHI de *Enterococcus faecalis*, a una turbidez de Mcfarland de 0,5 y se diseminó con hisopo en las 35 placas Petri con agar BHI, en cuatro direcciones sobrepuestas para asegurar la presencia de *Enterococcus faecalis* en toda la placa Petri. Luego, se procedió a rotular las sustancias de prueba como Extracto etanólico de propóleo al 30 %, Hidróxido

de calcio al 70 %, Hidróxido de calcio al 70 % más extracto etanólico de propóleo al 30 % y agua destilada.

Colocación de los discos antibiograma y la sustancia de prueba:

Se procedió a la colocación de los discos de antibiograma, asistiéndonos de una pinza estéril, al interior de nuestras 35 placas de agar BHI inoculadas con *Enterococcus faecalis*. El número de discos de antibiograma empleados, por placa y por sustancia de prueba, se basó en ensayos previos. Luego se procedió a trabajar con los grupos de placas por sustancia de prueba ya determinados en los rótulos. Se depositó con micropipeta, en cada disco de antibiograma, 15ul de cada sustancia de prueba: Extracto etanólico de propóleo al 30 %, Hidróxido de calcio al 70 %, Hidróxido de calcio al 70 % más extracto etanólico de propóleo al 30 % y agua destilada, según los rótulos colocados en las placas. Luego, se dejaron reposar 30 minutos y se ubicaron en la incubadora en una temperatura de 37°C, durante un tiempo de 24 y 48 horas.

El desarrollo de todo el procedimiento microbiológico del ensayo se realizó dentro de un área de 10 centímetros de radio, alrededor de la llama del mechero de bunsen.

Lectura de resultados: Medición de halos de inhibición de sustancias de prueba frente a *Enterococcus faecalis*

Después de las horas de incubación (24 y 48 h), las placas fueron examinadas y se procedió a la lectura por cada periodo de tiempo, con ayuda de un contador de colonias (de fondo oscuro y con iluminación en la base de placa), de los diámetros de los halos de inhibición contra el *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, los cuales fueron medidos con una regla de Vernier, que brindó una medición individual de los halos (en milímetros) conformados alrededor de cada uno de los discos embebidos con las sustancias de prueba en las placas

con cultivo.

El procedimiento realizado se evidenció con fotografías (anexo 5).

3.7.2. Descripción de instrumentos

Los resultados observados fueron registrados dentro de una ficha de datos (anexo 6), que contiene los 4 grupos establecidos, número de réplica de disco antibiograma y la medida en milímetros de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. El Laboratorio Scientific Quality S.A.C emitió, al final de la investigación, un informe de ensayo con los datos obtenidos (anexo 7).

3.7.3. Validación

El instrumento no necesitó validación ya que su medición fue directa.

3.7.4. Confiabilidad

Los datos fueron obtenidos de manera directa, confiable y segura.

3.8. Plan de procesamiento y análisis de datos

Se realizó el análisis estadístico mediante el programa SPSS versión 25. Se elaboró la estadística descriptiva (anexo 3) e inferencial, se consideró para este la prueba de normalidad de Shapiro Wilk (anexo 4), con base en que los datos analizados son menores a 50, posteriormente para comparar el recuento de colonias a las 24 y 48 horas se utilizó la prueba de rango con signo de Wilcoxon, al igual que se aplicó la prueba de U de Mann-Whitney para comparaciones por pares para muestras independientes. Se trabajó con un nivel de confianza de 95 %, con un valor de $p \leq 0.05$ que fue considerado estadísticamente significativo.

3.9. Aspectos éticos

Se respetaron todos los protocolos establecidos por la Universidad Norbert Wiener, además se pidieron los permisos correspondientes a la escuela de odontología para el desarrollo de esta investigación. Se respetaron los principios éticos y las normas de laboratorio para el desarrollo de trabajos de investigación.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de resultados

Tabla 2. Actividad antibacteriana del extracto de propóleo, hidróxido de calcio e hidróxido de calcio más extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Extracto de propóleo - 48 horas	25	13,428	1,2364	10,1	15,1
Hidróxido de calcio - 48 horas	25	7,664	1,2593	6,1	11,8
Hidróxido de calcio y Propóleo - 48 horas	25	8,184	1,7608	6,4	12,3
Extracto de propóleo - 24 horas	25	12,848	1,1899	9,5	14,3
Hidróxido de calcio - 24 horas	25	7,164	1,2536	5,8	11,6
Hidróxido de calcio y Propóleo - 24 horas	25	7,804	1,5836	6,3	11,7

Según la **tabla 2**, se puede observar que los valores obtenidos tanto del mínimo, máximo y media del conjunto de resultados de las sustancias de prueba son mayores y difieren de cero, por lo cual, se puede decir que las tres sustancias de prueba tienen actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. Por otro lado, se puede concluir que, según los valores de desviación estándar obtenido de cada grupo de resultados, el conjunto de resultados que tiene mayor dispersión con respecto a la media es el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las 48 horas y el conjunto de resultados que presenta la menor dispersión con respecto a la media es el extracto de propóleo a las 24 horas.

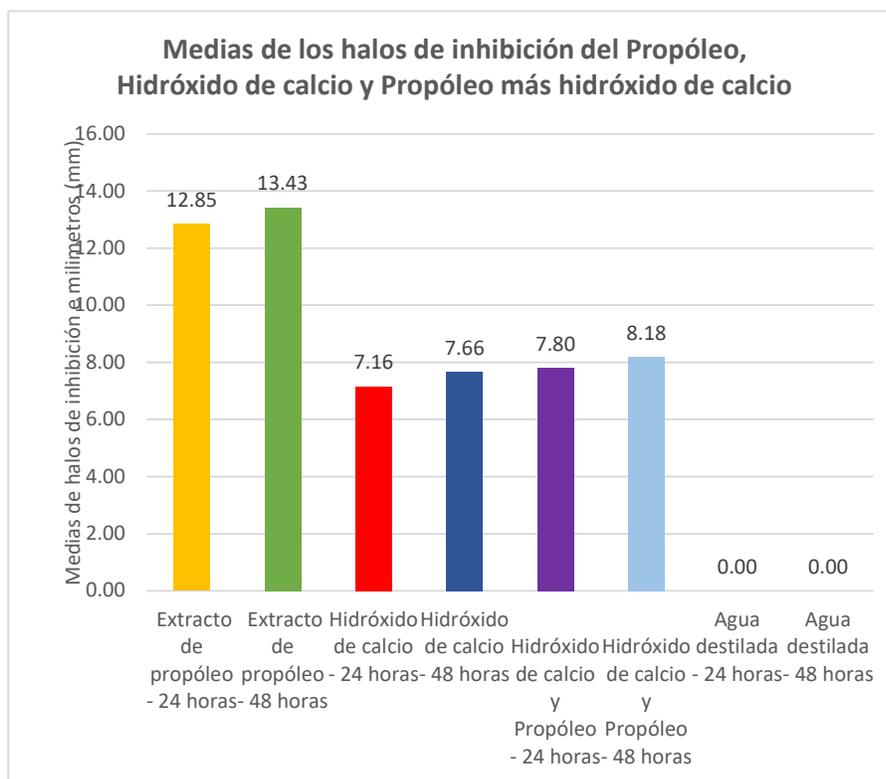


Figura 1. Actividad antibacteriana del extracto de propóleo, hidróxido de calcio e hidróxido de calcio más extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Medias de halos de inhibición frente *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI).

Según la **Figura 1**, se puede observar la diferencia de las medias de los resultados de los halos de inhibición del extracto de propóleo al 30% de concentración, hidróxido de calcio, hidróxido de calcio más extracto de propóleo y agua destilada frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas de incubación en agar BHI, notándose que la actividad antibacteriana que presentó el extracto de propóleo al 30% fue superior al del hidróxido de calcio y a la combinación de ambas, a las 24 y 48 horas, sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Tabla 3. Actividad antibacteriana del extracto de propóleo 30% sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Extracto de propóleo - 48 horas	25	13,428	1,2364	10,1	15,1
Extracto de propóleo - 24 horas	25	12,848	1,1899	9,5	14,3

Según la **tabla 3**, se puede observar que el extracto de propóleo 30% presenta como medias de los halos de inhibición 12,848 mm a las 24 horas y 13,428 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Tabla 4. Actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Hidróxido de calcio - 48 horas	25	7,664	1,2593	6,1	11,8
Hidróxido de calcio - 24 horas	25	7,164	1,2536	5,8	11,6

Según la **tabla 4**, se puede observar que el hidróxido de calcio presenta como medias de los halos de inhibición 7,164 mm a las 24 horas y 7,664 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Tabla 5. Actividad antibacteriana del hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Mediciones en réplicas de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	N	Media	Desv. Desviación	Mínimo	Máximo
Hidróxido de calcio y Propóleo - 48 horas	25	8,184	1,7608	6,4	12,3
Hidróxido de calcio y Propóleo - 24 horas	25	7,804	1,5836	6,3	11,7

Según la **tabla 5**, se puede observar que el hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% presenta como medias de los halos de inhibición 7,804 mm a las 24 horas y 8,184 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Tabla 6. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Diferencias de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	Extracto de propóleo - 24 horas - Extracto de propóleo - 48 horas	Hidróxido de calcio - 24 horas - Hidróxido de calcio - 48 horas	Hidróxido de calcio y Propóleo - 24 horas - Hidróxido de calcio y Propóleo - 48 horas
Z	-4,398 ^b	-4,390 ^b	-4,402 ^b
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,000

Prueba de rango con signo de Wilcoxon ($p=0.05$)

Según la **tabla 6**, se halló diferencias significativas dentro de las lecturas de los halos de inhibición. Analizados con la prueba de rango con signo de Wilcoxon, a las 24 y 48 horas para cada sustancia de prueba, puesto que los valores de p (sig.) obtenidos son menores del nivel de significancia (0.05).

