

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



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

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

**EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL PROPÓLEO E HIPOCLORITO DE
SODIO FRENTE A *Enterococcus faecalis* AMAZONAS 2022.**

Autora: Bach. Susan Yesabel Bustamante Visalot

Asesores: Dra. Carla María Ordinola Ramírez

Mg. Erikson Alexander Jimenez Torres

Ms.C. Julio Mariano Chávez Milla

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS - PERÚ

2023

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



ANEXO 3-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Bustamante Visalot Susan Yesabel
DNI N°: 73586599
Correo electrónico: 7358659932@untrm.edu.pe
Facultad: Ciencias de la Salud
Escuela Profesional: Estomatología

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Facultad: _____
Escuela Profesional: _____

2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo e hipoclorito de sodio frente a Enterococcus faecalis Amazonas 2022.

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Ordinola Ramírez Carla María.
DNI, Pasaporte, C.E N°: 78131989
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) https://orcid.org/0000-0001-9146-0894

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: _____
DNI, Pasaporte, C.E N°: _____
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) _____

4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

https://catalogos.concytec.aob.pe/vocabulario/ocde_ford.html
3.00.00 - Ciencias Médicas, Ciencias de la Salud

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 27 de Febrero, 2023


Firma del autor 1

Firma del autor 2


Firma del Asesor 1

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

“A mis padres, Walter y Dolores por ser la fuente inagotable de mi inspiración, a quienes les debo todo y de quienes aprendí la disciplina, perseverancia, gratitud y humildad; a mis hermanas Cheryl, Merly y Gabriela quienes me muestran cada día que soy capaz de conquistar mis más grandes sueños; a mi abuelito y mi querida ti abuela quienes con su ternura animaron siempre mis días grises y para el recuerdo de aquellos que partieron, pero me dejaron incontables alegrías”

¡Disfruten este momento tanto como yo!

AGRADECIMIENTO

A la gracia incommensurable de Dios por la cual celebro y disfruto cada día de mi vida junto a mis seres queridos. ¡Gracias por dárme todo!

A mis asesores la Dra. Carla María Ordinola Ramírez, Mg. Erikson Alexander Jiménez Torres y Ms.C. Julio Mariano Chávez Milla quienes con su guía estuvieron presente en todo momento del desarrollo de esta tesis mostrándome que se debe disfrutar del proceso y celebrar los pequeños avances.

Al C.D. Nestor Arturo Tafur Chávez a quien es propicio mostrar mi sincera gratitud por el acompañamiento, pautas e indicaciones en el proceso de elaboración del presente informe de tesis.

Al decano de la Facultad de Ciencias de la Salud Dr. Yshoner Antonio Silva Díaz por brindarme la facilidad del uso de los ambientes de laboratorio para la ejecución de esta tesis, así mismo al personal que labora en los laboratorios de la FACISA y la FICA por su apoyo y amabilidad de servicio brindándome los insumos, equipos, instrumentos de laboratorio cuando fueron necesarios.

A cada uno de los docentes y compañeros que he conocido durante mi formación académica, gracias por compartir y enriquecer siempre el conocimiento,

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Ph.D. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA
Rector

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES
Vicerrector Académico

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA
Vicerrectora de Investigación

Dr. YSHONER ANTONIO SILVA DÍAZ
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud

VISTO BUENO DE LA ASESORA DE LA TESIS



ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional exterior (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Efecto antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo e hipoclorito de sodio frente a Enterococcus faecalis Amazonas 2022. del egresado Susan Yesabel Bustamante Visalot de la Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Estomatología de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 12 de diciembre de 2022


Firma y nombre completo del Asesor,
Dra. Carla María Ordinola Ramírez.

JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



Dr. Oscar Pizarro Salazar
Presidente



Mg. Carlos Alberto Farje Gallardo
Secretario



Mg. Oscar Joel Oc Carrasco
Vocal

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

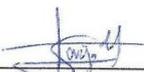
Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Efecto Antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo e
hipoclorito de Sódica frente a enterococos fecales Amuzgos 2022
presentada por el estudiante ()/egresado (x) Susan Yesabel Bustamante Kvalot
de la Escuela Profesional de Estomatología
con correo electrónico institucional 7358659932@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 14 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (x) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 23 de Diciembre del 2022


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



ANEXO 3-S

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 24 de febrero del año 2023, siendo las 11:00 horas, el aspirante: Susan Yesabel Bustamante Usalot, asesorado por Carla María Ordóñez Ramírez Góceson Torres Torres Julia Patricia Chauz Hill, defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: EFEECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL PROPOLEO E HIPOCLORITO DE SODIO FRENTE A ENTEROCOCCUS FAECALIS AMAZONAS 2022, para obtener el Título Profesional de CIRUJANO DENTISTA, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Dr. Oscar Pizarro Salazar
Secretario: Mg. Carlos Alberto Farje Gallardo
Vocal: Mg. Oscar Joel De Carrasco

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

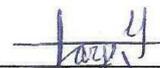
Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:00pm horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DE LA ASESORA DE LA TESIS	vi
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	vii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	ix
ÍNDICE O CONTENIDO GENERAL	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRAC	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	16
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
III. RESULTADOS	37
IV. DISCUSIÓN	48
V. CONCLUSIONES.....	52
VI. RECOMENDACIONES	53
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) al 30% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.....	37
Tabla 2.	Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) al 70% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.....	39
Tabla 3.	Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) al 100% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.....	41
Tabla 4.	Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) en sus tres concentraciones al 30%, 70% y 100% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.....	43
Tabla 5.	Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de propóleo (EEP) al 30%, 70% y 100% en las cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> frente al hipoclorito de sodio (NaClO) al 4%.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema de elaboración del extracto etanólico de propóleo.....	27
Figura 2.	Esquema de la recolección de muestra biológica.....	29
Figura 3.	Esquema del cultivo, identificación y resembrado bacteriológico.....	31
Figura 4.	Esquema de las pruebas de sensibilidad.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Fichas de recolección de datos.....	59
Anexo 2.	Consentimiento informado.....	61
Anexo 3.	Fotografías.....	62
Anexo 4.	Tablas de las pruebas estadísticas.....	73

RESUMEN

La presente investigación fue de tipo experimental-comparativa, de enfoque cuantitativo, observacional *in vitro*, prospectiva, analítica y longitudinal, cuyo objetivo principal fue: Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de propóleo (EEP) e hipoclorito de sodio (NaClO) frente a cepas aisladas de *Enterococcus faecalis* a partir de dientes con necrosis pulpar, la muestra se conformó de 08 placas Petri con cepas bacterianas de cultivos puros de *Enterococcus faecalis* a partir de las cuales se conformó 4 grupos para la aplicación del principio activo. Se preparó el EEP mediante el método de macerado, se filtró y diluyó a concentraciones deseadas (30%, 70% y 100%), luego se aisló la bacteria, se cultivaron las cepas y se identificó la especie *faecalis*, al obtener la cantidad de cepas deseadas se realizaron las pruebas de sensibilidad empleando el EEP 30%, 70% y 100% e NaClO 4%, realizado el antibiograma se procedió a incubar para los controles de lectura de placas a las 12, 24, 48 y 72 horas. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente empleando la prueba de ANOVA y Post Hoc. Los resultados obtenidos denotaron que el NaClO 4% generó mayor efecto antimicrobiano frente a *E. faecalis* seguido del EEP 30%, mientras que el EEP 70% y EEP 100% no presentaron diferencias significativas en el efecto generado, por tanto, se concluye que el EEP si genera efecto antimicrobiano, pero no supera al efecto generado por NaClO frente a *Enterococcus faecalis*.

Palabras clave: Efecto antimicrobiano, *Enterococcus faecalis*, extracto etanólico de propóleo, hipoclorito de sodio.

ABSTRAC

The present investigation was of an experimental-comparative type, with a quantitative approach, observational in vitro, prospective, analytical and longitudinal, whose main objective was: To evaluate the antimicrobial effect of the ethanolic extract of propolis (EEP) and sodium hypochlorite (NaClO) against isolated strains of *Enterococcus faecalis* from teeth with pulp necrosis, the sample was made up of 08 Petri dishes with bacterial strains of pure cultures of *Enterococcus faecalis* from which 4 groups were formed for the application of the active principle. The EEP was prepared by the maceration method, filtered and diluted to the desired concentrations (30%, 70% and 100%), then the bacterium was isolated, the strains were cultivated and the *faecalis* species was identified, obtaining the amount of Desired strains, sensitivity tests were carried out using 30%, 70% and 100% EEP and 4% NaClO. Once the antibiogram was carried out, we proceeded to incubate for the plate reading controls at 12, 24, 48 and 72 hours. The data obtained were statistically analyzed using the ANOVA and Post Hoc test. The results obtained denoted that 4% NaClO generated a greater antimicrobial effect against E. faecalis followed by 30% EEP, while 70% EEP and 100% EEP did not present significant differences in the effect generated, therefore it is concluded that EEP if it generates an antimicrobial effect but does not exceed the effect generated by NaClO against *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Antimicrobial effect, *Enterococcus faecalis*, ethanolic extract of propolis, sodium hypochlorite.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad las enfermedades de la cavidad oral tienen una gran prevalencia a nivel mundial, la caries dental y las patologías pulpares que se producen a raíz de la misma son enfermedades que no distingue ni género ni edad ya que la gran mayoría de las personas a padecido de ellas al menos una vez durante toda su vida. (OMS, 2020). Los procesos cariosos se generan por el desequilibrio en la carga microbiana bucal a partir de la cual se desencadenan patologías pulpares, según la clasificación de la AAE del 2009 hace mención que en una patología como la necrosis de la pulpa existe la muerte del tejido pulpar, de tal manera que las pruebas de vitalidad pulpar marcan como negativas, por ello existe ausencia de dolor y sensibilidad a excepción de algunas piezas multirradiculares que vagamente podrían presentar fibras nerviosas que conduzcan leves impulsos sensoriales, se evidencia un cambio de color a nivel de la corona tornándose al paso del tiempo de color opaca (parda), podría presentar en algunos casos exposición pulpar en los que se evidencie visiblemente algún conducto radicular en contacto con la cavidad bucal directamente (como se citó en Sagñay, 2020)

La especialidad de endodoncia en la actualidad ha cobrado gran relevancia ya que nos permite realizar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas afecciones pulpares gracias a la eliminación de los microorganismos causantes de la infección, restos pulpares, material inorgánico mediante técnicas de instrumentación y preparación biomecánica del conducto radicular las cuales se acompañan de la irrigación con sustancias que poseen capacidad antimicrobiana para posteriormente sellar el conducto radicular previamente preparado con una sustancia biocompatible de esta forma mantener la pieza dentaria en boca.

Desde mucho tiempo es de conocimiento que la infección y muerte del tejido pulpar se ocasiona por la exposición y presencia de microorganismos y gérmenes en la cavidad pulpar, hecho que se fundamenta en los estudios realizados por Kakehashi (1965) quien realizó un experimento que consistía en realizar una cavidad que comprometiera la pulpa en molares de ratas, a un grupo se le realizó cavidades que comprometieran la pulpa y se mantuvieron expuestas pero sin contacto con microbiota contaminada y en otro grupo estas cavidades fueron expuestas a una carga microbiana proveniente de la cavidad bucal de otros ratones, Kakehashi pudo observar que en las cavidades expuestas pero sin contacto con microorganismos

bacterianos la pulpa conservaba su vitalidad caso contrario sucedió en las cavidades expuestas a cargas microbianas en las que se observó una diseminación de un proceso infeccioso por todo el conducto radicular generando un cuadro de necrosis pulpar y lesiones periapicales, que eran evidentes clínicamente y radiográficamente, este estudio como muchos otros evidencian la relación que existe entre el desarrollo de las patologías pulpares y la presencia de microorganismos dentro del conducto radicular. (Como se citó en Castro 2018). Debido a estos estudios se determina que mientras exista un daño pulpar más pronunciado y evidente la existencia de bacterias anaerobias será más prevalente en las necrosis pulpares.

La necrosis pupar se define como la ausencia de sensibilidad en el nervio o la muerte del mismo que puede ser parcial o total, esta patología se desencadena a partir de una afectación primaria de la pulpa a causa de la presencia y colonización de bacterias debido a un desequilibrio dentro del microbiota oral normal acompañada por la acumulación de detritus alimenticios. (Vilchis, et al 2018).

Aquellos microorganismos que se encuentran de forma libre dentro de los conductos radiculares se consideran más sencillos al momento de su eliminación en un tratamiento de conductos, mientras que los que logran formar adherencia en las paredes dentinarias se consideran con mayor dificultad para su remoción por ello la utilización de sustancias irrigantes que generen efecto antimicrobiano es de vital importancia (Ávila, et.al 2017).

A lo largo del tiempo diversos estudios se han enfocado en la determinación de los microorganismos que son los causantes de las patologías pulpares como necrosis pulpar o periodontitis apical, en los que se ha encontrado que los microorganismos causantes de dichas patologías pueden estar solos o formando asociaciones dentro del conducto radicular motivo por el cual su eliminación resulta de mayor complejidad. Los microorganismos que se encuentran dentro del conducto radicular por un proceso de inflamación y necrosis de los tejidos pulpares suelen ser en su mayoría microorganismos anaeróbicos facultativos entre los cuales encontramos a los del género *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella nigrescens*, *Porphyromonas endodontalis* y *Porphyromonas gingivallis*. (López, et al 2017). De este grupo de bacterias presentes en el conducto radicular se considera al género *Enterococcus* con su especie *faecalis* como aquel

patógeno que es el causante de las infecciones pulpares, produciendo infección dentro del conducto radicular o fuera de él afectando a los tejidos periapicales, además se considera a este microorganismo como una de las bacterias con más resistencia a los agentes químicos que se emplean para la desinfección de los conductos radiculares en un tratamiento endodóntico. (Alghamdi 2020)

Los *Enterococcus faecalis* son bacterias patógenas que según su forma se encuentran dispuestos en cocos formando cadenas cortas, según su tinción son gram positivos, tienen la capacidad de adaptarse y sobrevivir en medios con ausencia de oxígeno de allí su denominación de anaeróbicas facultativas. (Alghamdi 2020). Se encuentran en su mayoría dentro del tracto gastrointestinal siendo esta su hábitat natural, durante la eliminación de las sustancias de desecho llegan hasta el tracto genital, se presume que de allí a través de la contaminación con las manos, alimentos e higiene deficiente llegan a formar parte de la microbiota de la cavidad bucal de tal manera que cuando hay exposición pulpar en las piezas dentarias este microorganismo coloniza y se adhiere a las superficies, ingresa por los túbulos dentinarios y se instaura dentro de los conductos radiculares y junto a otros microorganismos es el causal de los procesos infecciosos. (Moya 2021)

En 1930 Rebeca Lancefield clasificó a los *Enterococcus* dentro del grupo D de la clasificación de los *Streptococcus* y para determinar la especie Lancefield estudió el tipo de hemólisis que generaban al crecer en agar sangre (Lancefield, 1932). Se estableció así tres grupos los que generaban hemólisis tipo Beta (β) estos presentaban hemólisis total de los eritrocitos dando un halo de color blanquecino, los *Enterococcus* alfa (α) hemolíticos con una hemólisis parcial de los eritrocitos generando así un halo de color verde y los Gamma (γ) hemolíticos aquellos que no generaban hemólisis por ende el halo que producían era transparente dejando notar solamente las colonias, Lancefield clasificó dentro del grupo de los gamma (γ) hemolíticos a los *Enterococcus* de la especie *faecalis*. (Como se citó en Pulido 2020).

