



ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL *CAMELLIA SINENSIS*
(TÉ VERDE) Y PROPÓLEO EN COMPARACIÓN A LA
CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS*
(ATCC 25175)”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:
DOCTOR EN ODONTOLOGÍA**

AUTOR:

CAYO ROJAS CÉSAR FÉLIX

ASESOR:

DR. CERVANTES GANOZA LUIS ADOLFO

JURADO:

DR. MENDOZA LUPUCHE ROMÁN

DR. GUEZZI HERNÁNDEZ LUIS ANDRÉS

DR. MENDOZA MURILLO PAUL ORESTES

LIMA - PERÚ

2019

Título:

Actividad antibacteriana in vitro del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación a la clorhexidina al 0.12% sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

Autor:

César Félix Cayo Rojas

Asesor:

Dr. Luis Adolfo Cervantes Ganoza

Índice

Resumen (Palabras claves)	viii
Abstract (Key words)	ix
I Introducción	1
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.2 Descripción del problema (a nivel local y global	3
1.3 Formulación del problema	6
- Problema General	6
- Problemas Específicos	6
1.4 Antecedentes	8
1.5 Justificación de la investigación	15
1.6 Limitaciones de la investigación	15
1.7 Objetivos	16
- Objetivo General	16
- Objetivos Específicos	16
1.8 Hipótesis	18
II Marco Teórico	21
2.1 Marco conceptual.....	21
III Método	31
3.1 Tipo de investigación	31
3.2 Población y muestra	31
3.3 Operacionalización de variables	32
3.4 Instrumentos	34
3.5 Procedimientos	35
3.6 Análisis de datos	37
3.7 Consideraciones éticas	38
IV Resultados	39
4.1 Contrastación de Hipótesis	39
4.2 Análisis e interpretación	51
V Discusión de resultados	58
VI Conclusiones	62
VII Recomendaciones	65
VIII Referencias	66
IX Anexos	69

Índice de tablas

Tabla 1.....	39
Tabla 2.....	40
Tabla 3.....	41
Tabla 4.....	42
Tabla 5.....	43
Tabla 6.....	44
Tabla 7.....	45
Tabla 8.....	46
Tabla 9.....	47
Tabla 10.....	48
Tabla 11.....	49
Tabla 12.....	50

Índice de figuras

Figura 1.....	39
Figura 2.....	40
Figura 3.....	41
Figura 4.....	42
Figura 5.....	43
Figura 6.....	44
Figura 7.....	45
Figura 8.....	46
Figura 9.....	47
Figura 10.....	48
Figura 11.....	49
Figura 12.....	50

Resumen

Se evaluó la actividad antibacteriana in vitro del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación con la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*, éste estudio fue experimental *in vitro*, longitudinal, prospectivo y comparativo, se colocó discos de difusión sumergidos en propóleo al 10%, 20%, té verde al 10% y 20%, clorhexidina al 0.12% (control positivo) y agua destilada (control negativo) en 15 placas petri, haciendo medición de halos a las 24 y 48 horas; se aplicó las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis para tres grupos independientes y la comparación entre pares independientes, U de Mann Whitney; para muestras independientes y se utilizó la prueba Rangos de Wilcoxon para muestras relacionadas, fueron contrastadas a un nivel de confianza del 95% y nivel de significancia de 5%. A las 24 horas el té verde 10% y clorhexidina obtuvo ($p<0.0001$), té verde 20% y clorhexidina ($p<0.05$). A las 48 horas, el té verde 10% y clorhexidina ($p<0.0001$); té verde 20% y clorhexidina ($p<0.005$). Entre las 24 y 48 horas, el té verde al 10% ($p=0.063$); té verde al 20% ($p=0.011$) y clorhexidina ($p=0.007$). A las 24 horas, el propóleo 10% y clorhexidina ($p<0.0001$), propóleo 20% y clorhexidina ($p=0.023$). A las 48 horas, propóleo 10% y clorhexidina ($p<0.0001$), propóleo 20% y clorhexidina ($p=0.022$). Entre las 24 y 48 horas, propóleo 10% ($p=0.046$), para propóleo al 20% ($p=0.014$) y clorhexidina ($p=0.007$). Como conclusión la clorhexidina al 0.12% presenta mayor actividad antibacteriana que el propóleo y el té verde, tanto a las 24 como a las 48 horas, sin embargo el propóleo al 20% presenta mayor actividad antimicrobiana respecto al té verde al 20% y sus efectos disminuyen con el paso del tiempo.