Tabla 7. Comparación por pares para muestras independientes de la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 (Diferencias de los halos de inhibición en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas).

	Extracto_propoleo_24h_Hidroxido_24h	Extracto_propoleo_48h_Hidroxido_48h	Hidróxido_24h_Hidroxido_Propoleo_24h	Hidróxido_48h_Hidroxido_Propoleo_48h	Hidroxido_Propoleo_24h_Propoleo_24h	Hidroxido_Propoleo_48h_Propoleo_48h
U de Mann-Whitney	3,000	3,000	222,500	276,500	9,500	10,000
W de Wilcoxon	328,000	328,000	547,500	601,500	334,500	335,000
Z	-6,010	-6,010	-1,752	-,700	-5,882	-5,873
Sig. asintótica(bilateral)	,000	,000	,080	,484	,000	,000

Según la **tabla 7**, existen diferencias significativas (p-valor (sig.) menor a 0.05) entre las lecturas de los halos de inhibición, (Datos analizados con la prueba de U de Mann Whitney) para las sustancias de prueba de extracto de propóleo e hidróxido de calcio (sig: 0.00), y también para el hidróxido de calcio más extracto de propóleo y el extracto de propóleo (sig: 0.00) a las 24 y 48 horas. No hubo diferencia significativa en la comparación de pares del hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las 24 (sig: 0.080), ni a las 48 horas (sig: 0.484).

4.1.2. Prueba de hipótesis

4.1.2.1. Prueba de Hipótesis general

Hi: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Debido a que se halló diferencias significativas entre las lecturas de los halos de inhibición, a las 24 y 48 horas, para el extracto de propóleo al 30 % y de su combinación con hidróxido de calcio, puesto que los valores de p obtenidos (0,000) son inferiores al nivel de significancia (0.05), se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la hipótesis de investigación (Hi) que existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

4.1.2.2. Prueba de Hipótesis específicas

Hi1: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho1: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Debido a que se halló diferencias significativas entre las lecturas de los halos de inhibición, a las 24 y 48 horas, para el extracto de propóleo al 30 %, puesto que los valores de p obtenidos (0,000) son inferiores al nivel de significancia (0.05), se rechaza la hipótesis nula (Ho1) y se acepta la hipótesis específica Hi1 que existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Hi2: Existe actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho2: No existe actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Debido a que se halló diferencias significativas entre las lecturas de los halos de inhibición, a las 24 y 48 horas, para el hidróxido de calcio al 30 %, puesto que los valores de p obtenidos (0,000) son inferiores al nivel de significancia (0.05), se rechaza la hipótesis nula (Ho2) y se acepta la hipótesis específica Hi2 que existe actividad antibacteriana del hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

Hi3: Existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Ho3: No existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

Debido a que se halló diferencias significativas entre las lecturas de los halos de inhibición, a las 24 y 48 horas, para el extracto de propóleo al 30 % combinado con hidróxido de calcio, puesto que los valores de p obtenidos (0,000) son inferiores al nivel de significancia (0.05), se rechaza la hipótesis nula (Ho3) y se acepta la hipótesis específica Hi3 que existe actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

4.1.3. Discusión de resultados

El presente estudio examinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 30 %, además de su combinación con el hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433, evaluando sus efectos a las 24 y 48 horas.

Se encontró que las 3 pastas experimentales de nuestro estudio (Hidróxido de calcio, extracto etanólico de propóleo al 30 % e Hidróxido de calcio más extracto etanólico de propóleo al 30 %) mostraron actividad antibacteriana frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 en los dos periodos de tiempo de exposición, siendo el extracto de propóleo al 30% quien expuso una actividad antibacteriana superior, llegando a una media de 13,428 mm de diámetro de halos de inhibición, a las 48 horas. Esto coincide con Torres M.¹⁴ que reportó mayor actividad antibacteriana del extracto de propóleo al 30% (14,96 mm) en comparación con el extracto de propóleo al 20% y al paramonoclorofenol alcanforado frente al *Enterococcus faecalis*. También concuerda con Abhishek P, *et al*¹¹, quienes llegaron a la conclusión que al emplear nanopartículas de propóleo (PN 300) obtuvieron mayor actividad antibacteriana que el NaOCl 6 % y la CHX 2 % sobre el *Enterococcus faecalis*, siendo las medidas realizadas en unidades formadoras de colonias (19.85 y 20.65 UFC/ml).

La actividad antibacteriana del propóleo frente al *Enterococcus faecalis* ha sido objeto de muchos estudios, como el mencionado de Abhishek P, *et al*.¹¹ quienes demostraron que las nanopartículas de propóleo de 300 µg/ml, fueron eficaces en la reducción de unidades UFC/ml, con una media de 19.85 UFC/ml y 20.65 UFC/ml, a 200 µg y 400 µg de profundidad respectivamente; también Parolia A, *et al*.¹² dentro de su investigación encontró actividad antibacteriana del propóleo a 100 y 250 µg de profundidad presentando un 34 % de cobertura de *E. Faecalis*. Torres M.¹⁴ confirma lo ya mencionado, indicando que el

extracto etanólico de propóleo al 30 % alcanzó una media de 14,23 mm de halo de inhibición a las 24 h y 14,96 mm a las 48 h, frente al *E. Faecalis*. En nuestro estudio coincidimos con los investigadores precedentes, demostrando la actividad antibacteriana del extracto etanólico del propóleo al 30% frente al *E. Faecalis* con una media de halos de inhibición de 12,848 mm a las 24 h y 13,428 mm a las 48 h. El proceso de acción del propóleo se debería a la colaboración de sus compuestos como flavonoides, ésteres, sesquiterpenos, entre otros, pero esta actividad es compleja y sigue siendo motivo de investigación.

El hidróxido de calcio es considerado el medicamento “gold standard” en el tratamiento de infecciones intrarradiculares; su pH elevado (12,6) dado por una gradiente de iones hidroxilo, controla la actividad enzimática inactivando el crecimiento de biopelículas. Esto es confirmado en el estudio de Parolia A, *et al.*¹², donde el hidróxido de calcio después de 7 días muestra 5% de cobertura de *Enterococcus faecalis*; también Pereira C, *et al.*¹⁵ reafirma la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio, que a los 15 días logró un porcentaje de bacterias vivas de *Enterococcus faecalis* de 30% por μm^3 ; coincide además con los resultados Del Carpio P, *et al.*¹⁶ quien reporta que el hidróxido de calcio disminuye el número de bacterias de *Enterococcus faecalis* viables a los 7 días (2.04 log en UFC/mL) y a los 14 días (2.51 log en UFC/mL). El resultado de nuestro estudio nos permite reafirmar la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, alcanzando medias de halos de inhibición de 7,164 mm a las 24 horas y 7,664 mm a las 48 horas.