Se relaciona a *Enterococcus faecalis* con la mayoría de los fracasos de tratamientos endodónticos (Prada 2019). Las enzimas convertidoras angiotensina y la serina proteasa son las responsables de la capacidad de adherencia a las superficies de los tejidos dentarios que posee *Enterococcus faecalis*, capacidad por la cual se generan

los fracasos en los tratamientos endodónticos ya que la remoción por completo de este microorganismo se vuelve complejo. (Moya 2021). Se hace hincapié en la correcta preparación biomecánica de los conductos radiculares, así como la eficaz limpieza y desinfección de los mismos con la finalidad de eliminar a esta bacteria, por ello la correcta irrigación y el empleo del agente adecuados es fundamental para evitar el fracaso en los tratamientos endodónticos.

La irrigación en endodoncia es un procedimiento que consiste en realizar un lavado del conducto radicular empleando una jeringa para depositar la sustancia irrigadora y dejarla actuar por unos segundos para luego aspirar la sustancia y continuar con la secuencia de instrumentación del conducto radicular, las sustancias más empleadas como irrigantes endodónticos son el hipoclorito de sodio (NaClO) en concentraciones de 5,25% generalmente así como al 0,5%; 1%; 2,5% la clorhexidina al 2% también se emplea como irrigante, el EDTA y otras sustancias como el ácido cítrico, agua destilada, suero fisiológico aunque estas últimas no generan ningún efecto antimicrobiano. (Falcón y Guevara 2019). Realizada la conformación, limpieza y desinfección se procede al sellado del conducto radicular con un material biocompatible de manera que se mantiene la pieza dentaria en boca conservando su funcionalidad.

Las soluciones irrigadoras que se emplean durante el tratamiento de conductos requieren ciertas propiedades como ser capaces de causar un efecto bactericida dentro del conducto radicular para reducir al máximo la carga microbiana, así como también la disolución de restos pulpares, la eliminación de las partículas generadas por los instrumentos durante la preparación biomecánica, el irrigante considerado como el gold estándar actualmente es el hipoclorito de sodio ya que reúne las cualidades deseadas. (Marín et al 2019)

Actualmente se considera al hipoclorito de sodio (NaClO) como el irrigante más efectivo para el uso durante un tratamiento endodóntico, esta sustancia compuesta químicamente por iones de cloro, sodio, oxígeno presenta un pH alcalino que oscila entre 11 y 12,5 con capacidad disolutiva de tejido orgánico e inorgánico así como propiedad antimicrobiana, pese a los beneficios que brinda esta sustancia posee también una alta capacidad hemolítica sobre los glóbulos rojos, genera un efecto irritante aún en sus concentración más baja al entrar en contacto con la piel y

mucosas es por ello que su uso en la cavidad bucal debe ser con sumo cuidado ya que este agente irrigante al poseer capacidad disolutiva de tejido orgánico puede llegar a causar lesiones ulcerativas y por necrosis de los tejidos de la mucosa bucal o periapical llegando a ocasionar una complicación más severa como la necrosis hística de los tejidos por una extravasación del irrigante hacia los tejidos periapicales circundantes. (Gómez et al 2018).

Para evitar las complicaciones irritantes o citotóxicas de algunos agentes empleados en medicina y en odontología en la actualidad se busca sustituirlos por sustancias de origen natural derivadas de plantas o productos generados por insectos que poseen cualidades antimicrobianas, antiinflamatorias, cicatrizantes que sea beneficiosas para su empleo en la preservación de la salud.

Perú es un país que posee una gran variedad de recursos naturales y nuestra región Amazonas no es la excepción al poseer gran variedad de plantas medicinales y productos como el propóleo los cuales brindan propiedades beneficiosas para su uso en el área de la salud; el propóleo es un producto de origen natural de consistencia resinosa que es elaborado por las abejas "*Apis Mellifera*" a partir de la recolección de productos y sustancias presentes en arbustos, brotes, flores y yemas de los árboles, el propóleo sirve como mecanismo de protección para las colmenas.(Checalla y Sánchez 2021).

A escala mundial se distingue al propóleo como un producto nativo elaborado por distintas especies de abejas, este producto tiene origen a partir de la mezcla de secreciones glandulares (saliva) producidas por las abejas y sustancias resinosas, gomosas, lipofílicas, mucilaginosas y látex derivadas de los árboles. El propóleo es de consistencia pastosa y de acuerdo a la variedad de plantas y el lugar donde se recolecten las sustancias variarán en diferentes aspectos como en el color obteniendo propóleos rojizos, parduzcos, negros, marrón oscuro e incluso verde, las abejas elaboran este producto como una barrera protectora, para mantenerse exentas de agentes externos (Salamanca et al 2022)

El propóleo posee diversas propiedades beneficiosas para el ser humano, las cuales pueden variar de acuerdo a diversos factores como el clima, la geografía, la biodiversidad de especies de plantas de las que esté rodeada la colmena, las estaciones en las que se recolecte el propóleo entre otras circunstancias; dentro de

las propiedades más conocidas encontramos su capacidad antimicrobiana, antiinflamatoria, cicatrizante, antihipertensivo, antivirales, se están estudiando sus propiedades anticancerígenas, antitumorales y antihepatotóxicas. (Salamanca 2022)

La capacidad antimicrobiana de los propóleos varía de acuerdo al ecosistema donde se desarrollen, un estudio realizado en Colombia demostró que las propiedades antimicrobianas de los propóleos de Nariño- Colombia se veían modificadas o variaban de acuerdo a el clima, la variabilidad de flora y el tiempo en el que se llevaba a cabo la propolinización de las abejas, también concluyó en que existía presencia de fenoles dentro de los componentes principales de los propóleos los que le ofrecían capacidad antimicrobiana, y que su efectividad estaba influenciada por la zona geográfica de la que precedía. (Salamanca et al 2022)

En odontología se realiza investigaciones para determinar cuan efectivo es el propóleo frente a microorganismos presentes en la cavidad oral mediante el uso de extractos, geles, pastas a base de propóleo y comparándolas con medicamentos empleados dentro del conducto radicular o sustancias irrigantes cuyo fin es causar un efecto de desinfección del conducto radicular en tratamientos endodónticos, en uno de estos estudios se determinó que la capacidad antimicrobiana que posee el propóleo frente a *Streptococcus mutans* radica en la capacidad de producir polifenoles y flavonoides quienes son responsables de generar como mecanismo de acción la degradación de la membrana citoplasmática de los microorganismos así como una inhibición en la producción de ácidos nucleicos de microorganismos como *Streptococcus mutans*, *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus* que son microorganismos patógenos esenciales que desencadenan enfermedades bucodentales. (Navarro 2018)

En diversos estudios se determina la sensibilidad generada por los productos naturales mediante la escala de Duraffourd en la que halos $< 8\text{mm}$ se considerarán como sensibilidad nula, los $>8\text{mm}$ y ≤ 14 con una sensibilidad de (+), los que se encuentren siendo >14 pero $<20\text{mm}$ serán muy sensibles (++) y aquellos con un halo $>20\text{mm}$ serán sumamente sensibles (+++). (Morillo y Balseca 2018).

Esta investigación se presenta con un enfoque cuantitativo, de tipo experimental-comparativo, prospectivo, analítico, longitudinal, en la cual surge la iniciativa de estudiar más a fondo una de las propiedades que nos ofrece este producto natural es

por ello que se aborda como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente a cepas aisladas de *Enterococcus faecalis* a partir de dientes con necrosis pulpar, se aborda también evaluar la diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por cada concentración del extracto etanólico del propóleo (EEP) al 30%, 70% y 100% y el hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas y realizar las comparaciones para determinar el tamaño del halo inhibitorio, para lo cual nos guiamos protocolos de aislamiento, cultivo bacteriano y pruebas de sensibilidad (Castro, 2018). Cabe mencionar que la capacidad antimicrobiana de los propóleos depende del ecosistema del que se obtienen, por ello en la presente investigación se empleó propóleo de la Región Amazonas, en este sentido se planteó la siguiente interrogante ¿Cuál es el efecto antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo e hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis*, Amazonas 2022?

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Materiales, equipos y medios de cultivo empleados.

A. Material de laboratorio

- Frasco de vidrio de color oscuro.
- Espátula de metal.
- Tijeras
- Frasco de vidrio boca ancha 500ml
- Frasco de vidrio boca ancha 250ml
- Pipetas de vidrio de 1000 ml
- Mecheros
- Asa de col estéril
- Isopos estériles
- Pinzas de algodón estériles
- Disco de papel filtro #02
- Hipoclorito de sodio (clorox) 4%
- Micropipeta de 10-100 ul
- Puntas para micropipeta de 100 ul
- Probeta de 50 ml y 100 ml
- Bolsas de plástico color negro
- Tubos crioviales de plástico 2 ml
- Conos de papel estériles #20, #25, #30
- Matraz de vidrio de 250 ml y 500 ml
- Placas Petri de vidrio
- Alcohol 96%
- Peróxido de hidrógeno
- Cloruro de sodio (sólido)
- Solución salina
- Guantes descartables
- Equipo de bioseguridad (EPP)
- Láminas portaobjeto

B. Medios de cultivo.

- Agar Base
- Agar Bilis Esculina
- Tioglicolato

C. Equipos

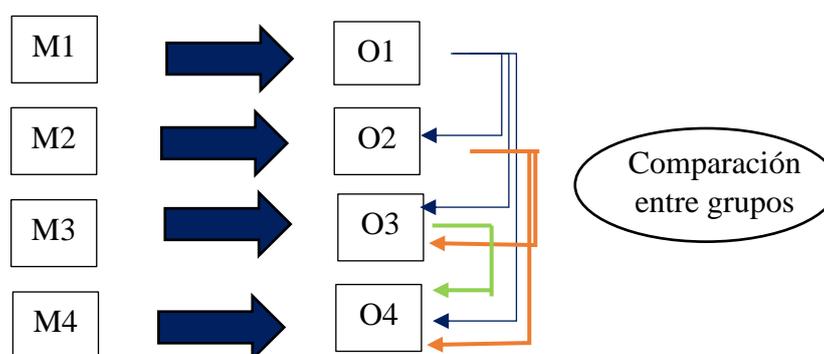
- Cabina de flujo laminar.
- Estufa
- Baño María
- Refrigerador -20°C y 80°C
- Balanza electrónica
- Cocina eléctrica

- Autoclave
- Microscopio

2.2 Enfoque, tipo y diseño de la investigación:

La investigación desarrollada es de tipo experimental – comparativo, con un enfoque cuantitativo, de acuerdo a la intervención de la investigadora observacional – experimental *in vitro*, la recopilación de datos fue prospectivo, analítico y teniendo en cuenta el número de veces en las que la variable fue estudiada se considera longitudinal. (Supo, 2012)

Diseño de la investigación



Donde:

M: Muestra.

O: Observación.

M1: Placas Petri con cultivos de *Enterococcus faecalis* con el principio activo EEP 30%.

M2: Placas Petri con cultivos de *Enterococcus faecalis* con el principio activo EEP 70%.

M3: Placas Petri con cultivos de *Enterococcus faecalis* con el principio activo EEP 100%.

M4: Placas Petri con cultivos de *Enterococcus faecalis* con el principio activo NaClO 4%

O1: Medida de los halos generados en M1.

O2: Medida de los halos generados en M2

O3: Medida de los halos generados en M3

O4: Medida de los halos generados en M4

2.3. Población y muestra.

Población:

Bacterias presentes en dientes con necrosis pulpar.

Muestra:

Compuesta por 08 placas Petri con cepas bacterianas de cultivos puros de *Enterococcus faecalis*.

2.4. Criterios de inclusión y exclusión.

Inclusión:

- Dientes con necrosis pulpar que no hayan sido tratados.
- Propóleo libre de sustancias contaminantes.
- Extracto etanólico de propóleo en concentración de 30%, 70% y 100%.
- Hipoclorito de sodio a concentración del 4%.
- Placas Petri en las que se evidencie crecimiento de la bacteria *Enterococcus faecalis*.
- Placas Petri manipuladas con normas de higiene y bioseguridad.
- Halos de inhibición mayores a 8mm.

Exclusión:

- Dientes con necrosis pulpar que hayan sido tratados anteriormente.
- Propóleo contaminado.
- Concentración alterada del extracto etanólico del propóleo.
- Concentración alterada del hipoclorito de sodio.
- Placas Petri que no evidencien crecimiento de la bacteria *Enterococcus faecalis*.
- Placas Petri que se encuentren fracturadas, defectuosas o contaminadas.

- Halos de inhibición menores a 8mm, incompletos o traslapados.

2.5. Variables de estudio.

Variable Independiente.

Extracto etanólico de propóleo e hipoclorito de sodio.

Variable Dependiente.

Efecto antimicrobiano

2.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

2.6.1. Técnica:

Se empleó como técnica la observación, debido a que la medición de halos de inhibición bacteriana se realizó a las 12 hora, 24 horas, 48 horas y 72 horas a partir de la aplicación de los discos que contenían el principio activo EEP e NaClO.

2.6.2. Instrumento de medición:

- Ficha de recolección de datos: fue elaborada por la investigadora con ayuda de los asesores en base a los objetivos planteados en la investigación.