Palabras Clave: Camellia sinensis (té verde), própolis y clorhexidina.

Abstract

The in vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* (green tea) and propolis compared to 0.12% chlorhexidine was evaluated against the growth of *Streptococcus mutans* strains, this study was experimental in vitro, longitudinal, prospective and comparative, discs were placed diffusion immersed in 10% propolis, 20%, 10% and 20% green tea, 0.12% chlorhexidine (positive control) and distilled water (negative control) in 15 petri dishes, measuring halos at 24 and 48 hours; the nonparametric tests of Kruskal Wallis were applied for three independent groups and the comparison between independent pairs, U of Mann Whitney; for independent samples and the Wilcoxon Ranges test for related samples was used, they were contrasted at a confidence level of 95% and level of significance of 5%. After 24 hours, 10% green tea and chlorhexidine obtained ($p < 0.0001$), 20% green tea and chlorhexidine ($p < 0.05$). At 48 hours, 10% green tea and chlorhexidine ($p < 0.0001$); 20% green tea and chlorhexidine ($p < 0.005$). Between 24 and 48 hours, 10% green tea ($p = 0.063$); 20% green tea ($p = 0.011$) and chlorhexidine ($p = 0.007$). At 24 hours, propolis 10% and chlorhexidine ($p < 0.0001$), propolis 20% and chlorhexidine ($p = 0.023$). At 48 hours, propolis 10% and chlorhexidine ($p < 0.0001$), propolis 20% and chlorhexidine ($p = 0.022$). Between 24 and 48 hours, propolis 10% ($p = 0.046$), for propolis at 20% ($p = 0.014$) and chlorhexidine ($p = 0.007$). In conclusion, 0.12% chlorhexidine has higher antibacterial activity than propolis and green tea, both at 24 and 48 hours, however, 20% propolis has greater antimicrobial activity than 20% green tea and its effects they diminish with the passage of time.

Key words: Camellia sinensis (green tea), propolis and chlorhexidine.

I. Introducción

Al día de hoy se sabe que el agente causal de la caries dental es la bacteria *Streptococcus mutans*, puesto que ésta al metabolizar la glucosa, libera ácido láctico ocasionando de esta manera la desmineralización del esmalte, es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación con la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans*, puesto que hay evidencia científica que el té verde presenta dentro de sus componentes el galato de epigallocatequina que actúa en contra del efecto de acidogenicidad y acidofilia del *Streptococcus mutans* y con respecto al propóleo la inhibición de la glucosiltransferasa que utiliza el *Streptococcus mutans* para adherirse a la placa bacteriana, puesto que este producto posee apigenina y tt farnesol, es por ello que este trabajo pretende consolidar este aspecto teórico al demostrar su efectividad antibacteriana por parte de ambos productos sobre el principal agente microbiano de la caries, para ello se plantea la siguiente hipótesis de estudio: El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) y el extracto etanólico de propóleo presentaría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, frente al crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación con la clorhexidina al 0.12%.

Esta investigación está dividida en nueve partes; primero, la introducción que abarca como subtemas, el planteamiento del problema, descripción del problema, formulación del problema, antecedentes, justificación, limitaciones, objetivos e hipótesis de la investigación; segundo, el marco teórico, donde se exponen las bases teóricas fundamentales de la investigación; tercero, el método, donde se detalla el

tipo de investigación, población y muestra, así como la operacionalización de las variables, instrumentos, procedimientos y análisis de datos; cuarto, resultados, donde se expone mediante tablas y figuras el análisis obtenido de forma descriptiva e inferencial; quinto, discusión de resultados, donde se compara los resultados obtenidos, con los antecedentes relacionados directamente con esta investigación; sexto, conclusiones; sétimo, recomendaciones; octavo, referencias y finalmente noveno, anexos.