Se han asociado diversas sustancias para alcanzar eficacia antibacteriana como medicación intraconducto. El hidróxido de calcio ha sido asociado con distintos vehículos (agua destilada, solución anestésica, entre otros) u otros medicamentos antibacterianos como el

paramonoclorofenol, con el propósito de mejorar sus propiedades; en nuestra investigación se evaluó la combinación del hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% alcanzando medias de los halos de inhibición 7,804 mm a las 24 horas y 8,184 mm a las 48 horas, mostrando que esta asociación sí tiene actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433. Pereira C, *et al.*¹⁵ dentro de su investigación también evaluaron la actividad antibacteriana sobre el *Enterococcus faecalis* de esta sociedad (hidróxido de calcio más Propilenglicol y extracto etanólico de propóleo al 10%), y después de 15 días encontró un menor porcentaje de bacterias vivas por μm^3 (20% por μm^3); también Del Carpio P, *et al.*¹⁶ halló actividad antibacteriana de dicha asociación frente al *Enterococcus faecalis*, el cual fue más efectivo a los 7 días (1,36 log en UFC/mL), ya que a los 14 días existió un aumento bacteriano (2.7 log en UFC/mL). Parolia A, *et al.*¹² al asociar nanopartículas de quitosano-propóleo (250 μg / ml), encontraron actividad significativamente superior en el día 1 y 3 ($p < .05$) mostrando una cobertura mínima de *Enterococcus faecalis* de 5 a 33%, presentando al día 7 una efectividad similar al hidróxido de calcio (menos del 5% de cobertura de *Enterococcus faecalis*). Por otro lado, Raoof M, *et al.*¹³, al sumarle al hidróxido de calcio los extractos metanólicos de *Myrtus communis* L. y *Eucalyptus galbie*, encontró 48 h después, que aunque los dos extractos de hierbas mostraron acción antibacteriana al emplearse independientemente, la combinación del hidróxido de calcio con los dos extractos no mostró actividad antibacteriana. Esto demuestra que la adición de nuevas sustancias experimentales al hidróxido de calcio podría potenciar su actividad antibacteriana e incluso la sustancia experimental individualmente podría resultar más efectiva que al emplearse en formas asociadas.

Un hallazgo relevante dentro de nuestra investigación fue que, al confrontar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo

combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 medido en los lapsos de 24 y 48 horas, se encontró un aumento estadísticamente significativo (para cada pasta experimental) de los halos de inhibición al transcurrir el tiempo, con valores de p menores del nivel de significancia (0.05); sin embargo, Torres M.¹⁴ que si bien encontró un aumento de la media de los halos de inhibición del extracto de propóleo al 30% desde las 24 horas (14,23 mm) a las 48 horas (14,96 mm), este aumento no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$). A su vez, Del Carpio P, *et al.*¹⁶ reportaron que la actividad antibacteriana hallada frente al *Enterococcus Faecalis* del hidróxido de calcio más extracto etanólico de propóleo fue solo efectiva a los 7 días de iniciado el tratamiento ($p < 0,05$) (1,36 log en UFC7mL), mientras que a los 14 días aumentó la población bacteriana (2.7 log en UFC/mL), indicando que no se pudo mantener su actividad antibacteriana a través del tiempo.

Dentro de nuestra investigación, al comparar los grupos de extracto de propóleo al 30% con el hidróxido de calcio (p-valor (sig.) menor a 0.05), encontramos que el extracto de propóleo al 30% exhibe actividad antibacteriana significativamente superior (sig=0.00); sin embargo Del Carpio P, *et al.*¹⁶, que asoció ambas pastas logró aumentar la actividad antibacteriana a los 7 días (1,36 log en UFC/mL), siendo significativamente superior ($p < 0,05$) al hidróxido de calcio (2.04 log en CFU/mL), pero a los 14 días la asociación de hidróxido de calcio más propóleo disminuyó su actividad antibacteriana (2.7 log en UFC/mL), mientras que el hidróxido de calcio aumentó (2.51 log en UFC/mL). De acuerdo con Abhishek P, *et al.*¹¹ que describió la eficiencia de las nanopartículas de propóleo 300 µg/ml sobre el *Enterococcus faecalis*, en la reducción de UFC ($p < 0,05$), coincidiendo con nuestro estudio con base en que el extracto de propóleo mostró una actividad antibacteriana significativamente superior en contraste con la asociación de hidróxido de calcio más extracto de propóleo (sig: 0.00) a

las 24 y 48 horas. Pereira C, *et al.*¹⁵ encontró que el hidróxido de calcio más Propilenglicol igualmente que el extracto etanólico de propóleo al 10% (20% por μm^3) es significativamente superior ($P < 0,05$) que el hidróxido de calcio más agua destilada (30% por μm^3); si bien en nuestro estudio al comparar el hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo, encontramos una leve superioridad de este último, no se mostró estadísticamente significativo a las 24 h (sig: 0.080), ni a las 48 h (sig: 0.484).

El *Enterococcus faecalis* es un microorganismo de gran prevalencia dentro de las infecciones endodónticas de tipo secundarias y necrosis pulpar, por ende, se vuelve imprescindible el uso de una efectiva medicación intraconducto que permita controlar la actividad antibacteriana. Es con este propósito que nosotros empleamos en nuestro estudio el propóleo al 30 % y el hidróxido de calcio, siendo necesario mayor cantidad de investigaciones a fin de alcanzar la medicación intraconducto ideal, que nos permita alcanzar el éxito de los tratamientos de conducto radiculares.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El extracto de propóleo, el hidróxido de calcio y la combinación hidróxido de calcio más extracto de propóleo tienen actividad antibacteriana frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, siendo el extracto de propóleo al 30% quien exhibió una actividad antibacteriana superior.
- El extracto de propóleo 30% presentó como medias de los halos de inhibición 12,848 mm a las 24 horas y 13,428 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.
- El hidróxido de calcio presentó como medias de los halos de inhibición 7,164 mm a las 24 horas y 7,664 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.
- La combinación del hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% presentó como medias de los halos de inhibición 7,804 mm a las 24 horas y 8,184 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.
- Existen diferencias significativas en medio de las lecturas de los halos de inhibición al comparar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433 a las 24 y 48 horas, con valores de p menores del nivel de significancia (0.05).
- Existen diferencias significativas (p-valor (sig.) menor a 0.05) entre las lecturas de los halos de inhibición, para las sustancias de prueba de extracto de propóleo e hidróxido de calcio (sig: 0.00), y para el hidróxido de calcio más extracto de propóleo y el extracto de propóleo (sig: 0.00) a las 24 y 48 horas, pero no hubo diferencia significativa en la

comparación de pares del hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las 24 (sig: 0.080), ni a las 48 horas (sig: 0.484).

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar investigaciones similares sobre el propóleo, con diferentes concentraciones, a fin de evaluar su actividad antibacteriana sobre cepas de *Enterococcus Faecalis*.
- Se recomienda realizar investigaciones similares sobre el propóleo, en piezas dentarias necróticas, a fin de evaluar su actividad antibacteriana sobre cepas de *Enterococcus Faecalis*.
- Se recomienda realizar investigaciones similares con otros productos naturales, a fin de evaluar su actividad antibacteriana sobre cepas de *Enterococcus Faecalis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh M, Singh S, Salgar A, Prathibha N, Chandrahari N, Swapna L. An in vitro comparative evaluation of antimicrobial efficacy of propolis, *Morinda citrifolia* Juice, sodium hypochlorite and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *J. Contemp. Dent. Pract.* 2019; 20:40–45.
2. Kirsch J, Basche S, Neunzehn J, Dede M, Dannemann M, Hannig C, Weber M. Is it really penetration? Locomotion of devitalized *Enterococcus faecalis* cells within dentinal tubules of bovine teeth. *Arch Oral Biol.* 2017; 83:289–96.
3. Ong T, Chitra E, Ramamurthy S, Siddalingam R, Yuen K, Ambu S, et al. Chitosan-propolis nanoparticle formulation demonstrates anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Plos One.* 2017; 12(3): e0174888.
4. Daood U, Parolia A, Elkezza A, Yiu C, Abbott P, Matinlinna J, Fawzy A. An in vitro study of a novel quaternary ammonium silane endodontic irrigant. *Dent Mater.* 2019; 35(9):1264–78.
5. Prada I, Muñoz P, Giner T, Micó P, Muwaquet S, Monteagudo A. Update of the therapeutic planning of irrigation and intracanal medication in root canal treatment. A literature review. *J Clin Exp Dent.* 2019; 11(2): e185–93.
6. Del Carpio A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath A, Medapati M, Lai C, Cunha R. Antibacterial properties of chitosan nanoparticles and propolis associated with calcium hydroxide against single and multispecies biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *J Endod.* 2017; 43(8):1332–6.
7. Dantas R, Machado B, Barreto G, Costa S, Andrade L, Amaral R, Carvalho A, Padilha F, Barbosa J, Umsza M. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. *PLoS ONE.* 2017; 12(3): e0172585.