2.6.3. Protocolo de experimentación:

A. Aspectos éticos.

Se obtuvo el permiso dado por el decano de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas para la ejecución de la investigación y el empleo de los laboratorios.

Se obtuvo el consentimiento informado para la recolección de muestras de dientes con necrosis pulpar.

Los resultados que se han obtenido serán empleados solo para fines de investigación.

B. Recolección de muestras.

▪ Muestra vegetal.

El propóleo en su estado natural fue recolectado al medio día en el CP. San Martín, provincia de Utcubamba y fue transportado en un frasco de vidrio de color oscuro para aislarlo de la luz y conservar sus propiedades.

- **Muestra biológica.**

Las cepas de bacterianas fueron aisladas a partir de dientes con necrosis pulpar, obteniendo cultivos puros de *Enterococcus faecalis*.

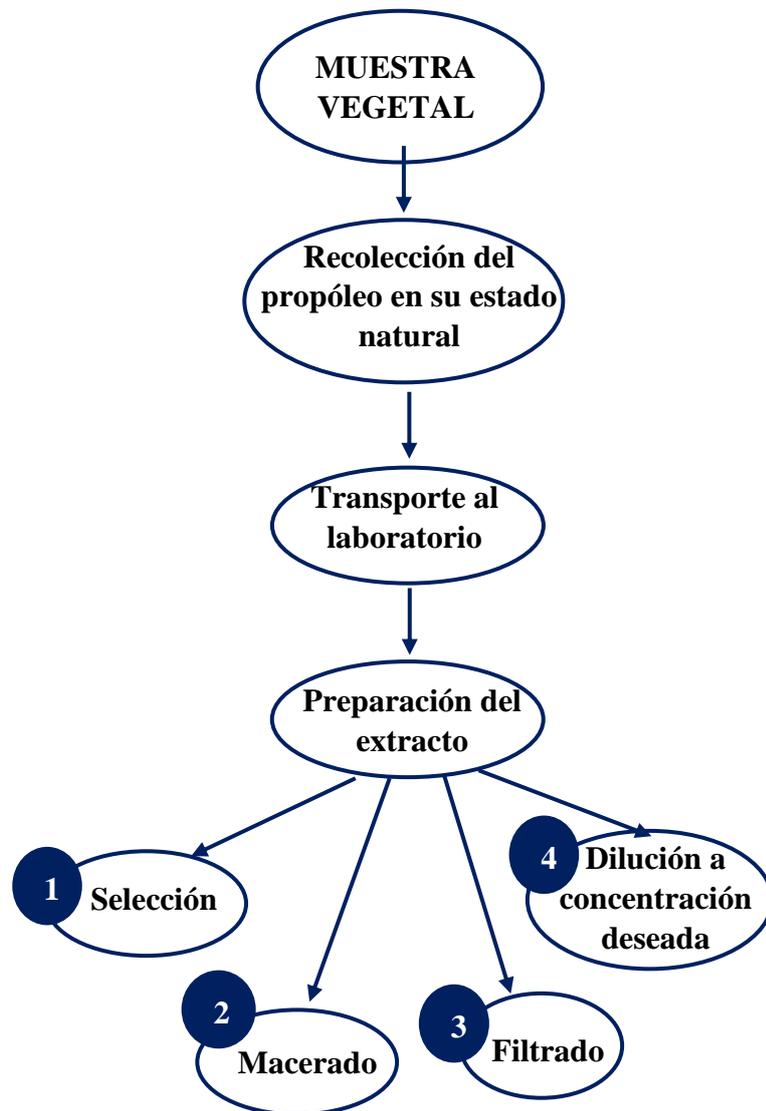
- **Sustancia antimicrobiana.**

Se empleó el hipoclorito comercial de la marca Clorox al 4%.

1. Preparación:

Figura 1

Esquema de elaboración del extracto etanólico de propóleo.



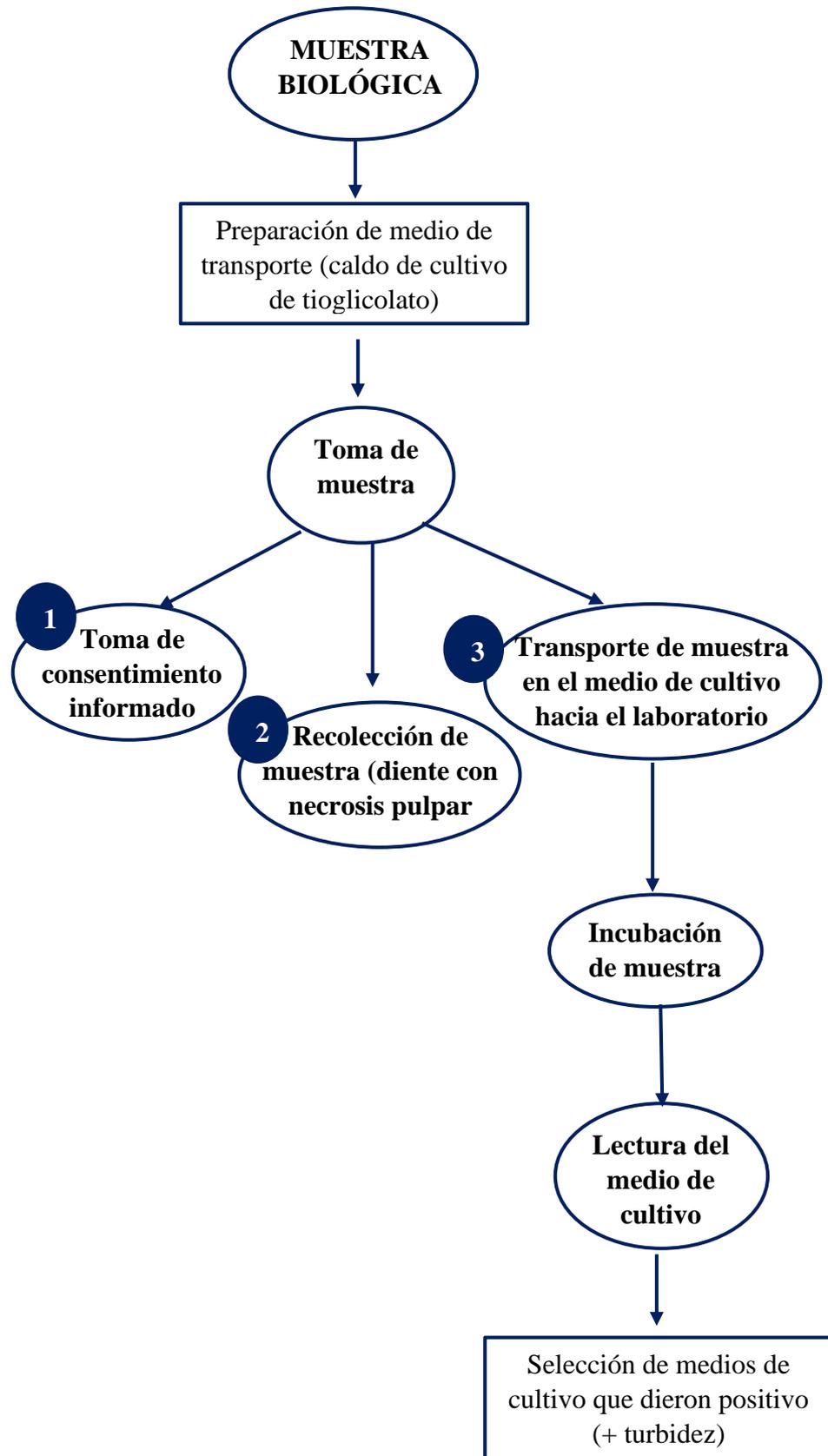
El extracto etanólico de propóleo (EEP) se elaboró mediante maceración, para ello se obtuvo propóleo en su estado natural, recolectado de la colmena mediante el método de raspado convencional, para lo cual se empleó una espátula de metal con la cual se procedió a desprender mediante el raspado el propóleo que se encontraba en las cajas que contenían a las colmenas de las abejas, una vez recolectado el propóleo fue transportado hasta el laboratorio de la FACISA en la UNTRM, el transporte se realizó empleando un frasco oscuro con el fin de mantenerlo aislado de la luz solar y conservar mejor sus propiedades, una vez en las instalaciones de los laboratorios se procedió a realizar la selección.

El propóleo se seleccionó mediante la eliminación de impurezas, restos de hojas, ceras, tierra y posteriormente se pesó en una balanza electrónica obteniendo 119 gramos, con una tijera se cortó en trozos y se colocó en un frasco de vidrio de boca ancha en el cual se enrazó con 200ml de alcohol al 96% y se dejó macerar por un periodo de un mes, cubierto con una bolsa negra para evitar el contacto con la luz.

Pasado el tiempo de maceración el extracto se sometió a filtrado y eliminación del etanol mediante proceso de rotavapor, para obtener un extracto puro de propóleo, posteriormente se procedió a realizar las diluciones, para ello se separó en un frasco el extracto puro de propóleo al 100%, en un segundo frasco se colocó el extracto puro de propóleo restante y del cual se extrajo el propóleo necesario con el que se realizó las diluciones con alcohol de 96% para obtener las concentraciones deseadas de 30% y 70% respectivamente los extractos etanólicos obtenidos se almacenaron en refrigeración a 4°C cubiertos de la luz.

Figura 2

Esquema de la recolección de muestra biológica.



Para iniciar la recolección de la muestra se esterilizó con luz UV en la cabina de flujo laminar los tubos crioviales, posteriormente se procedió a preparar el medio de cultivo de caldo de tioglicolato para el transporte e incubación de las muestras, el caldo de cultivo se obtuvo diluyendo 14 gr de tioglicolato en 500ml de agua destilada, se colocó en una cocina eléctrica para la mejor dilución del medio y posteriormente se esterilizó en autoclave a 121°C por 2 horas. Los tubos crioviales se sirvieron con 2ml de caldo de cultivo de tioglicolato y se refrigeraron a 4°C para su uso en la recolección de las muestras.

Para cada muestra recolectada se realizó como primer paso la toma de consentimiento informado.

Se realizó asepsia y antisepsia tanto del medio extraoral como intraoral para la toma de muestra.

Se continuó con el aislamiento absoluto de la pieza dentaria con necrosis pulpar, luego se realizó la apertura cameral.

Finalizada la apertura cameral se realizó la toma de muestra empleando conos de papel estériles número 25 o 30 de acuerdo a la anatomía de la pieza.

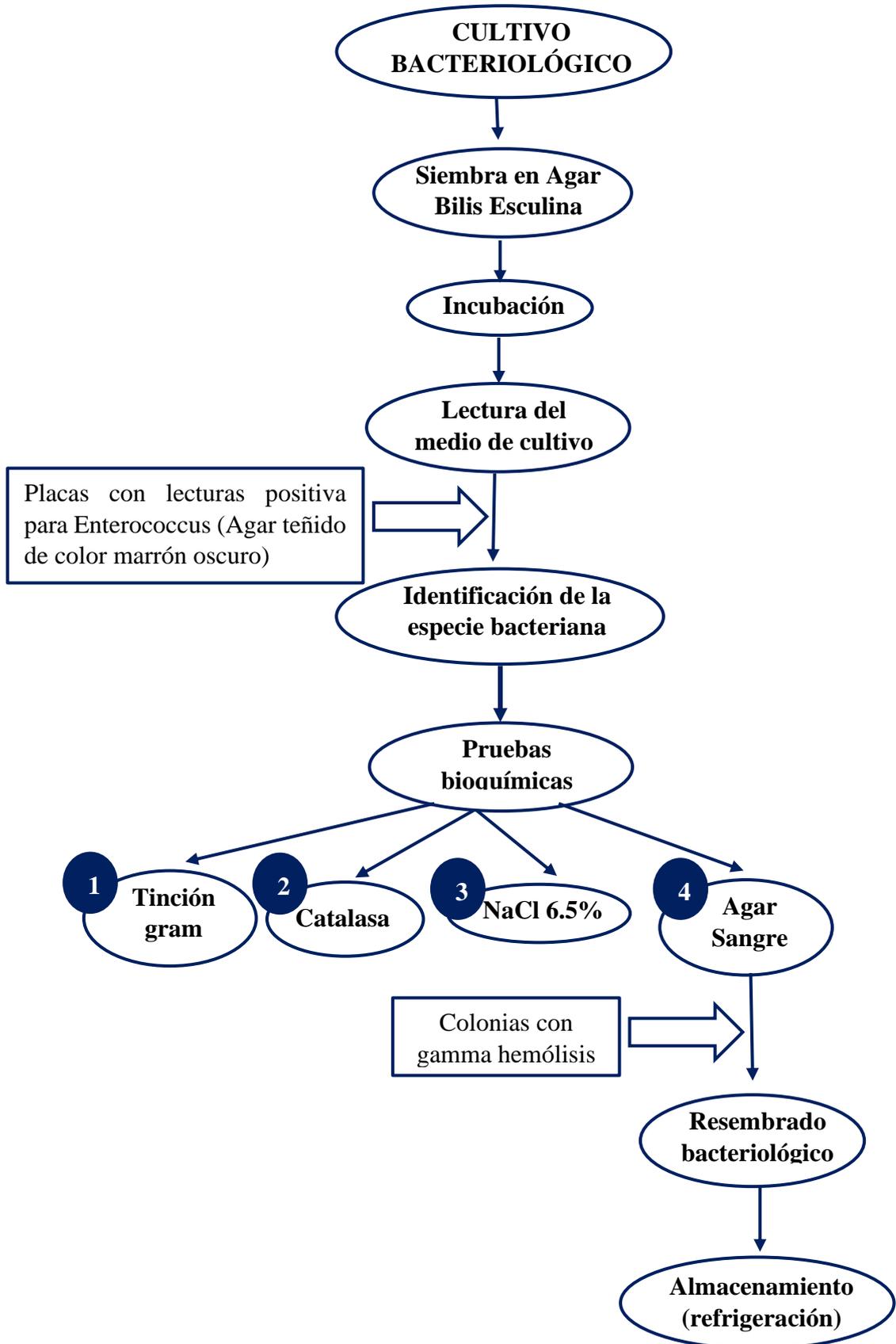
El cono de papel se dejó en el conducto radicular por un periodo de 60 a 90 segundos.

La muestra obtenida se colocó inmediatamente en tubos crioviales que contenían 2ml de caldo de cultivo de tioglicolato y fueron transportados inmediatamente al laboratorio de la FACISA de la UNTRM donde fueron incubados a 35°C por 18 horas en la estufa de la marca VENTICELL eco line.