1.1 Planteamiento del Problema

Las personas entre 3 y 11 años de edad en Perú presentan un alta prevalencia de caries ascendiendo a un 85% del total de la población de niños menores de 12 años, debido a una mala higiene bucal (Ministerio de salud, 2017). Siendo la higiene bucal uno de los métodos más efectivos e importantes en la prevención de caries, es que muchos profesionales de la salud están incluyendo las propiedades terapéuticas de la medicina tradicional en las pastas dentales y enjuagatorios bucales, tanto así, que en la actualidad la medicina moderna no puede prescindir de los principios activos que ofrece la medicina tradicional tan variada con múltiples propiedades antimicrobianas, siendo Perú, uno de los países que mantienen sus tradiciones de medicina complementaria, gracias a la inmensidad de los recursos naturales que proveen su vasta y variada geografía, la importancia en la actualidad de la medicina natural se evidencia por el alto consumo de los productos recomendados por esta alternativa para el manejo de las enfermedades y por su alta efectividad a bajo costo puesto que la medicina natural no procesada farmacológicamente es accesible para el poblador peruano de acuerdo a su situación

económica. Hoy en día estudios de la Sociedad Peruana de Medicina Alternativa y Complementaria (SPEMAC), muestran un aumento superlativo de los tratamientos médicos alternativos y complementarios, pasando de un 33.8% en 1999 a un 42.1% en 2006 en el Perú. (Sociedad Peruana de Medicina Alternativa y Complementaria, 2013)

Uno de los métodos más recomendados y utilizados por la odontología es la prevención, de manera que se busca dar a conocer a la población que existen productos naturales de bajo costo social, que ayudan a mantener la salud de sus hijos, siendo la medicina natural una buena opción terapéutica, por ello se realizó un estudio in vitro de análisis microbiológico del extracto etanólico de té verde a diferentes concentraciones y el extracto etanólico de propóleo y evaluar en ambos la actividad antibacteriana mediante los halos de inhibición que logran frente al *Streptococcus mutans* tomando como referencia al control positivo (Clorhexidina al 0.12%) y como control negativo al agua destilada, este estudio se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega – Facultad de Odontología, durante el mes de mayo y junio del 2018.

1.2 Descripción del problema

Diversos autores como Hegde y Kamath (2017), demostraron que la clorhexidina al 0.12% disminuye significativamente el número de cepas de *Streptococcus mutans* en comparación a un enjuagatorio combinado y otro enjuagatorio de té verde. Mohan, Uloopi, Vinay y Rao (2016), demostraron que tanto el diodo láser y el propóleo de Brasil presentan similar efectividad tanto como el 2% de clorhexidina en la desinfección de cavidades, para ello se hizo un estudio comparativo a simple ciego en forma aleatoria con grupos de 20 piezas dentarias.

Anita *et al.* (2015), evaluaron la efectividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de *Camellia sinensis* contra el *Streptococcus mutans* y el *Lactobacillus acidophilus* y demostraron que la concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto de té verde contra el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* era de 0,2% y 0,3% respectivamente, se encontró que la concentración mínima bactericida (MBC) era de 0,8% y 0,9%, respectivamente. La zona media de inhibición para 30 μ l conteniendo 300 μ g de extracto etanólico de té verde y control contra *S. mutans* fue de 18,33 mm y 14,67 mm, respectivamente y contra *L. acidophilus* fue de 12,67 mm y 7,33 mm, respectivamente, llegando a la conclusión de que el té verde presenta efectividad antimicrobiana frente a las bacterias, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Libério *et al.* (2009), analizó los estudios *in vitro* e *in vivo* publicados entre 1978 y el año 2008 sobre el efecto bactericida del propóleo sobre el *Streptococcus mutans*, la adherencia bacteriana, la actividad glucosiltransferasa y los indicadores de caries. Diferentes investigaciones realizadas con extractos etanólicos de propóleo en bruto, en fracciones aisladas y compuestos purificados mostraron una disminución de los recuentos de colonias de *Streptococcus mutans* y un efecto inhibitorio de adhesión y de la actividad de glucosiltransferasa, que se consideran características importantes en el desarrollo del proceso de caries. Moreno, Martínez y Figueroa (2016), demostraron que el propóleo brasileño libre de flavonoides (tipo 6) presentaba efectos bacteriostáticos contra los *Streptococcus mutans* e inhibió la actividad de las enzimas glucosiltransferasas. Mayta y Sacsquispe (2010), evaluaron la actividad antibacteriana del propóleo al 10% y 30% y lo comparó con clorhexidina al 0.12% y 0.05%, listerine® y agua destilada; usó el método de Kirby-Bauer. Aplicaron un diseño experimental con muestra de 16. Como conclusión obtuvo que el extracto