8. Bueno B, Marsola A, Ikegaki M, Alencar S, Rosalen P. The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: chemical composition and antibacterial activity. *Nat Prod Res.* 2017; 31(11):1318–24.
9. Devequi D, Machado B, Barreto G, Rebouças J, da Silva D, da Rocha J, Brandão H, Borges V, Umsza M. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. *Plos One.* 2018; 13(12): e0207676.
10. Pereira T, da Silva L, Graef M, Ribeiro M, Duarte M, de Andrade F. Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(3):1253–62.
11. Abhishek P, Hareesh K, Srinivasan R, Thiagarajan M, Fabian D, Malikarjuna R, Kitkay M, Amars F, Umer D, Allan P. Effect of Propolis Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm in the Root Canal. *J Molecules.* 2021; 26: 715.
12. Parolia A, Kumar H, Ramamurthy S, Davamani F, Pau A. Effectiveness of chitosan-propolis nanoparticle against *Enterococcus faecalis* biofilms in the root canal. *BMC Oral Health.* 2020; 20(1):339.
13. Raof M, Moj K, Siasar N, Sakineh M, Haghani J, Amanpour S. Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of *Myrtus Communis* L. and *Eucalyptus Galbie* and their Combination with Calcium Hydroxide Powder against *Enterococcus Faecalis*. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* 2019; 20(3): 195-202.
14. Torres D. Comparación del efecto antibacteriano de un extracto etanólico de propóleo a dos Concentraciones y del paramonoclorofenol alcanforado frente a *Enterococcus Faecalis* y *Fusobacterium Nucleatum*. *Rev Cient Odontol.* 2019; 7 (1): 53-65.

15. Pereira T, da Silva L, Graeff, M, et al. Intratubular decontamination ability and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes. *Clin Oral Invest.* 2018; 23: 1253–1262.
16. Del Carpio A, Kishen A, Felitti R, Bhagirath A, Medapati M, Lai C, Cunha R. Antibacterial Properties of Chitosan Nanoparticles and Propolis Associated with Calcium Hydroxide against Single- and Multispecies Biofilms: An In Vitro and In Situ Study. *J Endod.* 2017; 43(8):1332-1336.
17. Packia N, Viveka S, Sowmia N, Jeeva S, Raja J. Antimicrobial activity of propolis against dental pathogens. *AARJSH.* 2013; 1 (18): 402-14.
18. Awawdeh L, Jamleh A, Al-Beitawi M. The Antifungal Effect of Propolis Endodontic Irrigant with Three Other Irrigation Solutions in Presence and Absence of Smear Layer: An In Vitro Study. *Iran Endod. J.* 2018; 13: 234–239.
19. Pérez R, Díaz V, Algar J, Valencia O, Estévez R, Cisneros R. Actualización en microbiología endodóntica. *Cient. Dent.* 2013; 10 (1): 27-39.
20. Andrade V, Dos Santos R, De Lima R, Netto K, Guimarães L, Copple L. Microorganisms involved in endodontic infection of permanent teeth: A systematic review. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2013; 7 (18): 1819-26.
21. Daood U, Burrow M, Yiu C. Effect of a novel quaternary ammonium silane cavity disinfectant on cariogenic biofilm formation. *Clin. Oral Investig.* 2019; 24: 649–661.
22. Daood U, Parolia A, Matinlinna J, Yiu C, Ahmed H, Fawzy A. Properties of a modified quaternary ammonium silane formulation as a potential root canal irrigant in endodontics. *Dent. Mater.* 2020; 36: e386–e402.
23. E Y K, Lapesqueur L, Yassuda C, et al. Enterococcus species in the oral cavity: prevalence, virulence factors, and antimicrobial susceptibility. *Plos One.* 2016; 11(9):1–11.

24. Song W, Ge S. Application of Antimicrobial Nanoparticles in Dentistry. *J Molecules*. 2019; 24: 1033.
25. Flanagan D. *Enterococcus faecalis* and dental implants. *J Oral Implantol*. 2017; 43(1):8–11.
26. Kurnia D, Apriyanti E, Soraya C, Satari M. Antibacterial Flavonoids Against Oral Bacteria of *Enterococcus Faecalis* ATCC 29212 from Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) and Its Inhibitor Activity Against Enzyme MurA. *Curr Drug Discov Technol*. 2019; 16(3):290-296.
27. Kurnia D, Rachmawati P, Satari MH. Antibacterial of Dibenzo-p-Dioxi-2, 8-Dicarboxylic Acid against pathogenic oral bacteria *E. faecalis* ATCC 29212 Peptide Pheromones: Quorum Sensing of in vitro and in silico study. *Drug Des Devel Ther*. 2020; 30(14):3079-3086.
28. Gazzaneo I, Vieira G, Pérez A, Marceliano-Alves M, Gonçalves L, Mdala I, Siqueira J, Rôças I. Root Canal Disinfection by Single- and Multiple-instrument Systems: Effects of Sodium Hypochlorite Volume, Concentration, and Retention Time. *J. Endod*. 2019; 45: 736–741.
29. Bukhary S, Balto H. Antibacterial Efficacy of Octenisept, Alexidine, Chlorhexidine, and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus faecalis* Biofilms. *J. Endod*. 2017; 43: 643–647.
30. Zou J, Shankar N. The opportunistic pathogen *Enterococcus faecalis* resists phagosome acidification and autophagy to promote intracellular survival in macrophages. *Cell Microbiol* 2016; 18:831-43.
31. Holmberg A, Rasmussen M. Mature biofilms of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* are highly resistant to antibiotics. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2016; 84:19–21.

32. Dale J, Nilson A, Barnes G, Dunny M. Restructuring of *Enterococcus faecalis* biofilm architecture in response to antibiotic-induced stress. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2017; 3:15.
33. Chen X, Li X, Zhou J, Zeng Z, Ren L, Lei D, Kang K, Zhang J, Zou Y. Inhibition of *Enterococcus faecalis* growth and biofilm formation by molecule targeting cyclic di-AMP synthetase activity. *J. Endodont*. 2018; 44:1381–1388.
34. Nourzadeh M, Amini A, Fakoor F, Raoof M, Sharififar F. Comparative Antimicrobial Efficacy of *Eucalyptus Galbica* and *Myrtus Communis L.* Extracts, Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite against *Enterococcus Faecalis*. *Iran Endod J*. 2017; 12: 205-210.
35. Golob M, Pete M, Kusar D, et al. Antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from humans and retail red meat. *Biomed Res Int*. 2019; 2019:1–12.
36. Jaiswal N, Sinha D, Singh U, Singh K, Jandial U, Goel S. Evaluation of antibacterial efficacy of Chitosan, Chlorhexidine, Propolis and Sodium hypochlorite on *Enterococcus faecalis* biofilm: An in vitro study. *J. Clin. Exp. Dent*. 2017; 9: e1066–e1074.
37. Bapat R, Joshi C, Bapat P, Chaubal T, Pandurangappa R, Jnanendrappa N, Gorain B, Khurana S, Kesharwani P. The use of nanoparticles as biomaterials in dentistry. *Drug Discov. Today*. 2019; 24: 85–98.
38. Arias M, Maliza A, Midena R, Graeff M, Duarte M, Andrade F. Effect of ultrasonic streaming on intradental disinfection and penetration of calcium hydroxide paste in endodontic treatment. *J Appl Oral Sci*. 2016; 24(6):575–581.

39. Zancan R, Vivian R, Milanda Lopes M, Weckwerth P, de Andrade F, Ponce JB, Duarte M. Antimicrobial activity and physicochemical properties of calcium hydroxide pastes used as intracanal medication. *J Endod.* 2016; 42(12):1822–1828.
40. Swimberghe R, Coenye T, De Moor R, Meire M. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J.* 2019; 52(5):604–28.
41. Skoskiewicz K, Kaczmarek U, Malicka B, Walczak K, Zietek M. Application of chitosan and propolis in endodontic treatment: a review. *Mini Rev Med Chem.* 2017; 17(5):410–34.
42. kca A, Akca G, Topçu F, Macit E, Pikdöken L, Özgen I. The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with Chlorhexidine against oral pathogens: an in vitro study. *BioMed Research Int.* 2016; (3): 1-8.
43. O’Callaghan K, Kerry J. Preparation of low-and medium-molecular weight chitosan nanoparticles and their antimicrobial evaluation against a panel of microorganisms, including cheese-derived cultures. *Food Control.* 2016; 69:256–61.
44. Do Nascimento T, da Silva P, Azevedo L, da Rocha L, de Moraes I, Lima E, Basílio I, Grillo L, Dornelas C, Fonseca E, de Jesus E, Zhang A, Watson D. Polymeric nanoparticles of Brazilian red propolis extract: preparation, characterization, antioxidant and Leishmanicidal activity. *Nanoscale Res Lett.* 2016; 11(1):301.
45. Vargas R, Torrescano G, Mendoza A, Vallejo B, Acedo E, Sánchez J. Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propóleos. *Rev Biotecnia.* 2014; 16 (1): 32-7.
46. Mayta F, Sacsquispe S, Ceccarelli J, Alania J. Propóleo peruano: una nueva alternativa terapéutica antimicrobiana en estomatología. *Rev Estomatol Hered.* 2012; 22 (1): 50-8.