Pasadas las 18 horas de incubación se observó la presencia de turbidez positiva en los tubos crioviales que contenían la muestra lo que indicó la presencia de bacterias.

Figura 3

Esquema del cultivo, identificación y resembrado bacteriológico.



▪ **Cultivo de la bacteria.**

Se empleó como medio de cultivo el agar de bilis esculina, se suspendió 20gr en 1000ml de agua destilada, se calentó el medio de cultivo en una cocina eléctrica para su mejor dilución y se llevó a esterilizar en autoclave a 121°C por 2 horas, una vez esterilizado el medio de cultivo, dentro de la cabina de flujo laminar se sirvió en placas Petri de vidrio para realizar la siembra a partir de las muestras recolectadas.

La siembra se realizó en la cabina de flujo laminar empleando un hisopo estéril el cual se embebió en el caldo de cultivo de tioglicolato que contenía a la muestra en los tubos crioviales y se procedió a sembrar mediante la técnica de estrías.

Luego se incubó a 35C° por 48 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación se realizó la lectura del medio de cultivo, se buscó las placas Petri que dieron como resultado a la lectura positivo para *Enterococcus* (coloración del agar marrón oscuro, dado que los *Enterococcus* son capaces de sintetizar la esculina).

▪ **Identificación de la especie.**

Una vez obtenido el género se buscó identificar la especie, para lo cual se realizó 4 pruebas de identificación.

- Tinción gram: se buscó aquellas colonias que fueran gram positivos (cadenas de cocos cortas o pares)
- Prueba de catalasa: se buscó las colonias que dieran a la lectura catalasa negativa (ausencia de burbujas).
- Crecimiento en NaCl 6.5%: Aquellas colonias que presentaron crecimiento positivo (turbidez en el medio) indicando su tolerancia salina, cualidad que poseen los *Enterococcus*.
- Cultivo en Agar Sangre: Aquellas colonias que presentaron en las pruebas anteriores tinción gram (+), catalasa (-) y crecimiento en NaCl 5,6% (+) se sembraron en agar sangre con un asa de col estéril con el objetivo de identificar las colonias gamma hemolíticas (sin halo o un halo transparente) cualidad propia de los *Enterococcus* de la especie *faecalis*.
- Las placas de agar sangre sembradas se incubaron a 35C° por 48 horas para su lectura correspondiente.

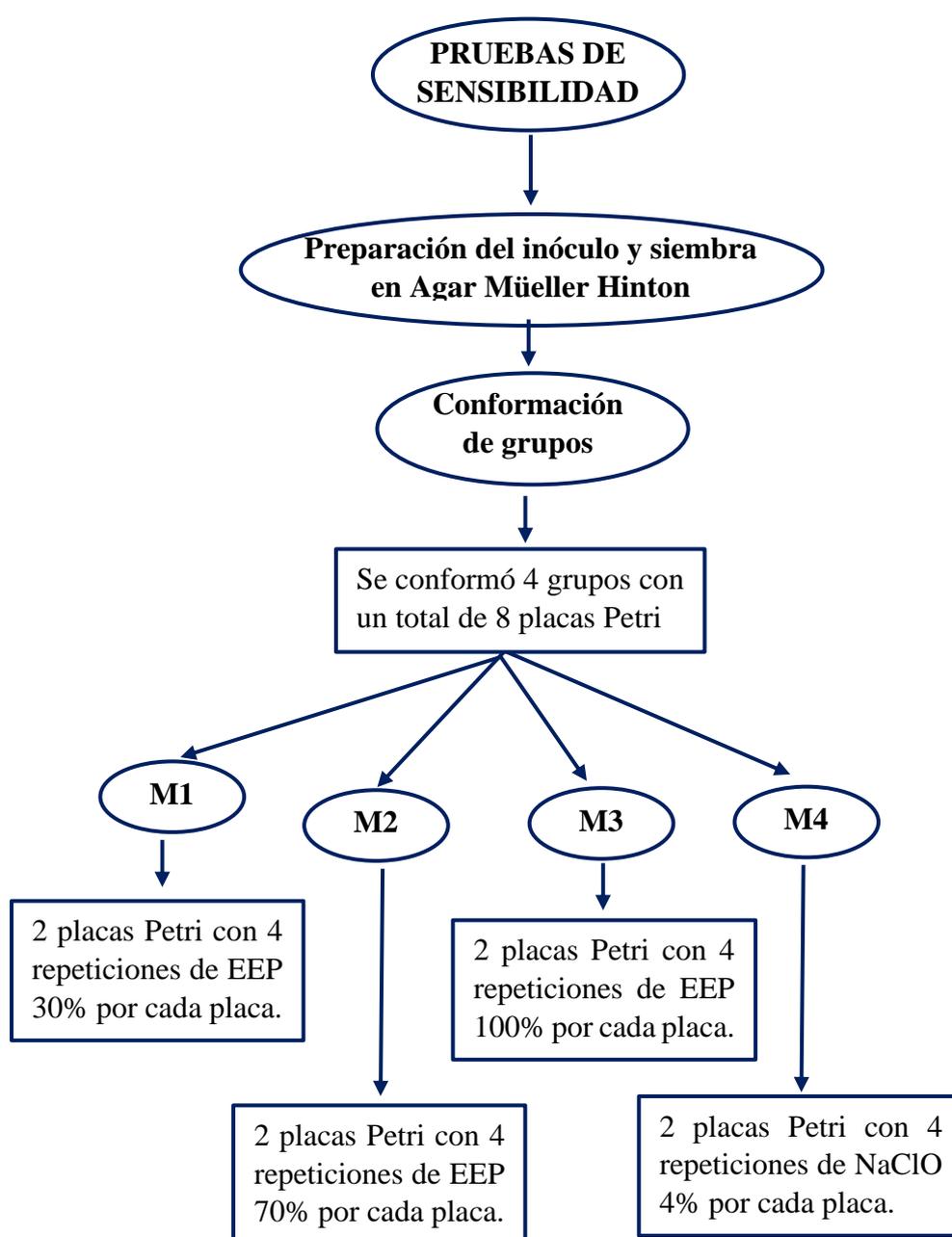
- **Resembrado en agar sangre.**

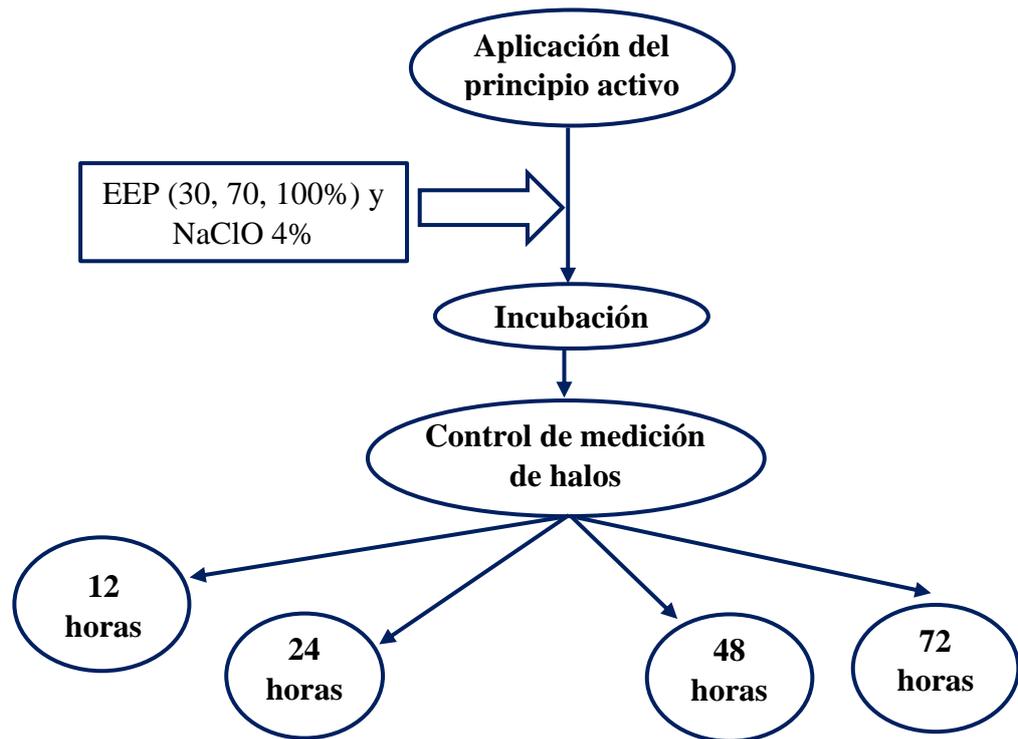
Aquellas colonias cuya hemólisis es de tipo gamma (con halo trasparente o sin halo) se resembraron en placas Petri con agar sangre con el objetivo de conseguir aislar colonias puras de la especie *faecalis*.

Una vez obtenidas las cepas necesarias de especie *faecalis* se procedió a almacenarlas en refrigeración para las pruebas de sensibilidad.

Figura 4

Esquema de las pruebas de sensibilidad.





- **Siembra del inóculo en las placas de agar Mueller Hinton.**

Para las pruebas de sensibilidad se preparó el medio de cultivo agar Mueller Hinton, se suspendió 19g de polvo de agar en 500ml de agua destilada, se calentó el medio de cultivo para lograr su dilución completa y se esterilizó en autoclave a 121°C por 2 horas.

Se preparó un inóculo a partir de las cepas aisladas de cultivos puros de *Enterococcus faecalis*.

En un tubo de ensayo estéril se depositó 2ml de solución salina, luego con la ayuda del asa de col estéril se tomó colonias puras de *Enterococcus faecalis* y se obtuvo un inóculo con turbidez en la escala 0.4 de McFarland.

El tubo de ensayo que contenía el inóculo fue agitado para lograr homogeneidad.

Se introdujo un hisopo estéril en el tubo de ensayo que contenía el inóculo y se dejó por un minuto con movimientos de rotación para que se humedezca, luego se eliminó los excesos al frotar suavemente contra las paredes del tubo de ensayo, se flameó la boca del tubo de ensayo y se procedió a sembrar.

En placas de agar Müller Hinton se realizó la siembra con el hisopo previamente humedecido frotando el hisopo suavemente en cuatro direcciones y girando suavemente la placa en ángulos de 90° para obtener una siembra uniforme de toda la superficie de la placa Petri. El hisopo utilizado se desechó en un vaso de precipitado que contenía hipoclorito de sodio.

- **Aplicación del principio activo:**

Para la aplicación del principio activo se conformó los grupos de manera que se hagan 8 repeticiones por cada sustancia, en tal sentido se distribuyó 4 discos por cada placa, haciendo un total de 8 placas, obteniendo así la M1 conformada de 2 placas Petri cada una con 4 discos de tal forma que se obtuvo 8 repeticiones para EEP al 30%, de igual forma se distribuyó para la M2 con discos embebidos en EEP 70%, en la M3 los discos se embebieron en EEP 100% y finalmente se repitió el procedimiento con discos embebidos en NaClO 4%.

Se empleó discos de papel filtro N° 4 con un espesor de 0,6mm y un diámetro de 5mm.

Para la aplicación del principio activo se empleó el método de Kirby Bauer o difusión en agar por disco.

Los discos se embebieron con 40ul de EEP al 30%, EEP al 70%, EEP al 100% e hipoclorito de sodio al 4% usando una micropipeta. Empleando pinzas estériles se colocaron 4 discos de cada solución sobre los cultivos procurando mantener la distancia adecuada entre ellos, terminado el proceso de aplicación del principio activo las placas se llevaron a incubar a una temperatura de 35 C° por el tiempo necesario para la medición de halos correspondiente

- **Medición de los halos de inhibición.**

La medición de los halos de inhibición se realizó con la ayuda de un vernier digital a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas a partir de la aplicación del principio activo.

2.7. Análisis estadístico.

Para el procesamiento y análisis de datos se realizó empleando el programa Microsoft Excel y el software SPSS (versión 26), para contrastar la hipótesis se empleó la prueba estadística paramétrica ANOVA de un factor con una significancia de $p < 0,05$ y para las comparaciones múltiples entre grupos se aplicó la prueba de Post Hoc con un nivel de significancia $p < 0,05$.

III. RESULTADOS

Tabla 1

Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) al 30% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.

Controles (horas)	Sustancias		n	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Li	Ls
12	EEP 30%	NaClO 4%	8	-7,47125*	.55394	.000	-9.3559	-5.5866
24	EEP 30%	NaClO 4%	8	-5,77250*	1.06841	.004	-9.5087	-2.0363
48	EEP 30%	NaClO 4%	8	-3.72500	1.68049	.315	-9.7435	2.2935
72	EEP 30%	NaClO 4%	8	-5,80625*	1.34438	.020	-10.6332	-.9793

Fuente: Elaboración propia.

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

Interpretación: La tabla 1 muestra la diferencia en el tamaño del diámetro de los halos de inhibición del EEP 30% comparado con NaClO 4% donde se puede observar que el NaClO 4% fue superior al EEP 30% donde la diferencia en el diámetro de los halos generados a las 12 horas de aplicadas las sustancias fue de -7,47125mm, a las 24 horas la diferencia del diámetro generado fue de -5,77250mm, a las 48 horas se fue de -3,72500mm y a las 72 horas la diferencia de halos fue de -5,80625mm, todas las diferencias son mayores para NaClO 4%.

Aplicando la prueba de Post Hoc para hacer comparación entre los grupos se encontró que la mayor diferencia significativa en los diámetros de los halos de inhibición se generó a las 12 horas siendo mayor para NaClO 4% en relación a EEP 30% con una significancia de 0,000 donde $P < 0,05$, mientras que a las 48 horas se encontró que la diferencia de halos generados no es significativa para EEP 30% frente a NaClO 4% siendo de 0,315 donde $p > 0,05$, esto se puede deber a que EEP 30% presenta un aumento en el diámetro de halo sustantivamente.

Tabla 2

Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico del propóleo (EEP) al 70% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.

Controles (horas)	SUSTANCIAS		N	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Li	Ls
12	EEP 70%	NaClO 4%	8	-9,51250*	.54703	.000	-11.3980	-7.6270
24	EEP 70%	NaClO 4%	8	-7,27375*	1.05023	.001	-11.0265	-3.5210
48	EEP 70%	NaClO 4%	8	-4.81875	1.67069	.132	-10.8506	1.2131
72	EEP 70%	NaClO 4%	8	-7,16875*	1.34244	.006	-11.9983	-2.3392

Fuente: Elaboración propia.