etanólico de propóleo al 30% fue más eficaz que el Listerine® contra el *Streptococcus mutans* ($p < 0,001$). Villalba L. (2010), evaluó el efecto antibacteriano del extracto alcohólico y extracto acuoso de *Camellia sinensis* (té verde) a la concentración de 20%; 10 % ; 5 % ; 2.5 % ; 1.25% y 0.625 % sobre el crecimiento bacteriano CMI (Concentración mínima inhibitoria) y N° de UFC (Unidad Formadora de Colonias) de *S. mutans*, cultivadas en medio Agar Mueller Hinton y concluyó que las concentraciones de extracto alcohólico y extracto acuoso de la *Camellia sinensis* (té verde) al 5%, presentó eficacia antibacteriana estadísticamente significativa frente al *S. mutans*. Es por los antecedentes antes expuestos que se investigó el efecto antibacteriano del propóleo al 10% y 20% y compararlo con el té verde (*Camellia sinensis*) al 10% y 20%, tomando como control positivo la clorhexidina al 0.12% y así demostrar cuál de los dos productos naturales presenta mayor eficacia antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* y a la vez determinar cuál es la concentración óptima para lograr un efecto similar o superior a la clorhexidina al 0.12%, planteando así como hipótesis principal que el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) y el extracto etanólico de propóleo presentaría diferencias significativas en la actividad antibacteriana frente al crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación con la clorhexidina al 0.12%, con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana in vitro del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación con la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Contribuyendo así a afianzar la alternativa de uso del propóleo y el té verde como uso del odontólogo en sus tratamiento preventivos y terapéuticos para favorecer la salud oral.

1.3 Formulación del Problema

- Problema General

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación a la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

- Problemas Específicos

- ¿Cuál es la actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?
- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado?

- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado?
- ¿Existirá diferencias entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado?

- ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado?

1.4 Antecedentes

Hegde y Kamath (2017), compararon la eficacia del enjuagatorio con clorhexidina (0.12%) y la combinación (clorhexidina y fluoruro sódico) con el enjuague de extracto de té verde (0.5%) para reducir el recuento de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en niños. La muestra estuvo conformada por 75 escolares de 8 a 12 años con cuatro o más índice de dientes obturados, ausentes y cariados. Se formaron tres grupos de niños de forma aleatoria y se les pidió que se apliquen enjuague bucal prescrito, una vez al día durante dos semanas después del desayuno bajo estricta supervisión. Al inicio del estudio se tomó una muestra salival total no estimulada (2 ml) y luego del aislamiento, posteriormente se hizo un recuento de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. Los resultados de su estudio indican que hubo una disminución estadísticamente significativa en el recuento de colonias *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en los tres grupos de estudio, ésta disminución estadísticamente significativa en los recuentos medios de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* fue más en el grupo de clorhexidina al 0.12% que en el enjuagatorio combinado con enjuague bucal y el 0.5% del té verde y se obtuvo una desviación estándar de 5.227, además no hubo diferencias estadísticamente significativas en la disminución del recuento de colonias *S. mutans* y lactobacilos entre el enjuague bucal de combinación y el grupo de enjuague té

verde al 0.5%. Finalmente se concluyó en su estudio que el enjuague bucal con té verde es una excelente alternativa preventiva de la caries dental.