47. Arias, Fidas G. El proyecto de investigación (7ª ed.). Caracas: editorial Episteme;
2016.

ANEXOS

Anexo 1

SOLICITUD DE CARTA DE PRESENTACIÓN

Lima, 12 de agosto del 2021

Solicito: Carta de Presentación para
recolectar datos (tesis de pregrado)

Dra. Brenda Roxana Vergara Pinto
Directora de la E.A.P de Odontología
Universidad Privada Norbert Wiener
Presente. -

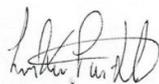
De mi mayor consideración:

Yo, Linda Katherine Perez LLantoy estudiante de la Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad Norbert Wiener, con código n° 2021800247, solicito una Carta de Presentación dirigido al Microbiólogo Elías Juárez Vilcapuma, gerente del laboratorio Scientific Quality para acceder a la respectiva institución y recolectar datos de mi proyecto de tesis para obtener el título de Cirujano Dentista "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL PROPÓLEO Y SU COMBINACIÓN CON EL HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS. ESTUDIO IN VITRO 2021" cuyo objetivo general es Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de *Enterococcus Faecalis* ATCC 19433.

El asesor de la respectiva investigación es la Mg. Vilchez Bellido Dina

Adjunto: Conformidad del Proyecto por el asesor.

Atentamente,



Linda Perez LLantoy
Estudiante de la E.A.P. de Odontología
Universidad Privada Norbert Wiener

Anexo 2

DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA

Tabla 8. Distribución de los grupos de estudio experimental y control de las sustancias de prueba *in vitro* a las 24 y 48 horas

Grupo de estudio	Frecuencia		Porcentaje
	24 horas	48 horas	
Grupo experimental A: Extracto de propóleo	25	25	25%
Grupo experimental B: Hidróxido de calcio	25	25	25%
Grupo experimental C: Hidróxido de calcio y extracto de propóleo	25	25	25%
Grupo Control: Agua destilada	25	25	25%
Total	100	100	100%

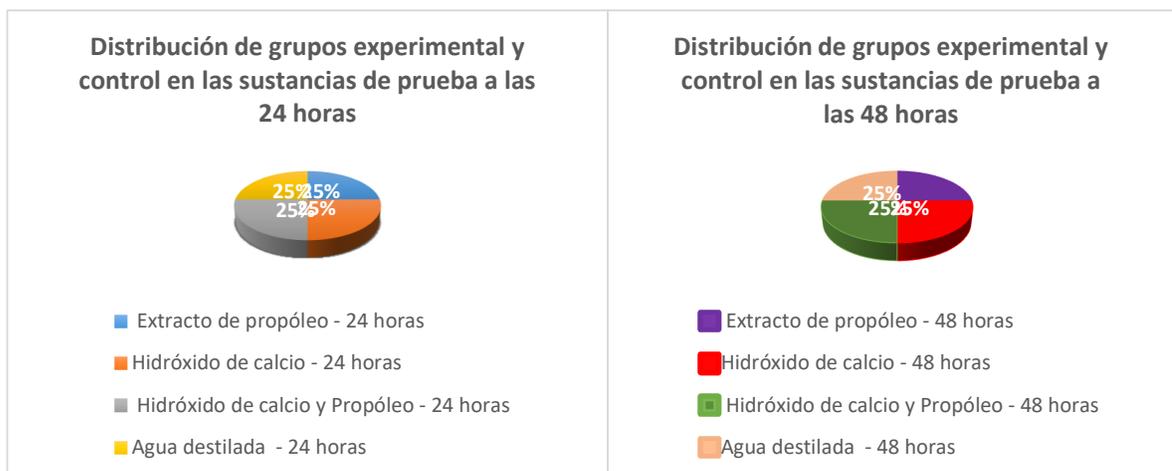


Figura 2. Distribución de los grupos de estudio experimental y control de las sustancias de prueba *in vitro* a las 24 y 48 horas

Según la tabla 8 y la figura 2, los grupos de estudio y grupo control tienen la misma cantidad de datos. El número de réplicas de los halos de inhibición del extracto de propóleo a las 24 y 48 horas representa el 25 % de los datos totales. De igual manera, las réplicas de los halos de inhibición del hidróxido de sodio, extracto de propóleo más hidróxido de sodio y del agua destilada, cada uno de esos grupos representa el 25% del total en ambos periodos de tiempo: 24 y 48 horas.

Anexo 3

RESULTADOS DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

Tabla 9. Resultados de los halos de inhibición frente *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI de Extracto etanólico de propóleo al 30%, Hidróxido de calcio 70% e Hidróxido de calcio 70% más Extracto etanólico de propóleo al 30%

Nº Réplica de disco antibiograma	Halo de inhibición frente <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 (*) en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI							
	M1: Extracto etanólico de propóleo al 30%		M2: Hidróxido de calcio 70%		M3: Propóleo al 30% e Hidróxido de calcio 70%		M4: Agua Destilada (Control negativo)	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
1	12,7	13,1	7	8	11,4	12	0	0
2	14,3	14,9	6,4	6,5	11,1	11,6	0	0
3	12,3	12,8	6,4	8	11,7	12,3	0	0
4	13,4	14,1	7,8	8	7,1	7,3	0	0
5	13,1	13,5	9	9,5	7,8	8	0	0
6	14,0	14,6	7	7,5	8,8	10	0	0
7	12,5	13,0	6	6,4	7,7	8	0	0
8	13,8	14,5	8,5	9	7,4	7,7	0	0
9	11,9	12,6	7	8,4	9	10,3	0	0
10	13,1	13,4	6,2	6,5	9,5	9,8	0	0
11	12,7	13,2	6,1	6,4	7,5	7,8	0	0
12	14,1	14,9	7	7,7	7,5	8	0	0
13	12,2	12,6	7,4	7,8	6,8	7	0	0
14	13,5	14,1	7,6	8	6,3	6,6	0	0
15	12,2	12,7	7	7,4	6,4	6,5	0	0
16	13,4	14,1	6,4	6,7	6,3	6,4	0	0
17	12,7	13,4	6,3	6,6	6,4	6,6	0	0
18	13,9	14,6	6,1	6,9	6,3	6,5	0	0
19	13,2	13,8	6,3	6,5	7	7,4	0	0
20	14,2	15,1	11,6	11,8	7,2	7,4	0	0
21	12,9	13,4	8	8,5	7	7,2	0	0
22	14,1	14,6	8,4	8,8	7,4	7,9	0	0
23	10,9	11,4	7,1	7,5	7,0	7,3	0	0
24	9,5	10,1	5,8	6,1	6,9	7,1	0	0
25	10,6	11,2	6,7	7,1	7,6	7,9	0	0

Según la tabla 9, se puede observar que existe diferencias entre las lecturas de Extracto etanólico de propóleo al 30%, Hidróxido de calcio 70%, Hidróxido de calcio 70% más Extracto etanólico de propóleo al 30% y el control negativo agua destilada.

Anexo 4

ANÁLISIS DE NORMALIDAD DE RESULTADOS

Tabla 10. Análisis de Normalidad de las diferencias de los halos de inhibición frente *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI de extracto de propóleo, Hidróxido de calcio, Hidróxido de calcio más extracto de propóleo.

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DIF_PROP_24H_PROP_48H	,158	25	,107	,955	25	,319
DIF_CAOH_24H_CAOH_48H	,300	25	,000	,760	25	,000
DIF_CAOH_PROP_24H_CAOH_PROP_48H	,286	25	,000	,719	25	,000

De la tabla 10, se infiere que el conjunto de resultados de las diferencias de los halos de inhibición de las sustancias de prueba a las 24 y 48 horas frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 no presentan una distribución normal, excepto los halos de inhibición para el propóleo (sig.: 0.319) puesto que los p-valor (sig.) obtenidos para hidróxido de calcio (sig: 0,00) y propóleo mas hidróxido de calcio (sig: 0.00) son menores al nivel de significancia (0,05) en la prueba de normalidad de Shapiro Wilk. Se consideró para este de normalidad la prueba de Shapiro Wilk puesto que los datos analizados son menores a 50. La prueba de Kolmogorov- Smirnov es para datos mayores a 50. Se puede concluir que como se presentan grupos de datos con distribución normal y no normal, se recomienda usar estadísticos de distribución libre para analizar los conjuntos de datos en cuestión: Estadísticos no paramétricos.