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

Interpretación: La tabla 2 muestra la diferencia en el tamaño del diámetro de los halos de inhibición generados por el EEP 70% comparado con NaClO 4%, en la cual se observa mayor diferencia en el tamaño de los halos generados por NaClO 4% con respecto a EEP 70% siendo al control de 12 horas de -9,51250mm, a las 24 horas -7,27375mm, a las 48 horas -4,81875mm y a las 72 horas la diferencia de halos fue de -7,16875mm, el diámetro de halos generados en todos los controles es mayor para NaClO 4%.

Aplicando la prueba de Post Hoc para hacer comparación entre los grupos se encontró que el diámetro de los halos generados fue más significativo a las 12 horas siendo $p < 0,05$, seguido de los halos generados a las 24 horas y 72 horas, mientras que a las 48 horas se evidenció que no existe diferencia significativa en el diámetro de los halos generados siendo $p > 0,05$, al igual que en la tabla anterior se evidencia que los halos generados son mayores para NaClO 4% y que a las 48 horas no existe diferencia significativa esto se puede deber al aumento de la sustantividad del EEP 70% en este tiempo.

Tabla 3

Diferencia en el tamaño del diámetro del halo de inhibición producido por el extracto etanólico del propóleo (EEP) al 100% e hipoclorito de sodio (NaClO) al 4% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.

Controles (horas)	Sustancias		N	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
							Li	Ls
12	EEP 100%	NaClO 4%	8	-8,89125*	.68126	.000	-10.9869	-6.7956
24	EEP 100%	NaClO 4%	8	-6,77125*	1.05057	.002	-10.5236	-3.0189
48	EEP 100%	NaClO 4%	8	-4.47125	1.69088	.175	-10.4779	1.5354
72	EEP 100%	NaClO 4%	8	-6,92250*	1.36125	.007	-11.7309	-2.1141

Fuente: Elaboración propia.

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

Interpretación: La tabla 3 denota la diferencia en el tamaño del diámetro de los halos de inhibición generados por el EEP 100% comparado con NaClO 4%, donde se visualiza que los halos generados por el EEP 100% son menores que los generados por NaCl o 4% siendo la mayor diferencia de -8,89125mm al control de 12 horas, seguido de la diferencia de halos de -6,92250mm a las 72 horas y una diferencia de -6,77125mm a las 24 horas, la menor diferencia en el tamaño de los halos se generó a las 48 horas siendo -4,47125mm.

Aplicando la prueba de Post Hoc para comparar el tamaño de halos generados entre los grupos se encontró que, existe diferencia significativa entre los halos generados por EEP 100% respecto a NaClO 4% en los tiempos de 12, 24 y 72 horas donde $p < 0,05$ donde al control de las 12 horas se evidencia la diferencia en el tamaño de halo más significativa, seguido del control a las 24 y 72 horas respectivamente, siendo mayor para NaClO 4%, mientras que se evidencia que no existe diferencia significativa en la medida de los halos generados a las 48 horas donde $p > 0,05$ esto al igual que en las concentraciones antes mencionadas se debe al aumento de la capacidad de sustantividad que puede poseer el EEP 100%.

Tabla 4

Diferencia en el tamaño del diámetro de halo de inhibición producido por el extracto etanólico de propóleo (EEP) en sus tres concentraciones al 30%, 70% y 100% a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas.

Controles (horas)	Sustancia	n	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Li	Ls
12	EEP 30%	EEP 70%	2,04125*	.22988	.000	1.3359	2.7466
		EEP 100%	1.42000	.46660	.079	-.1346	2.9746
	EEP 70%	EEP 30%	-2,04125*	.22988	.000	-2.7466	-
		EEP 100%	-.62125	.45838	.756	-2.1730	.9305
	EEP 100%	EEP 30%	-1.42000	.46660	.079	-2.9746	.1346
		EEP 70%	.62125	.45838	.756	-.9305	2.1730
24	EEP 30%	EEP 70%	1,50125*	.28206	.001	.6054	2.3971
		EEP 100%	,99875*	.28330	.027	.1008	1.8967
	EEP 70%	EEP 30%	-1,50125*	.28206	.001	-2.3971	-.6054
		EEP 100%	-.50250	.20433	.154	-1.1274	.1224
	EEP 100%	EEP 30%	-,99875*	.28330	.027	-1.8967	-.1008
		EEP 70%	.50250	.20433	.154	-.1224	1.1274
48	EEP 30%	EEP 70%	1,09375*	.23109	.005	.3421	1.8454

Controles (horas)	Sustancia	n	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
						Li	Ls	
72	EEP 100%	8	.74625	.34824	.273	-.3330	1.8255	
	EEP 70%	EEP 30%	8	-1,09375*	.23109	.005	-1.8454	-.3421
		EEP 100%	8	-.34750	.29737	.853	-1.3496	.6546
	EEP 100%	EEP 30%	8	-.74625	.34824	.273	-1.8255	.3330
		EEP 70%	8	.34750	.29737	.853	-.6546	1.3496
72	EEP 30%	EEP 70%	8	1,36250*	.19150	.000	.7750	1.9500
		EEP 100%	8	1,11625*	.29585	.018	.1708	2.0617
	EEP 70%	EEP 30%	8	-1,36250*	.19150	.000	-1.9500	-.7750
		EEP 100%	8	-.24625	.28690	.958	-1.1799	.6874
	EEP 100%	EEP 30%	8	-1,11625*	.29585	.018	-2.0617	-.1708
		EEP 70%	8	.24625	.28690	.958	-.6874	1.1799

Fuente: Elaboración propia.

Leyenda: *. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.0

Interpretación: En la tabla 4 podemos observar la diferencia en el tamaño de los halos de inhibición generados por el EEP en sus tres concentraciones (30%,70% y 100%) en los 4 tiempos de control establecidos, donde se puede observar que la mayor diferencia en el tamaño del diámetro de halo de inhibición se generó en el EEP 30% respecto al EEP 70% al control de 12 horas y se mantuvo en los controles siguientes, la menor diferencia en el tamaño del diámetro del halo generado se encontró en el EEP 70% en relación al EEP 100%. Aplicando la prueba de Post Hoc para comparar la diferencia significativa en el tamaño de halos inhibitorios generados entre los grupos se encontró que, al control de 12 horas de aplicadas las sustancias sólo existe una diferencia significativa en el diámetro del halo de inhibición generado entre el EEP 30% y EEP 70% donde $p < 0,05$, en tanto que no existe diferencia significativa en el diámetro de halos de inhibición generados entre EEP 30% y EEP 100% de la misma forma entre EEP 70% y EEP 100% donde $p > 0,05$. Al control de 24 horas la diferencia sigue siendo significativa para EEP 30% respecto a EEP 70% ($p < 0,05$) y también se encontró una diferencia del tamaño del diámetro del halo inhibitorio generado entre EEP 30% y EEP 100%, ($p < 0,05$); sin embargo, se observa que no existió diferencia entre el tamaño del halo inhibitorio entre EEP 70% y 100% ($p > 0,05$) por lo que se observa que EEP 100% tuvo un incremento en su efecto antimicrobiano a las 24 horas y fue capaz de generar halos semejantes a EEP 70% pero menores que EEP 30%. En el control de 48 horas la diferencia fue significativa sólo entre EEP 30% y 70% ($p < 0,05$), mientras que no existió diferencia significativa entre las otras dos concentraciones ($p > 0,05$). En el último control realizado a las 72 horas se presentó diferencias significativas en el tamaño del diámetro del halo inhibitorio entre EEP 30% y EEP 70% al igual que entre EEP 30% y EEP 100% donde $p < 0,05$, mientras que la diferencia no fue significativa entre EEP 70% y EEP 100% ($p > 0,05$); por lo que se establece que EEP 30% es más sustantivo aumentando su efecto en relación a las otras dos concentraciones mientras EEP 70% y EEP 100% presentan un efecto significativamente similar. Resultados que se pueden deber a que mientras más diluido el propóleo mejor difusión causa y el efecto aumenta, ya que es una sustancia resinosa por ello se observa mejor tamaño de diámetro de halos a menos concentración de propóleo

Tabla 5

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo (EEP) al 30%, 70% y 100%. en las cepas de Enterococcus Faecalis frente al hipoclorito de sodio (NaClO) al 4%.

Controles (horas)	Sustancias	n	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Li	Ls
12	NaClO 4%	EEP 30%	7,47125*	.55394	.000	5.5866	9.3559
		EEP 70%	9,51250*	.54703	.000	7.6270	11.3980
		EEP 100%	8,89125*	.68126	.000	6.7956	10.9869
24	NaClO 4%	EEP 30%	5,77250*	1.06841	.004	2.0363	9.5087
		EEP 70%	7,27375*	1.05023	.001	3.5210	11.0265
		EEP 100%	6,77125*	1.05057	.002	3.0189	10.5236
48	NaClO 4%	EEP 30%	3.72500	1.68049	.315	-2.2935	9.7435
		EEP 70%	4.81875	1.67069	.132	-1.2131	10.8506
		EEP 100%	4.47125	1.69088	.175	-1.5354	10.4779
72	NaClO 4%	EEP 30%	5,80625*	1.34438	.020	.9793	10.6332
		EEP 70%	7,16875*	1.34244	.006	2.3392	11.9983
		EEP 100%	6,92250*	1.36125	.007	2.1141	11.7309

Fuente: Elaboración propia. Leyenda: *. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Interpretación: La tabla 5 muestra el efecto antimicrobiano producido por el EEP a sus tres concentraciones (30%, 70% y 100%) comparado con el efecto antimicrobiano del NaClO 4% frente a *Enterococcus faecalis* controlados en cuatro tiempos, donde aplicando la prueba de Post Hoc para determinar la diferencia del efecto antimicrobiano generado entre los grupos se encontró que al control de 12 horas el efecto antimicrobiano que produce el NaClO 4% fue significativamente mayor que el efecto antimicrobiano producido por EEP (30%,70% y 100%) donde el valor de $p=0,00$ ($p<0,05$) para todos los grupos frente a *E. faecalis*, al control de 24 horas el efecto antimicrobiano producido por el NaClO 4% frente a *E. faecalis* siguió siendo significativamente superior al efecto antimicrobiano producido por el EEP 30% ($p=0,04$), seguido del efecto producido por EEP 70% ($p=0,01$) y por el efecto producido por EEP 100% ($p=0,02$) frente a *Enterococcus faecalis*. Transcurridas las 48 horas se realizó el siguiente control en el cual se encontró que el efecto antimicrobiano producido por NaClO 4% no presentó diferencia significativa con respecto al efecto antimicrobiano producido por EEP 30%, EEP 70% y EEP 100% ($p>0,05$) esto se puede deber a que los extractos de propóleo presentan una mejor sustentividad en su efecto a las 48 horas mientras que el NaClO 4% lo mantiene, en el último control realizado a las 72 horas el efecto antimicrobiano producido por NaClO 4% volvió a superar al efecto producido por los extractos etanólicos de propóleo ($p<0,05$), siendo mayor que EEP 30% ($p=0,020$), seguido del EEP 70% ($p=0,020$) y EEP 100% ($p=0,007$) por lo que se puede decir que el NaClO 4% genera mayor efecto frente a *Enterococcus faecalis* que los extractos etanólicos de propóleo y que estos presentan su más alta sustentividad en el efecto a las 48 horas de aplicada la sustancia, efecto que disminuye al transcurrir el tiempo, mientras que el efecto que produce NaClO 4% es permanente en todos los tiempos, así mismo se puede interpretar que el mayor efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis* lo produce el NaClO 4%, seguido de EEP 30%, luego EEP 70% y EEP 100% donde estos dos últimos presentan un efecto significativamente similar.

IV. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que el extracto etanólico de propóleo posee efecto antimicrobiano sobre la bacteria *Enterococcus faecalis* pero que este efecto no supera al generado por el hipoclorito de sodio, debido a que el mayor efecto antimicrobiano se produjo por el NaClO 4% generando diferencias significativas en relación al EEP 30%, seguido de los extractos de propóleo a concentraciones de 70% y 100% los cuales no generaron diferencias significativas en su efecto uno respecto al otro.

En una investigación desarrollada por (Rodríguez, 2018) en Ecuador en la que compara in vitro el efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* que presentan tres sustancias, siendo una de ellas el extracto etanólico de propóleo al 50% obtuvo como resultado que un halo inhibitorio promedio de 10mm y considera a esta sustancia como la que menos efecto inhibitorio causó en el crecimiento de la bacteria, resultados que semejantes se encontraron en esta investigación ya que a concentraciones de 70% EEP el halo promedio fue de 10,1375mm y a 30% el EEP generó un halo promedio de 12.1788mm y en comparación con la sustancia empleada en este estudio (NaClO 4%) también se concluye que el EEP es menos efectivo, los resultados encontrados en ambas investigaciones pueden ser similares dado que las sustancias con las que se compararon los EEP son antimicrobianos ampliamente empleados.

Resultados diferidos se encuentran entre nuestra investigación y la de (Bone, 2018) realizada en Ecuador, en la que se busca comprobar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de propóleo en combinación con extracto acuoso de *Rosmarinus Officinalis* frente a *Enterococcus faecalis* para posteriormente compararlo con hipoclorito de sodio; en dicha investigación se encontró que a concentraciones de 25% de propóleo y 100% romero el halo generado era de 6mm, a concentraciones de 50% propóleo y 100% romero el halo aumentó entre 6mm y 7mm siendo considerado como un efecto nulo, mientras que a concentraciones de 75% propóleo y 100% romero el halo fue significativamente mayor 10mm considerándose como sensibilidad mínima frente a la bacteria, estos resultados difieren con nuestra investigación ya que a concentraciones de 30% el EEP generó halos de 12,1781mm siendo una diferencia significativa ya si representa un efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus. faecalis*; en tanto a concentraciones de 70% el EEP en esta

investigación alcanzó halos de 10,1375mm siendo en este caso semejantes a los encontrados por Bone, la diferencia es que en esta investigación se empleó el EEP sin otra asociación siendo este un factor en la diferencia de los halos generados, Bone también realizó comparaciones entre el extracto de propóleo combinado con romero e hipoclorito de sodio 5,25% en el que se evidenció que el efecto generado por el hipoclorito de sodio era superior resultado que es semejante al que se encontró en esta investigación al comparar el EEP con el NaClO 4%.