Anexo 5
FOTOGRAFÍAS

EQUIPOS Y MATERIALES

AUTOCLAVE



INCUBADORA



VERNIER



PROPIPETA



CONTADOR DE COLONIAS

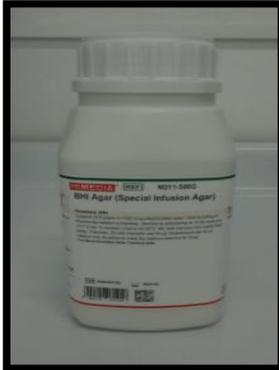


BAÑO TERMOSTÁTICO

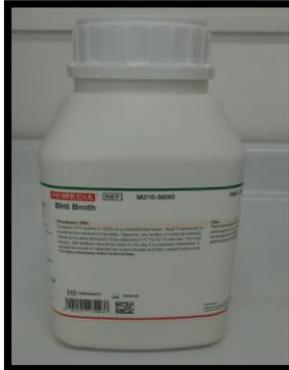


MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS E INSUMOS

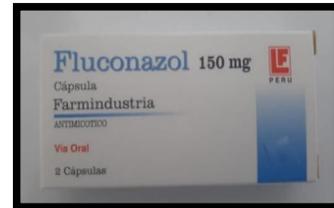
AGAR BHI



CALDO BHI



FLUCONAZOL: ANTIBIÓTICO EMPLEADO EN EL AGAR BHI



CEPA DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 19433



PROPÓLEO SÓLIDO DE ABEJA



DISCOS ANTIBIOGRAMA DE 6MM



**HIDROXIDO DE CALCIO MARCA
"PrevestDenPro"**



**EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO AL
30%**



HIDROXIDO DE CALCIO AL 70% MÁS



**HIDROXIDO DE CALCIO AL 70% MÁS
EXTRACTO DE PROPÓLEO AL 30%**



ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO

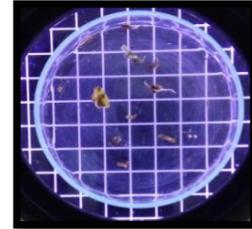
**MATERIA PRIMA:
PROPOLEO SÓLIDO DE
ABEJA**



**SELECCIÓN DE
PARTICULAS
EXTRAÑAS EN
BANDEJA**



**PARTICULAS 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**



EN EL FRASCO ÁMBAR CN PROPÓLEO TRITURADO, SE AÑADE 111 ML DE ALCOHOL 96% Y SE MANTIENE EN REPOSO DURANTE 2H, CONCLUIDO 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.

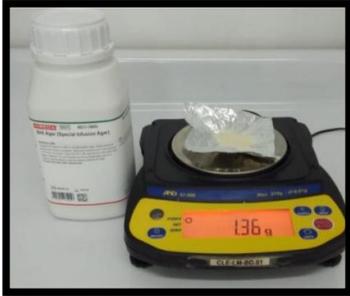


MACERACIÓN DE PROPÓLEO:

FILTRADO: TERMINADO EL PROCESO DE MACERACIÓN, LA SOLUCIÓN ETANÓLICO SOBRENADANTE SE DECANTA CUIDADOSAMENTE Y SE FILTRAN PREVIAMENTE A TRAVÉS DE PAPEL DE FILTRACIÓN RÁPIDA.

PREPARACION DEL AGAR SANGRE E INOCULACIÓN DE LAS PASTAS EXPERIMENTALES

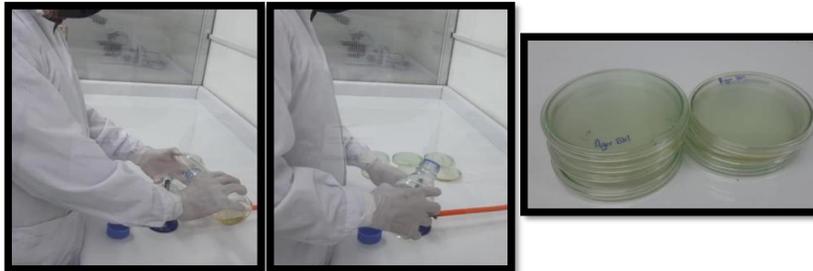
PESAJE DEL AGAR BHI



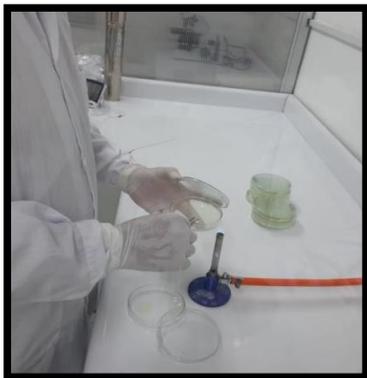
LUEGO EL FRASCO DE AGAR BHI (COLOR ÁMBAR) SE AUTOCLAVA Y SE ESTABILIZA LA TEMPERATURA DEL AGAR BHI (A 45°C) EN BAÑO TERMOSTATO ANTES DE SU COMBINACIÓN CON 100ML DE FLUCONAZOL A 0.15% Y SU TRASLADO EN PLACAS PETRI.



TRASLADO DEL AGAR BHI A LAS PLACAS PETRI, EN ESTERILIDAD, CON EL MECHERO DE BUNSEN



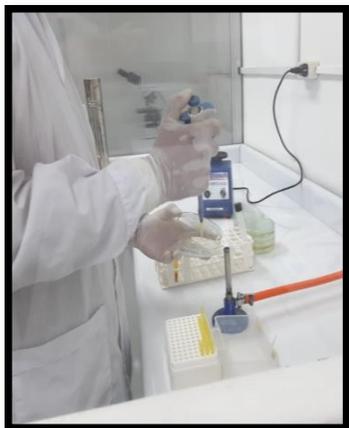
COLOCACIÓN DE LOS DISCOS EN LAS PLACAS CULTIVADAS CON *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ATCC 19433 CON PINZA ESTÉRIL.



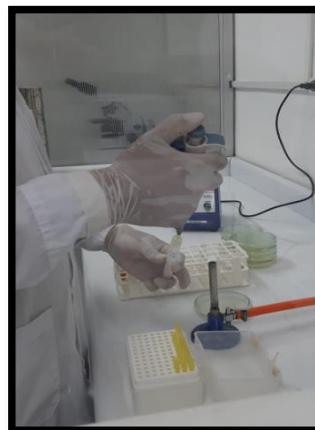
INOCULACIÓN DE EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO AL 30%



**INOCULACIÓN DE EXTRACTO
ETANÓLICO DE PROPÓLEO AL 30% MÁS
HIDRÓXIDO DE CALCIO AL 70%**



**INOCULACIÓN DE HIDRÓXIDO
DE CALCIO AL 70%**



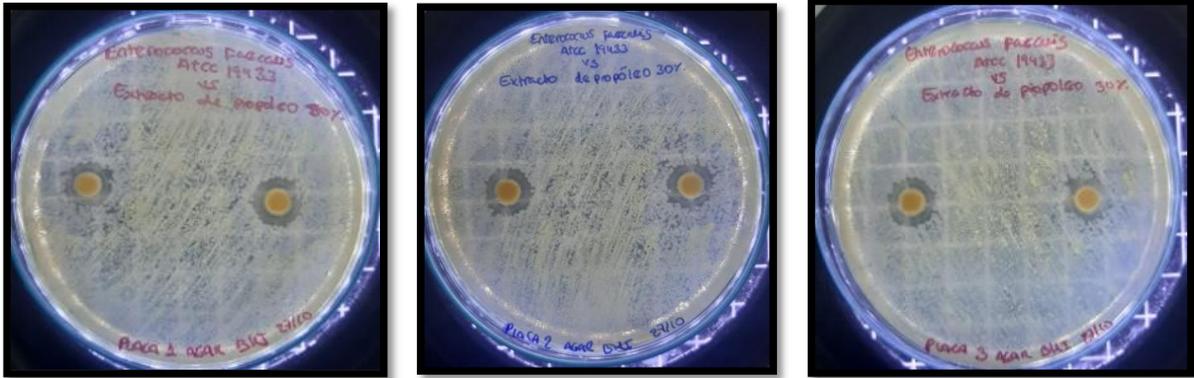
**COLOCACIÓN DE LAS PLACAS PETRI CON
AGAR BHI INOCULADAS CON *ENTEROCOCCUS
FAECALIS* Y CON LOS DISCOS ANTIBIOGRAMA
CONTENIENDO LAS SUSTANCIAS DE PRUEBA
EN LA INCUBADORA A 37°C DURANTE 24 Y 48
HORAS.**



LECTURA DE RESULTADOS

DESPUÉS DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN, LAS PLACAS PETRI SE SACAN DE LAS JARRAS DE ANAEROBIOISIS 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 *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

PLACAS PETRI INOCULADOS CON EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO AL 30%