En el ámbito nacional también encontramos investigaciones como la de (González, 2018) realizada en Cajamarca, investigación cuyos resultados obtenidos coinciden con los nuestros, dado que al investigar el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de propóleo al 30% frente a *Enterococcus faecalis* obtuvo que si presentaba efecto antimicrobiano generando halos de hasta 10.6mm, resultados que no difieren mucho con los encontrados en esta investigación ya que en EEP 30% generó halos promedios de 12,1788mm considerándose efectivo frente a la bacteria.

Con investigaciones como las de (Torres, 2019) en la que realizó comparaciones entre el efecto que causaban sustancias como el extracto etanólico de propóleo a dos concentraciones y el PMCFA frente a bacterias como *Enterococcus faecalis* y *faecium*, encontró como resultado que transcurridas las 24 horas de aplicado el EEP al 30% este presentó un halo de inhibición de 14,23mm frente a *Enterococcus faecalis*, constituyendo así el efecto mayor en comparación con el EEP al 20% que presentó un halo de inhibición de 10,32mm, este resultado para el EEP al 30% se asemeja mucho al obtenido en esta investigación ya que el halo promedio generado a las 24 horas fue de 13,0275mm siendo el mayor halo obtenido en las tres concentraciones estudiadas del EEP; por otro lado el control de 24 horas Torres en su investigación obtuvo que el efecto antimicrobiano aumentaba puesto que el halo de inhibición generado por EEP 30% fue de 14,96mm con lo cual nuestra investigación concuerda ya que al control de 48 horas el efecto antimicrobiano del EEP 30% aumentó generando halos de 13,3113mm, con estos resultados se puede decir que una característica que presentan los EEP es su sustentividad y que aumentan a las 48 horas significativamente.

En Huancayo (Arias, 2019) realizó un estudio en el que evaluó el efecto antibacteriano in vitro del propóleo, hipoclorito de sodio y gluconato de clorhexidina frente a *Enterococcus Faecalis* y *Staphylococcus Aureus* encontrando como resultado que a una concentración de 30% el propóleo generaba halos de inhibición de 13mm frente a *Enterococcus Faecalis*, estos resultado se asemejan a los encontrados en esta investigación ya que el EEP 30% generó halos de inhibición de 12,1788mm sin embargo los resultados encontrados por Arias difieren con los nuestros en la dimensión de halo inhibitorio generado por el NaClO 4% ya que en su investigación Arias obtuvo halos de 14mm mientras que en esta investigación los halos generados por NaClO 4% son superiores siendo de 19,6500mm, en este aspecto el efecto antimicrobiano del EEP se considera efectivo pero con relación al efecto producido por NaClO 4% la variación se puede deber a que la marca comercial del NaClO sea diferente y eso pueda alterar la capacidad en la generación de un halo inhibitorio diferente entre ambos.

Resultados que difieren con los nuestros también se encuentran comparando la investigación de (Estela, 2019) quien hizo una investigación in vitro para cotejar la capacidad antimicrobiana entre el irrigante de oro hipoclorito de sodio y el extracto hidroetanólico de propóleo frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, donde obtuvo en sus resultados que en una concentración de 100% del extracto hidroetanólico del propóleo alcanzó valores menores a los que presentaba el nivel de significancia por ende no presenta una eficacia en la inhibición bacteriana, es decir tiene una sensibilidad nula, a su vez el hipoclorito de sodio al 5% mostró una sensibilidad límite, pero el hipoclorito al 3% presentó una sensibilidad nula, es decir no presentó un efecto inhibitorio frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, mientras que en nuestra investigación se encontró como resultados que el EEP al 100% generó halos de 10,7588mm generando efecto antimicrobiano frente a las cepas aisladas de *Enterococcus faecalis* e incluso el EEP a esta concentración generó uno de los efectos menores relacionado con la concentración de EEP 30%, con respecto a la inhibición generada por el hipoclorito de sodio en nuestra investigación se empleó a concentración de 4% por lo que se concuerda que si genera efecto antimicrobiano al igual que en la investigación de Estela, en tal sentido se discrepa en relación al efecto antimicrobiano generado por el EEP en tanto que en nuestra investigación si presentó efecto antimicrobiano frente a la

bacteria, esta variación se puede deber entre otros factores a la calidad del propóleo ya sea de acuerdo al manejo durante su recolección, a la vegetación de donde provienen lo sustancias que lo componen, el clima e incluso la familia de abejas que lo producen así como el cuidado en su almacenamiento y los cuidados durante la obtención del extracto.

V. CONCLUSIONES

- Se concluye que el extracto etanólico de propóleo (EEP) si presenta un efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis*, pero este efecto antimicrobiano no supera al efecto generado por el hipoclorito de sodio (NaClO 4%).
- El mayor efecto antimicrobiano frente a *Enterococcus faecalis* está dado por el hipoclorito de sodio (NaClO 4%), seguido del EEP 30%.
- No existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antimicrobiano generado por el EEP 70% y EEP 100%.
- Los extractos etanólicos de propóleo presentan mayor sustentividad a las 48 horas, tiempo en el que no existe estadísticamente diferencia significativa en comparación con el NaClO 4% frente a *Enterococcus faecalis*.
- La sustentividad que presentan los EEP a las 48 horas disminuye al transcurrir el tiempo, sin embargo, el NaClO 4% mantiene constantemente su efecto antimicrobiano inhibiendo el crecimiento bacteriano inclusive hasta las 72 horas de aplicada la sustancia.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere seguir esta línea de investigación sobre el propóleo especialmente de los propóleos producidos en la región de Amazonas ya que debido a la variedad de flora de la que se recolecta podría presentar otras propiedades beneficiosas para la salud.

- Se recomienda profundizar en investigaciones relacionadas con el propóleo ya que teniendo en cuenta su capacidad antimicrobiana y sustentividad frente a patógenos orales se podría buscar la forma de emplearlo en distintas áreas de odontología ya sea como colutorios, vehículos de transporte de materiales, medicación intracanal o sustancias desinfectantes de útiles de aseo como los cepillos dentales.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alghamdi, F & Shakir, M. (2020). *The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review*. Revista Pub Med. 13,12(3). DOI: [10.7759/cureus.7257](https://doi.org/10.7759/cureus.7257)
- Arias, J (2019). *Efecto antibacteriano in vitro del Propóleo, Hipoclorito de Sodio y Gluconato de Clorhexidina frente a Enterococcus faecalis y Staphylococcus aureus*. [Tesis de pregrado Universidad Peruana los Andes, Huancayo, Perú.] Recuperado 10/10/2022 de <https://repositorio.upla.edu.pe/handle/20.500.12848/1112>
- Ávila, S., Rosas, G., Pujana, J., Rosas, N & Llamosas, E. (2017) *Estudio histológico descriptivo de la colonización de bacterias en los túbulos dentinarios de dientes extraídos con necrosis pulpar*. Revista ADM. 74(2), 69-73. Disponible en <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=71698>
- Bone, K (2018). *Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo con extracto acuoso de Rosmarinus Officinalis frente a Enterococcus faecalis*. [Tesis de pregrado Universidad Central del Ecuador, Quito]. Recuperado el 11/10/2022 de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16694>
- Castro, Y (2018). *Efectividad antimicrobiana de tres asociaciones medicamentosas, sobre Enterococcus faecalis sp de pacientes del servicio de endodoncia – Hospital Hipólito Unanue – 2017*. [Tesis de pregrado Universidad Federico Villareal, Lima, Perú]. Recuperado el 11/11/2022 de
- Checalla, J & Sánchez, M. (2021). *Caracterización química y actividad antibacteriana in vitro de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a Streptococcus mutans*. Revista International Journal of Odontoestomatology. 15(1). 145-151. DOI:[10.4067/S0718-381X2021000100145](https://doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100145)
- Estela, S (2019) *Comparación in vitro del efecto antibacteriano entre el hipoclorito de sodio y el extracto hidroetanólico de propóleo contra Enterococcus faecalis ATCC 29212*. [Tesis de pregrado Universidad Señor de Sipán]. Recuperado 10/10/2022 de <https://repositorio.uss.edu.pe/handle/20.500.12802/5750>

- Falcón, B & Guevara, L. (2019). *Interacciones entre soluciones irrigantes durante el tratamiento de endodoncia*. Revista Médica Basadrina, 11(1), 56–59. <https://doi.org/10.33326/26176068.2017.1.616>
- Gómez, K., Quezada, E., Fang, L & Covo, E. (2018). *Accidente con hipoclorito de sodio durante la terapia endodóntica*. Revista Cubana de Estomatología. 55(2). 1-7. <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/1492>
- González, M (2018). *Inhibición bacteriana entre extracto hidroalcohólico de propóleo al 30% e hidróxido de calcio en colonias de Enterococcus Faecalis (ATCC29212) in vitro*. [Tesis de pregrado Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca, Perú]. Recuperado el 11/10/2022 de <http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/665>
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUNF_5dc937c41a21fadbec8adbd99b2e8156
- Kakehashi, S., Stanley, HR. & Fitzgerald, RJ. (1965). *The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats*. Revista ScienceDirect. 20 (3), 349-349. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(65\)90166-0](https://doi.org/10.1016/0030-4220(65)90166-0)
- Lancefield, R. (1933). *A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci*. Revista Journal of Experimental Medicine. 57(4). 571-595. <https://doi.org/10.1084/jem.57.4.571>
- López, L., Patiño, P., Seonane, R., Martin, B., González, J & Rodríguez, K. (2017). *Identificación de microorganismos por reacción en cadena de la polimerasa en necrosis pulpar y periodontitis apical*. Revista Cubana de Estomatología. 54(3). Disponible en <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/1251>
- Marín, M., Gómez, B., Cano, A., Cruz, S., Castañeda, D & Castillo, E. (2019). *Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico, y revisión de literatura*. Revista Avances en Odontoestomatología. 35(1). 33-43. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=6860>
- Morillo, J & Balseca, M. (2018). *Eficacia inhibitoria del aceite esencial de Cymbopogon citratus sobre cepas de Porphyromona gingivalis: estudio in vitro*. Revista Odontología. 20(2). 5-13. DOI: 10.29166/odontologia.vol20.n2.2018-5-13

- Moya, E. (2021). *Susceptibilidad del Enterococcus faecalis ATCC-29212 frente a la combinación de dos extractos naturales con hidróxido de calcio*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador]. Recuperado el 25/11/2022 de <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/7532>
- Navarro, J., Lezcano, M., Mandri, M., Gili, M & Zamudio, M. (2018). *Acción anticariogénica del propóleo*. Revista Ateneo Argentino de Odontología. LVIII(1). 49-53. <https://www.ateneo-odontologia.org.ar/revista/?issue=2018-01>
- OMS (2020). *Salud bucodental. Lograr una mejor salud bucodental como parte de los programas relativos a la cobertura sanitaria universal y las enfermedades no transmisibles de aquí a 2030*. Recuperado el 10/10/2020 de https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB148/B148_8-sp.pdf
- Prada, I., Muñoz, P., Lluesma, T., Martínez, P., Castellano, N., & Saiz, A. (2019). *Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review*. Revista Pub Med. 1;24(3). 364-372. DOI: [10.4317/medoral.22907](https://doi.org/10.4317/medoral.22907)
- Pulido, A. (2020). *Caracterización molecular de genes de virulencia en Streptococcus agalactiae de aislados clínicos de dos instituciones de salud, Lima, Perú*. [Tesis de maestría UNMS]. Recuperado el 20/10/2022 de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/15700>
- Rodríguez, M (2018). *Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano entre tres sustancias utilizadas como medicamento intraconducto contra cepas de Enterococcus faecalis*. [Tesis de pregrado Universidad Nacional de Loja, Ecuador]. Recuperado el 11/10/2022 de <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/20688>
- Sagñay, N (2020). *Perfil epidemiológico de alteraciones pulpares en adultos jóvenes de la parroquia rural el Valle, Cuenca-Ecuador; 2019-2020*. [Tesis de pregrado Universidad Católica de Cuenca]. Recuperado el 21/10/2022 de <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/9710>
- Salamanca, G., Osorio, M & Cabrera, J. (2022). *Propóleos de Nariño: Propiedades fisicoquímicas y actividad biológica*. Rev. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. 20(1). 152-164 <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1863>
- Supo, J. (2012). *Seminarios de Investigación Científica: Metodología de la investigación para las ciencias de la salud*. CreateSpace Independent

Publishing Platform. Recuperado 10/11/2022 de <http://red.unal.edu.co/cursos/ciencias/1000012/un3/pdf/seminv-sinopsis.pdf>

- Torres, J. (2019). *Comparación del efecto antibacteriano de un extracto etanólico del propóleo a dos concentraciones y del paramonoclorofenol alcanforado frente a Enterococcus Faecalis y Fusobacterium Nucleatum*. Rev Científica Odontológica 7 (1): 53-65. Recuperado 10/10/2022 de <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1005802>
- Vilchis, S., Gurria, A., Rodríguez, A & Treviño, R. (2018). *Necrosis pulpar con lesión periapical*. Revista Mexicana de Estomatología. 5(2). Disponible en <https://www.remexesto.com/index.php/remexesto/article/view/231/427>

ANEXOS

ANEXO 1

FICHAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Ficha de recolección de datos de toma de muestras.

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO E HIPOCLORITO DE SODIO FRENTE A *Enterococcus faecalis* AMAZONAS 2022.

Número de Muestra	Fecha de toma de muestra	Hora de toma de muestra	Número de cono de papel	Lugar de toma de muestra	Presencia de <i>Enterococcus faecalis</i>	OBSERVACIONES

Fuente: Elaboración propia.

➤ Ficha de recolección de datos (registro de medidas del diámetro de halos)

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS						
NOMBRE DE LA INVESTIGADORA: _____						
SUSTANCIA APLICADA: _____					FECHA: _____	
CONTROLES DE LAS MEDIDAS DEL DIÁMETRO DE LOS HALOS						
N° PLACA	HALO	12 HORAS	24 HORAS	48 HORAS	72 HORAS	OBSERVACIONES

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL PROPÓLEO E HIPOCLORITO DE SODIO FRENTE A *Enterococcus faecalis* AMAZONAS 2022.

Yo, Susan Yesabel Bustamante Visalot en mi condición de estudiante del XII ciclo de la carrera profesional de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza – Amazonas, expongo, que me encuentro realizando una investigación cuya intención es comparar el efecto antimicrobiano que posee el extracto etanólico del propóleo al 30% e hipoclorito de sodio al 4% frente a *Enterococcus faecalis*, para lo cual es necesario obtener muestras de dientes con necrosis pulpar y de esta manera poder realizar el aislamiento y cultivo del microorganismo, el procedimiento de recolección de la muestra será un paso más del tratamiento de endodoncia que usted ha decidido realizarse, empezará con la limpieza y asepsia del diente, aislamiento absoluto, recolección de muestra y siembra para posteriormente evaluar el efecto antimicrobiano del propóleo e hipoclorito frente al microorganismo, es preciso informarle que su participación en la investigación no conlleva a ningún efecto adverso o riesgo para usted, será confidencial, no tendrá costo, el resultado que se obtenga podría significar mejoras en el uso del propóleo como irrigante en endodoncia, es importante indicarle que su participación en la investigación es totalmente VOLUNTARIA, siendo libre usted de elegir si acepta o rechaza participar de la investigación.

Yo de..... años de edad,
DNIcon domicilio en.....habiendo leído y entendido lo expuesto en este documento por la estudiante, SI () / NO () ACEPTO participar en la investigación, efecto antimicrobiano del extracto etanólico del propóleo e hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis*, Amazonas 2022, confirmo mi participación firmando el presente documento.

PARTICIPANTE

INVESTIGADOR

ANEXO 3

FOTOGRAFÍAS.

- Recolección del propóleo mediante el método de raspado convencional.



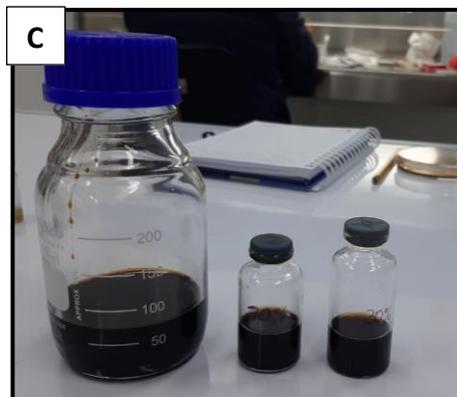
- Traslado del propóleo a los laboratorios FACISA en la UNTRM.



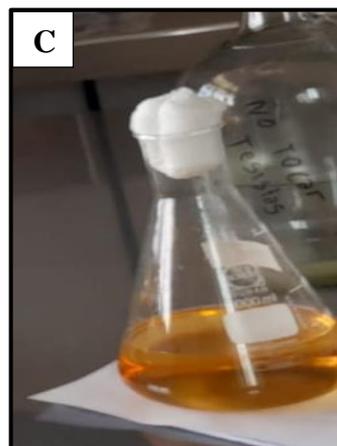
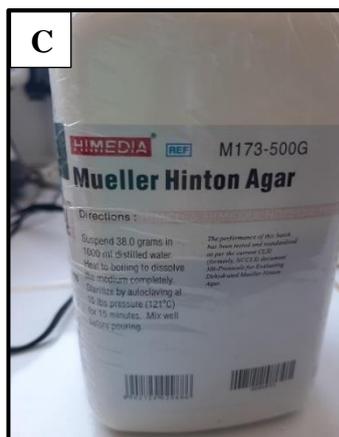
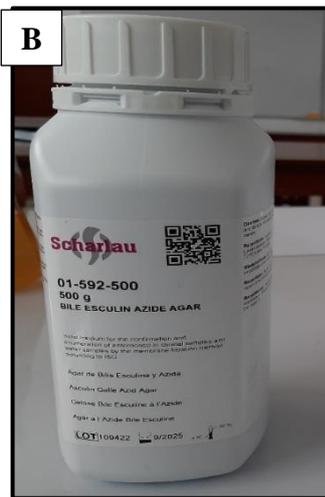
- Proceso de selección, eliminación de impurezas, pesado y corte en trozos del propóleo.



- Preparación del extracto: **A:** Enraizado con alcohol 96%; **B:** macerado (protegido de la exposición a la luz solar; **C:** dilución a la concentración deseada (obtención del extracto al 30%, 70% y 100%)



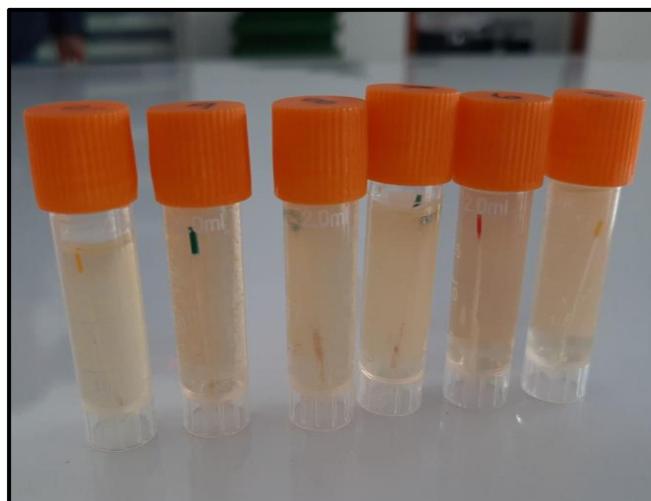
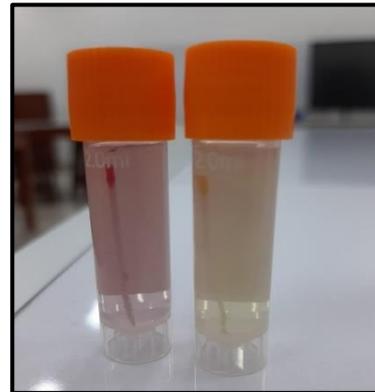
- Medios de cultivo: **A:** Caldo de cultivo de Tioglicolato; **B:** Agar Bilis Esculina; **C:** Agar Müller Hinton



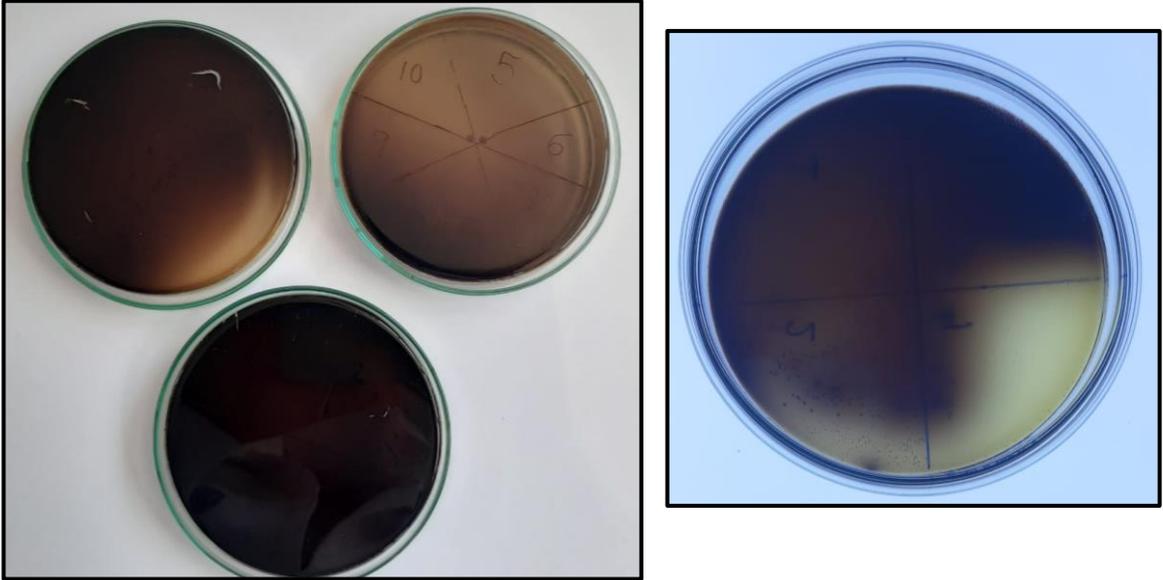
- Colocación del medio de cultivo en los tubos crioviales para transportar las muestras



- Toma de muestra de diente con necrosis pulpar y almacenamiento en tubos crioviales con caldo de cultivo de tioglicolato

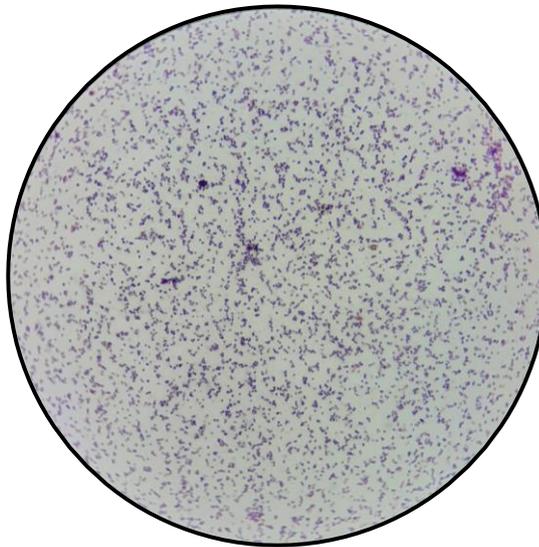


- Cultivo en Agar Bilis Escuilina y control de crecimiento (+) de la bacteria en agar Bilis esculina.

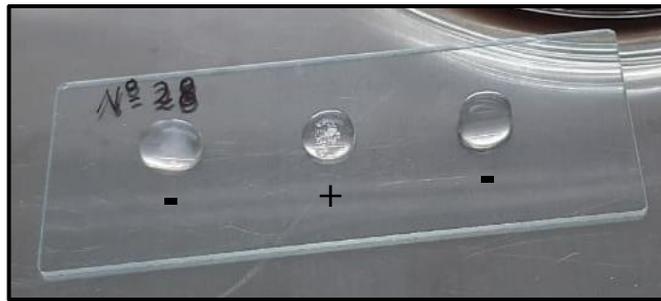


- Pruebas biológicas de identificación de la especie *Enterococcus faecalis*

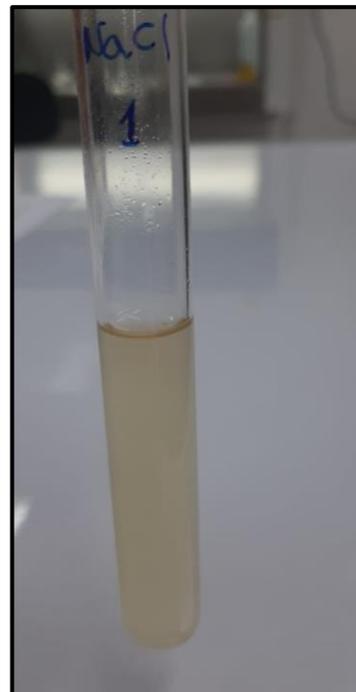
A: Tinción Gram + (cocos en pares o cadenas cortas)



B: Prueba de Catalasa (Se buscó colonias que den como resultado Catalasa -)



- Crecimiento en NaCl 6.5 % (Crecimiento positivo, se muestra turbidez en el tubo de ensayo)

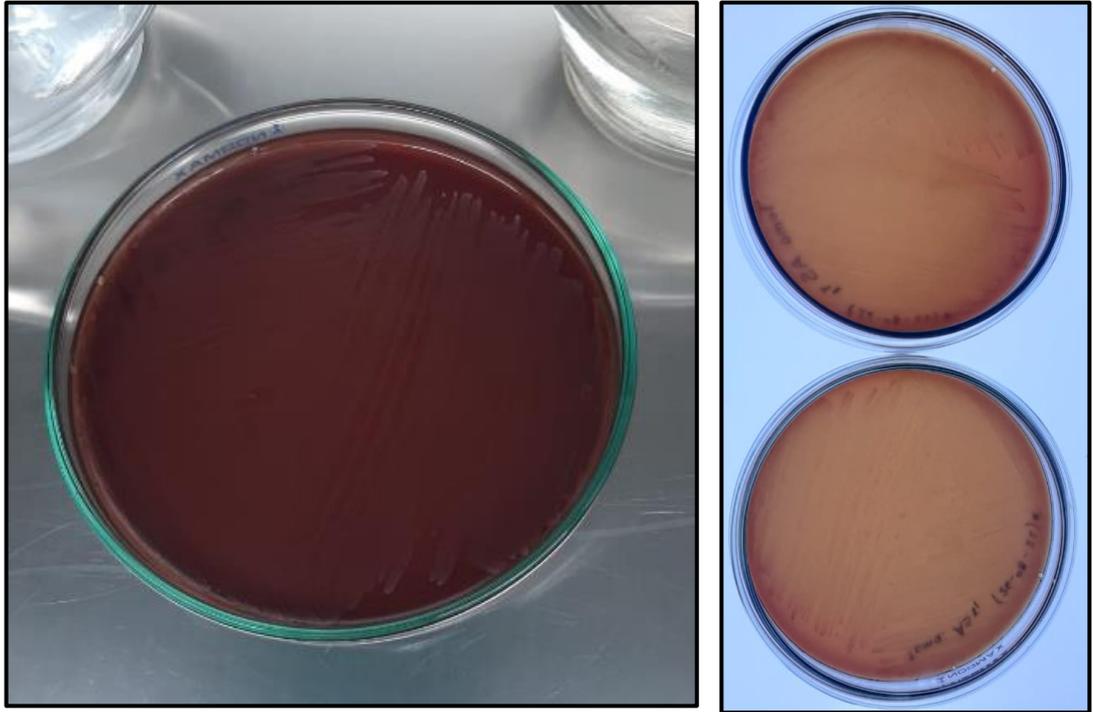


- Cultivo y control de crecimiento en Agar Sangre a las 18 horas (se aisló las colonias con gamma hemólisis)



- Resembrado bacteriológico en Agar Sangre (colonias puras de *Enterococcus faecalis*)