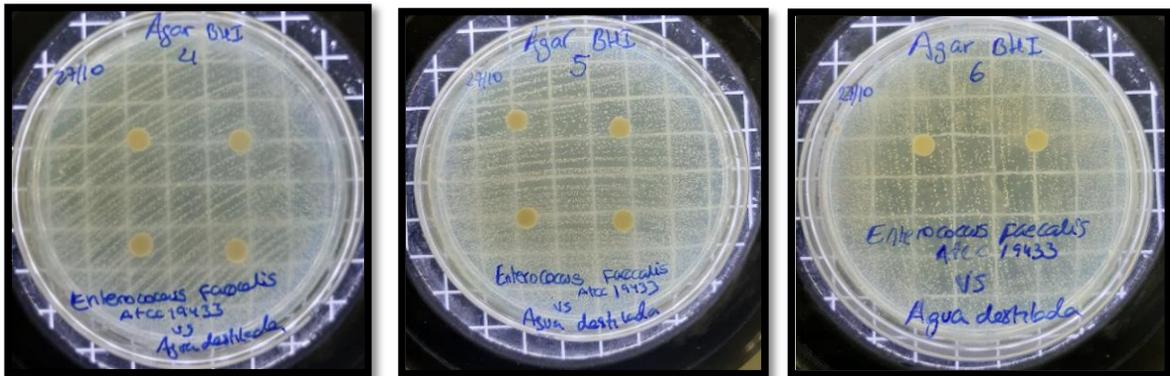
PLACAS PETRI CON DISCOS ANTIBIograma INOCULADOS CON EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO AL 30% MÁS HIDRÓXIDO DE CALCIO AL 70%



PLACAS PETRI CON DISCOS ANTIBIOGRAMA INOCULADOS CON HIDRÓXIDO DE CALCIO AL 70%



PLACAS PETRI CON DISCOS ANTIBIOGRAMA INOCULADOS CON AGUA DESTILADA (CONTROL NEGATIVO)



Anexo 6

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Solución In Vitro	Halo de inhibición frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 a las 24 y 48 horas en agar BHI							
Nº Réplica de disco antibiograma	M1: Extracto etanólico de propóleo al 30 %		M2: Hidróxido de calcio 70%		M3: Propóleo al 30% e Hidróxido de calcio 70%		M4: Agua Destilada (Control Negativo)	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								

Anexo 07

INFORME DE ENSAYO DEL LABORATORIO SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.



INFORME DE ENSAYO Nº SQ211102.01

SOLICITUD DE ENSAYO : SQE 210920.01
SOLICITANTE : PEREZ LLANTOY, LINDA KATHERINE
DIRECCIÓN DEL SOLICITANTE : ---
PROCEDENCIA DE LA MUESTRA : Proporcionado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C.
PROCEDIMIENTO DE MUESTREO : No aplica
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA : M1: Extracto etanólico de propóleo al 30% ⁽¹⁾
 M2: Hidróxido de Calcio 70%⁽¹⁾
 M3: Propóleo al 30% e Hidróxido de Calcio 70%⁽¹⁾
 M4: Agua destilad. Marca: "Matraz.pe"
CANTIDAD Y DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA : M1: Una (01) unidad de 220mL
 M2: Una (01) unidad de 5mL
 M3: Una (01) unidad de 5mL
 M4: Una (01) unidad de 4L
LUGAR, FECHA Y HORA DE MUESTREO : No aplica
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN : 20 de septiembre del 2021/ 17:00h
CONDICIONES A LA RECEPCIÓN : Temperatura ambiente
TÉRMINO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE PRÓPOLIS AL 30% : 07 de octubre del 2021
ENSAYOS PRELIMINARES : 07 al 26 octubre del 2021
FECHA DE INICIO DEL ANÁLISIS : 27 de octubre del 2021
FECHA DE TÉRMINO DEL ANÁLISIS : 29 de octubre del 2021
FECHA DE EMISIÓN : 02 de noviembre del 2021



RESULTADOS DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO: ANTIBIOGRAMA

Nº Réplica de disco antibiograma	Halo de inhibición frente <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 (*) en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas en agar BHI							
	M1: Extracto etanólico de propóleo al 30%		M2: Hidróxido de calcio 70%		M3: Propóleo al 30% e Hidróxido de calcio 70%		M4: Agua Destilada (Control negativo)	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
1	12,7	13,1	7	8	11,4	12	0	0
2	14,3	14,9	6,4	6,5	11,1	11,6	0	0
3	12,3	12,8	6,4	8	11,7	12,3	0	0
4	13,4	14,1	7,8	8	7,1	7,3	0	0
5	13,1	13,5	9	9,5	7,8	8	0	0
6	14,0	14,6	7	7,5	8,8	10	0	0
7	12,5	13,0	6	6,4	7,7	8	0	0
8	13,8	14,5	8,5	9	7,4	7,7	0	0
9	11,9	12,6	7	8,4	9	10,3	0	0
10	13,1	13,4	6,2	6,5	9,5	9,8	0	0
11	12,7	13,2	6,1	6,4	7,5	7,8	0	0
12	14,1	14,9	7	7,7	7,5	8	0	0
13	12,2	12,6	7,4	7,8	6,8	7	0	0
14	13,5	14,1	7,6	8	6,3	6,6	0	0
15	12,2	12,7	7	7,4	6,4	6,5	0	0
16	13,4	14,1	6,4	6,7	6,3	6,4	0	0

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). 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 lo produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe, sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. La adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales y civiles en la materia.

INFORME DE ENSAYO Nº SQ211102.01

17	12,7	13,4	6,3	6,3	6,4	6,6	0	0
18	13,9	14,6	6,1	6,3	6,3	6,5	0	0
19	13,2	13,8	6,3	6,3	7	7,4	0	0
20	14,2	15,1	11,8	11,8	7,2	7,4	0	0
21	12,9	13,4	8	8,3	7	7,2	0	0
22	14,1	14,6	8,4	8,3	7,4	7,9	0	0
23	10,9	11,4	7,1	7,3	7,0	7,3	0	0
24	6,5	10,1	5,4	6,1	6,9	7,1	0	0
25	13,6	11,2	6,7	7,1	7,6	7,9	0	0

MÉTODOS DE ENSAYO	
ENSAYOS	NORMA DE REFERENCIA
ANTIBIOTIGRAMA	SQLE-001, Técnica de Kirby-Bauer, Método de disco de dilución en agar.

OBSERVACIONES:

- (1) El Extracto etanólico de propóleo al 34% fue elaborado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., el cual empleo como materia prima el propóleo de abeja en sódico proporcionado por el solicitante y alcohol de 95° de elaboración farmacéutica comercial.
- (2) El Hidróxido de Calcio 70% fue elaborado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. el cual empleo como insumo Hidróxido de calcio en polvo, Marca "PREVESTDenPro" (Lote: 1942005, F.V: 2023-06) proporcionado por el solicitante y agua desionada.
- (3) La solución de extracto etanólico de propóleo al 30% e Hidróxido de Calcio 70% fue elaborado por el laboratorio SCIENTIFIC QUALITY S.A.C. por la combinación de 50% de cada sustancia de prueba.
- (4) Concentración de *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 es de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. (Estándar de turbidez de McFarland N°0,5).

El presente documento reemplaza en su totalidad al informe de ensayo NºSQ211030.01, emitido en fecha 30-10-2021, por inclusión de resultados experimentales.



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

Los resultados de los ensayos corresponden solo a la(s) muestra(s) ensayada(s). Los resultados no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas de producción o como certificado del sistema de calidad de la entidad que o produce. Queda prohibida la reproducción parcial o total del presente informe sin la autorización escrita por SCIENTIFIC QUALITY S.A.C., la adulteración o uso indebido del presente informe constituye un delito contra la fe pública y se regula por las disposiciones penales vigentes en la materia.

Anexo 08

INFORME DEL ASESOR DE TURNO



INFORME DEL ASESOR

Lima, 2 de marzo de 2022

Dra. Brenda Vergara Pinto

Directora de la EAP de Odontología
Presente.-

De mi especial consideración:

Es grato expresarle un cordial saludo y como Asesor de la Tesis titulada: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL PROPOLEO Y SU COMBINACION CON EL HIDROXIDO DE CALCIO SOBRE EL ENTEROCOCCUS FAECALIS. ESTUDIO IN VITRO 2021", desarrollada por la egresada Linda Katherine Perez Llantoy; para la obtención del Grado/Título Profesional de Cirujano Dentista; ha sido concluida satisfactoriamente.

Al respecto informo que se lograron los siguientes objetivos:

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de Enterococcus Faecalis ATCC 19433.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de Enterococcus Faecalis ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de Enterococcus Faecalis ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de Enterococcus Faecalis ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de Enterococcus Faecalis ATCC 19433 a las 24 y 48 horas.