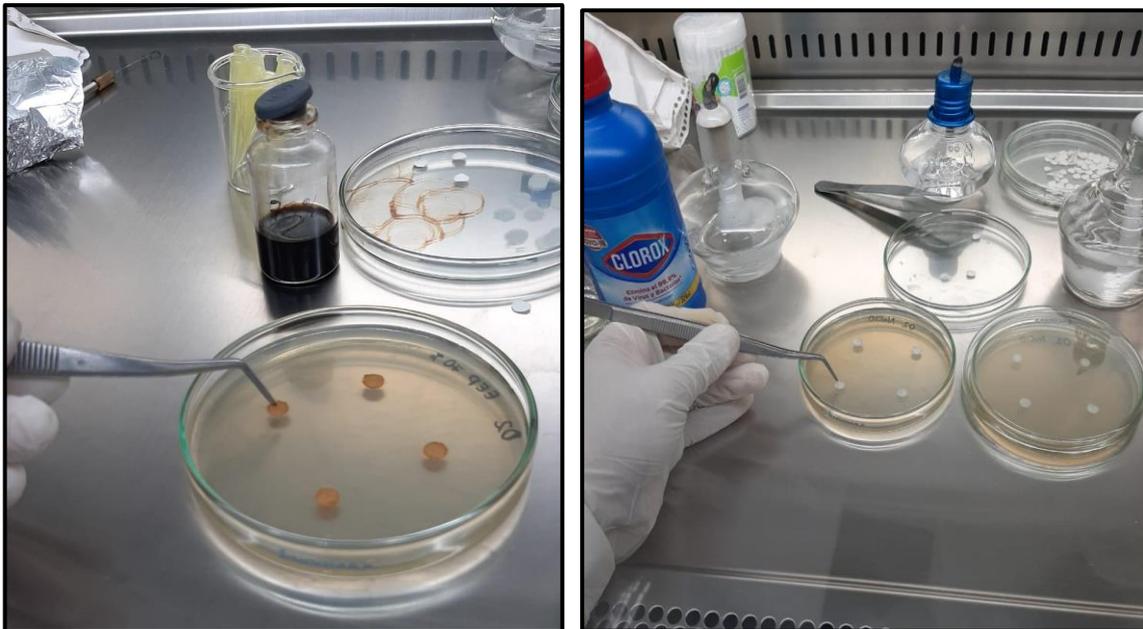
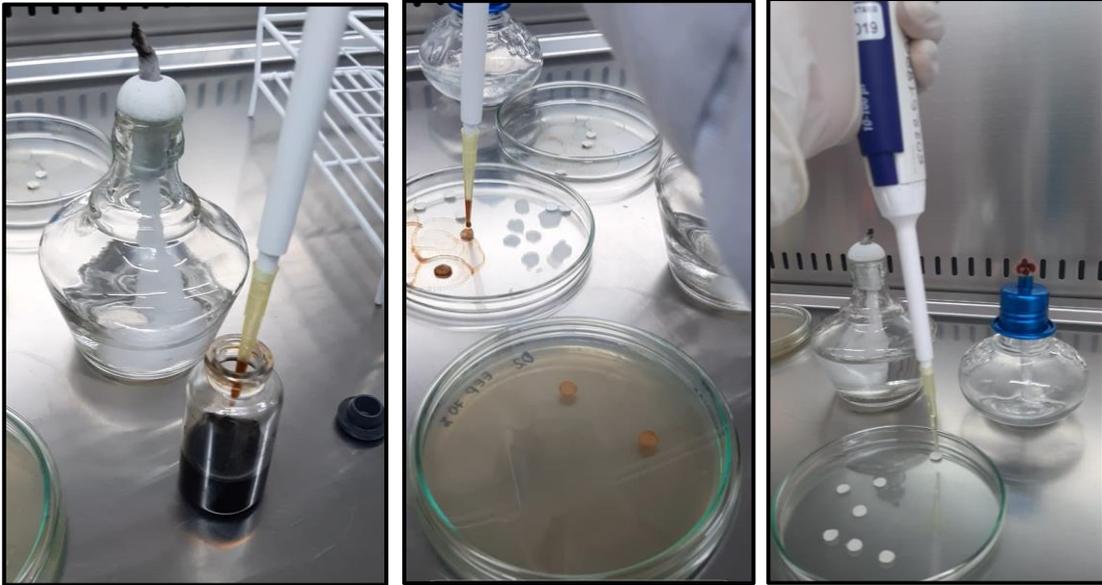


➤ Pruebas de sensibilidad.

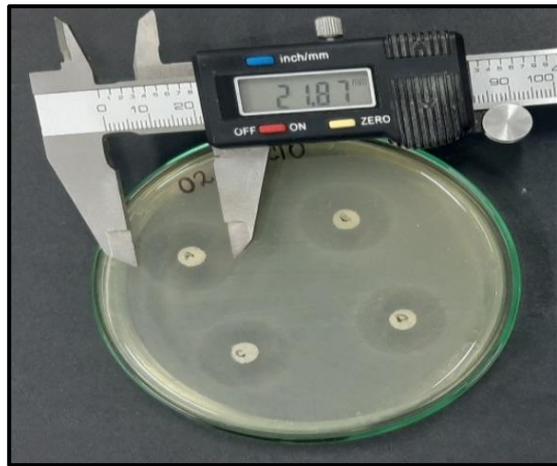
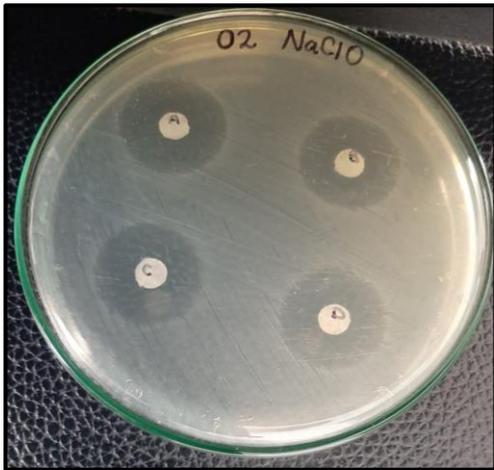
A: Preparación del inóculo a partir de cepas de *Enterococcus faecalis* gamma hemolíticos aisladas de Agar Sangre (nótese la turbidez en el tubo de ensayo, en escala McFarley 0.4))

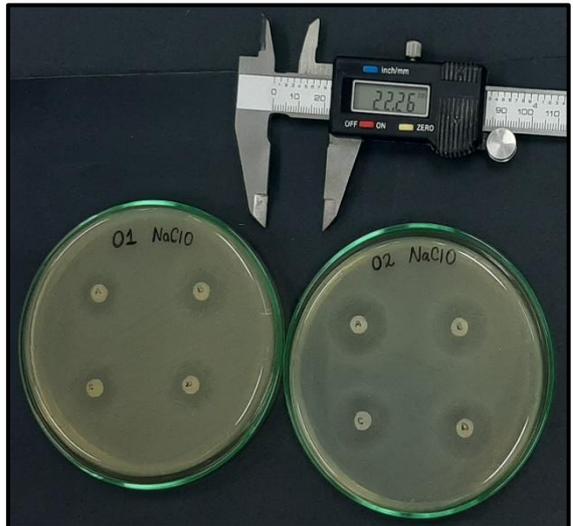
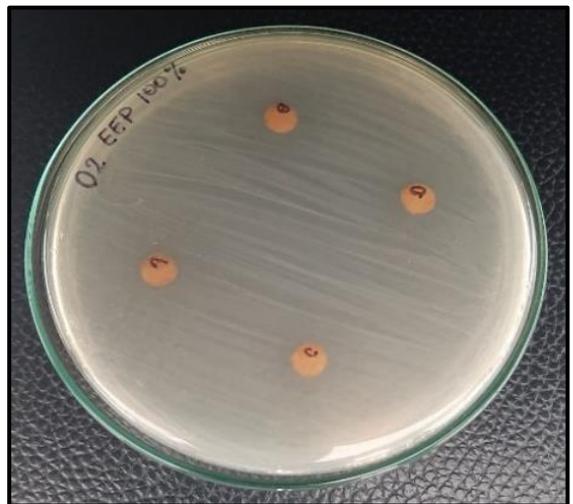
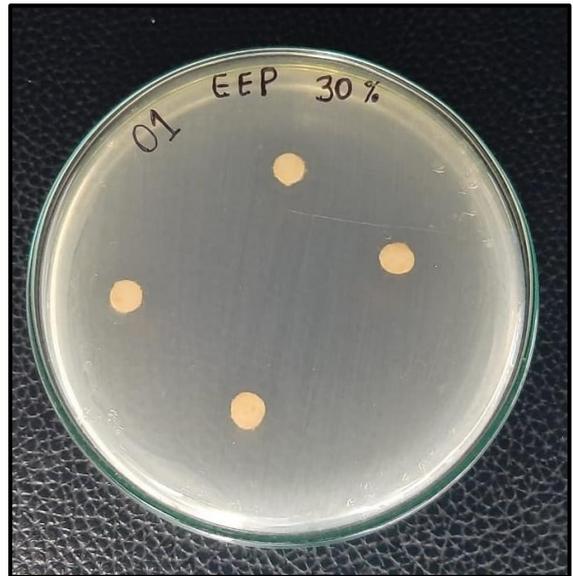


- Aplicación de las sustancias (EEP e NaClO) mediante el método por difusión de disco en las placas de agar Müeller Hinton que contenían la bacteria *Enterococcus faecalis*.



➤ Control y medición de halos de inhibición generado.





ANEXO 4

TABLAS DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS

- Tabla de las pruebas de normalidad.

Pruebas de normalidad						
Grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
EEP 30%	,145	8	,200*	,948	8	,696
EPP 70%	,183	8	,200*	,943	8	,641
EEP 100%	,172	8	,200*	,942	8	,630
NaClO 4%	,174	8	,200*	,917	8	,404

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

a. Corrección de significación de Lilliefors

- Tabla de la prueba de homogeneidad de varianzas.

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
72	80,686	3	28	,000
48	83,411	3	28	,000
24	39,632	3	28	,000
12	4,532	3	28	,010

- Tabla de la prueba ANOVA de un factor

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
72	Entre grupos	272,375	3	90,792	24,023	,000
	Dentro de grupos	105,821	28	3,779		
	Total	378,196	31			
48	Entre grupos	117,924	3	39,308	6,748	,001
	Dentro de grupos	163,098	28	5,825		
	Total	281,022	31			
24	Entre grupos	271,166	3	90,389	38,195	,000
	Dentro de grupos	66,262	28	2,366		
	Total	337,427	31			
12	Entre grupos	463,861	3	154,620	149,548	,000
	Dentro de grupos	28,950	28	1,034		
	Total	492,811	31			

➤ Tabla de la prueba de Post Hoc para comparaciones múltiples.

Comparaciones múltiples

Tamhane

	(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Li	Ls
						72	EEP 30%
		EEP 100	1,11625*	,29585	,018	,1708	2,0617
		NaClO 4%	-5,80625*	1,34438	,020	-10,6332	-,9793
	EEP 70%	EEP 30%	-1,36250*	,19150	,000	-1,9500	-,7750
		EEP 100	-,24625	,28690	,958	-1,1799	,6874
		NaClO 4%	-7,16875*	1,34244	,006	-11,9983	-2,3392
	EEP 100	EEP 30%	-1,11625*	,29585	,018	-2,0617	-,1708
		EEP 70%	,24625	,28690	,958	-,6874	1,1799
		NaClO 4%	-6,92250*	1,36125	,007	-11,7309	-2,1141
	NaClO 4%	EEP 30%	5,80625*	1,34438	,020	,9793	10,6332
		EEP 70%	7,16875*	1,34244	,006	2,3392	11,9983
		EEP 100	6,92250*	1,36125	,007	2,1141	11,7309
48	EEP 30%	EEP 70%	1,09375*	,23109	,005	,3421	1,8454
		EEP 100	,74625	,34824	,273	-,3330	1,8255
		NaClO 4%	-3,72500	1,68049	,315	-9,7435	2,2935
	EEP 70%	EEP 30%	-1,09375*	,23109	,005	-1,8454	-,3421
		EEP 100	-,34750	,29737	,853	-1,3496	,6546
		HIPOCLORITO	-4,81875	1,67069	,132	-10,8506	1,2131
	EEP 100	EEP 30%	-,74625	,34824	,273	-1,8255	,3330
		EEP 70%	,34750	,29737	,853	-,6546	1,3496
		HIPOCLORITO	-4,47125	1,69088	,175	-10,4779	1,5354
	HIPOCLO RITO	EEP 30%	3,72500	1,68049	,315	-2,2935	9,7435
		EEP 70%	4,81875	1,67069	,132	-1,2131	10,8506
		EEP 100	4,47125	1,69088	,175	-1,5354	10,4779
24	EEP 30%	EEP 70%	1,50125*	,28206	,001	,6054	2,3971
		EEP 100	,99875*	,28330	,027	,1008	1,8967
		HIPOCLORITO	-5,77250*	1,06841	,004	-9,5087	-2,0363
	EEP 70%	EEP 30%	-1,50125*	,28206	,001	-2,3971	-,6054
		EEP 100	-,50250	,20433	,154	-1,1274	,1224
		HIPOCLORITO	-7,27375*	1,05023	,001	-11,0265	-3,5210

Comparaciones múltiples

Tamhane

(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%		
					Li	Ls	
EEP 100	EEP 30%	-,99875*	,28330	,027	-1,8967	-,1008	
	EEP 70%	,50250	,20433	,154	-,1224	1,1274	
	HIPOCLORITO	-6,77125*	1,05057	,002	-10,5236	-3,0189	
HIPOCLO RITO	EEP 30%	5,77250*	1,06841	,004	2,0363	9,5087	
	EEP 70%	7,27375*	1,05023	,001	3,5210	11,0265	
	EEP 100	6,77125*	1,05057	,002	3,0189	10,5236	
12	EEP 30%	EEP 70%	2,04125*	,22988	,000	1,3359	2,7466
		EEP 100	1,42000	,46660	,079	-,1346	2,9746
		HIPOCLORITO	-7,47125*	,55394	,000	-9,3559	-5,5866
EEP 70%	EEP 30%	-2,04125*	,22988	,000	-2,7466	-1,3359	
	EEP 100	-,62125	,45838	,756	-2,1730	,9305	
	HIPOCLORITO	-9,51250*	,54703	,000	-11,3980	-7,6270	
EEP 100	EEP 30%	-1,42000	,46660	,079	-2,9746	,1346	
	EEP 70%	,62125	,45838	,756	-,9305	2,1730	
	HIPOCLORITO	-8,89125*	,68126	,000	-10,9869	-6,7956	
HIPOCLO RITO	EEP 30%	7,47125*	,55394	,000	5,5866	9,3559	
	EEP 70%	9,51250*	,54703	,000	7,6270	11,3980	
	EEP 100	8,89125*	,68126	,000	6,7956	10,9869	

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