Atentamente,

Firma del Asesor

Mg. Dina Vilchez Bellido

Anexo 09

INFORME TURNITIN

Tesis			
INFORME DE ORIGINALIDAD			
12%	12%	1%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
FUENTES PRIMARIAS			
1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	2%	
2	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	2%	
3	1library.co Fuente de Internet	1%	
4	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	1%	
5	creativecommons.org Fuente de Internet	1%	
6	repositorioacademico.upc.edu.pe Fuente de Internet	1%	
7	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1%	
8	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%	
9	Submitted to Universidad Tecnológica de los Andes Trabajo del estudiante	<1%	
10	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%	
11	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%	
12	es.slideshare.net Fuente de Internet	<1%	
13	www.redalyc.org Fuente de Internet	<1%	
14	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	<1%	
15	recima21.com.br Fuente de Internet	<1%	
16	rcientificas.uninorte.edu.co Fuente de Internet	<1%	
17	Submitted to Universidad Wiener Trabajo del estudiante	<1%	
18	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1%	
19	repositorio.upci.edu.pe Fuente de Internet	<1%	

Anexo 10

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL PROPÓLEO Y SU COMBINACIÓN CON EL HIDRÓXIDO DE CALCIO SOBRE EL *ENTEROCOCCUS FAECALIS*. ESTUDIO IN VITRO 2021

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variabes e Indicadores	Metodología	Resultados	Conclusiones
<p>Problema principal:</p> <p>¿Cuál es la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433?</p>	<p>Objetivo general:</p> <p>Determinar la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo y su combinación con el hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.</p>	<p>Hipótesis principal:</p> <p>Hi: Existe efectividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.</p> <p>Ho: No existe efectividad antibacteriana del extracto de propóleo y de su combinación con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.</p>	<p>Variable Independiente:</p> <p>Las pastas antibacterianas, en la endodoncia, son utilizadas para la reducción de colonias bacterianas dentro de los conductos radiculares, siendo estas causas principales de los estados de necrosis pulpar y las lesiones periapicales</p> <p>Indicador: Solución preparada por un experto.</p>	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Aplicado.</p> <p>Método de Investigación:</p> <p>Hipotético Deductivo.</p> <p>Diseño de la Investigación:</p> <p>Experimental In Vitro y longitudinal.</p> <p>Población y Muestra:</p> <p>La muestra estuvo conformada por cultivos bacterianos de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433, divididos en 4 grupos, donde 3 grupos corresponden a las 3 pastas experimentales (Hidróxido de calcio “PrevestDenPro” al 70%,</p>	<p>Según la tabla 2, se puede observar que los valores obtenidos tanto del mínimo, máximo y media del conjunto de resultados de las sustancias de prueba son mayores y difieren de cero, por lo cual, se puede decir que las tres sustancias de prueba tienen actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433. Por otro lado, se puede concluir que, según los valores de desviación estándar obtenido de cada grupo de resultados, el conjunto de resultados que tiene mayor dispersión con respecto a la media es el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las</p>	<p>El extracto de propóleo, el hidróxido de calcio y la combinación hidróxido de calcio más extracto de propóleo tienen actividad antibacteriana frente al <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433, siendo el extracto de propóleo al 30% quien exhibió una actividad antibacteriana superior.</p>

Problemas específicos:	Objetivos específicos:	Hipótesis específicas:	Variable Dependiente:			
¿Cuál será la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433?	Determinar la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.	Existe efectividad antibacteriana del extracto de propóleo sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.	La actividad antibacteriana, es la capacidad de un fármaco o sustancia de lograr su objetivo, el cual es eliminar el desarrollo o la presencia de una bacteria, en el caso in vitro mostrará halos de inhibición mostrando el grado de capacidad bacteriana de la pasta experimental evaluada Indicador: Halos de inhibición	Extracto de Propóleo al 30%, Hidróxido de calcio “PrevestDenPro” al 70% más propóleo al 30%) y 1 grupo adicional como control negativo. Para obtener el tamaño muestral se utilizó la fórmula para hallar una media. Obteniéndose que el tamaño para cada grupo será de 25 muestras de cultivo bacteriano de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433. Criterios de Inclusión: Cultivos de bacterias <i>Enterococcus faecalis</i> provenientes de la cepa ATCC 19433. Empleo de extracto de propóleo al 30% de concentración, proveniente de los apiarios localizados en la localidad peruana de Oxapampa del área de Pasco. Uso de hidróxido de calcio químicamente puro de la marca “PrevestDenPro” al 70 %. Criterios de Exclusión: Cultivos contaminados con otras bacterias u hongos.	48 horas y el conjunto de resultados que presenta la menor dispersión con respecto a la media es el extracto de propóleo a las 24 horas. Según la Figura 1 , se puede observar la diferencia de las medias de los resultados de los halos de inhibición del extracto de propóleo al 30% de concentración, hidróxido de calcio, hidróxido de calcio más extracto de propóleo y agua destilada frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433 en milímetros (mm) a las 24 y 48 horas de incubación en agar BHI, notándose que la actividad antibacteriana que presentó el extracto de propóleo al 30% fue superior al del hidróxido de calcio y a la combinación de ambas, a las 24 y 48 horas, sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433. Según la tabla 3 , se puede observar que el extracto de propóleo 30% presenta como medias de los halos de inhibición 12,848 mm a las 24 horas y 13,428 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a	El extracto de propóleo 30% presentó como medias de los halos de inhibición 12,848 mm a las 24 horas y 13,428 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433. El hidróxido de calcio presentó como medias de los halos de inhibición 7,164 mm a las 24 horas y 7,664 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433. La combinación del hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% presentó como
¿Cuál será la efectividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433?	Determinar la efectividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.	Existe efectividad antibacteriana del hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.				
¿Cuál será la efectividad del extracto de propóleo combinado con el hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433?	Determinar la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.	Existe efectividad antibacteriana del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.				

<p>¿Cuál es la diferencia de la efectividad antibacteriana entre el extracto de propóleo, el hidróxido de calcio, y el extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433?</p>	<p>Comparar la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.</p>	<p>Existe diferencia estadísticamente significativa entre la efectividad antibacteriana del extracto de propóleo, el hidróxido de calcio, y el extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433.</p>		<p>Extracto de propóleo de diferente concentración u origen.</p> <p>Hidróxido de calcio de diferente casa comercial o en otra presentación.</p>	<p><i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433.</p> <p>Según la tabla 4, se puede observar que el hidróxido de calcio presenta como medias de los halos de inhibición 7,164 mm a las 24 horas y 7,664 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433.</p> <p>Según la tabla 5, se puede observar que el hidróxido de calcio más extracto de propóleo 30% presenta como medias de los halos de inhibición 7,804 mm a las 24 horas y 8,184 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433.</p> <p>Según la tabla 6, se halló diferencias significativas dentro de las lecturas de los halos de inhibición. Analizados con la prueba de rango con signo de Wilcoxon, a las 24 y 48 horas para cada sustancia de prueba, puesto que los valores de p (sig.)</p>	<p>medias de los halos de inhibición 7,804 mm a las 24 horas y 8,184 mm a las 48 horas, mostrando actividad antibacteriana frente a <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433.</p> <p>Existen diferencias significativas en medio de las lecturas de los halos de inhibición al comparar la actividad antibacteriana del extracto de propóleo, del hidróxido de calcio, y del extracto de propóleo combinado con hidróxido de calcio sobre cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> ATCC 19433 a las 24 y 48 horas, con valores de p menores del nivel de significancia (0.05).</p>
---	---	---	--	---	--	--

					<p>obtenidos son menores del nivel de significancia (0.05).</p> <p>Según la tabla 7, existen diferencias significativas (p-valor (sig.) menor a 0.05) entre las lecturas de los halos de inhibición, (Datos analizados con la prueba de U de Mann Whitney) para las sustancias de prueba de extracto de propóleo e hidróxido de calcio (sig: 0.00), y también para el hidróxido de calcio más extracto de propóleo y el extracto de propóleo (sig: 0.00) a las 24 y 48 horas. No hubo diferencia significativa en la comparación de pares del hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las 24 (sig: 0.080), ni a las 48 horas (sig: 0.484).</p>	<p>Existen diferencias significativas (p-valor (sig.) menor a 0.05) entre las lecturas de los halos de inhibición, para las sustancias de prueba de extracto de propóleo e hidróxido de calcio (sig: 0.00), y para el hidróxido de calcio más extracto de propóleo y el extracto de propóleo (sig: 0.00) a las 24 y 48 horas, pero no hubo diferencia significativa en la comparación de pares del hidróxido de calcio y el hidróxido de calcio más extracto de propóleo a las 24 (sig: 0.080), ni a las 48 horas (sig: 0.484).</p>
--	--	--	--	--	---	---