Mohan *et al.* (2016), El objetivo de su estudio fue evaluar y comparar la eficacia de desinfección de cavidades, aplicando el gel de APF, el propóleo brasileño, el láser de diodo y el 2% de clorhexidina (CHX). Se hizo un ensayo controlado aleatorio, simple ciego con agrupado paralelo. Ochenta molares deciduos en 68 niños con caries oclusal a nivel de la dentina, se dividió en cuatro grupos de forma aleatoria (20 dientes cada uno), siendo el grupo I: gel APF; el grupo II: Propóleos; el grupo III: láser de diodo y el grupo IV: 2% de CHX (control). Se preparó las cavidades utilizando el procedimiento TRA (tratamiento restaurativo atraumático), las muestras de dentina se recogieron antes y después de la aplicación del agente desinfectante por grupo. Se realizó la evaluación microbiológica, para el recuento total viable (TVC) en agar sangre, con respecto al *Streptococcus mutans* en agar mutans sanguis (MS) y el *Lactobacillus* (LB) en medio de cultivo agar Rogosa. La comparación de muestras relacionadas (prueba de Wilcoxon) mostró reducción estadísticamente significativa en los recuentos de todos los grupos, y se obtuvo como una diferencia de 42.8 ± 37.5 y un valor de 0.004 La prueba de U de Mann - Whitney para comparar muestras independientes, demostró que el gel de APF tenía una menor efectividad antibacteriana entre los agentes evaluados. Como conclusión se demuestra que el diodo láser y el propóleo brasileño no presentan diferencias estadísticamente significativas, al igual que el 2% de clorhexidina en el proceso de desinfección de preparaciones de la cavidad dentinaria.

Anita, *et al.* (2015), realizaron un estudio con el fin de evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Camellia sinensis* sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Se obtuvo que la concentración mínima inhibitoria del extracto de té verde sobre *Streptococcus mutans* y *L. acidophilus* era de 0,2% y 0,3% respectivamente, además se encontró que la concentración bactericida mínima era de 0,8% y 0,9%, respectivamente. La zona media inhibitoria para 30 µl con 300 µg de extracto etanólico de té verde y control contra *S. mutans* fue de 18,33 mm y 14,67 mm, respectivamente. La zona media inhibitoria para 30 µl con 300 µg de extracto etanólico de té verde y control contra *L. acidophilus* fue de 12,67 mm y 7,33 mm, respectivamente. Como conclusión se obtuvo que el té verde tiene actividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* y el *Lactobacillus acidophilus*.

Arévalo y Gómez (2016), realizaron un estudio respecto al té verde (*Camellia sinensis*) donde realizan la acción antibacteriana de la infusión de té verde sobre microflora salival, especialmente contra *Streptococcus mutans* y el *Lactobacillus*. Por otro lado, destacan otros estudios respecto del té verde y otros productos naturales sobre microorganismos periodontales y sus actividades metabólicas que demuestran eficacia bactericida contra la *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mutans*.

Libério *et al.* (2009), mencionaron que el propóleo es una sustancia resinosa hecha por las abejas y posee muchas actividades biológicas, y que muchos estudios han

informado de su posible aplicación en el control de la caries dental. Sin embargo, la diversidad de componentes químicos del propóleo plantea un problema superlativo en su control de calidad, y para ellos es importante destacarlo puesto que ya se usa el propóleo como enjuagatorio o topicaciones en la cavidad oral. Por ello, se justifica un análisis crítico en forma retrospectiva de estudios realizados sobre propóleos entre 1978 y 2008 especialmente el efecto bactericida sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, la adherencia bacteriana, la actividad glucosiltransferasa. Diversas investigaciones realizadas con extractos etanólicos de propóleo en bruto, fracciones aisladas y compuestos purificados mostraron una disminución en el recuento de colonias de *Streptococcus mutans* y además se mostró una capacidad inhibitoria en la adhesión y la actividad de la enzima glucosiltransferasa. Los datos de estudios *in vivo* han demostrado reducciones estadísticamente significativas en los recuentos de colonias de *Streptococcus mutans* en la saliva. Estos hallazgos indican que los componentes del propóleo son excelentes agentes cariostáticos. Por otro lado, la variación de los componentes químicos del propóleo respecto a su distribución geográfica puede plantear inconvenientes para su uso clínico común.

Moreno *et al.* (2016) demostraron que el propóleo brasileño carente de flavonoides (tipo 6) presentó efecto bactericida contra los *Streptococcus mutans* e inhibió la actividad de las enzimas glucosiltransferasas de estas bacterias. Además evaluaron la influencia del extracto etanólico de un nuevo tipo de propóleo (EEP) y su fracción de hexano purificada (EEH) en los *Streptococcus mutans* y el desarrollo de caries dental en ratas, además se examinó la composición química del propóleo por

cromatografía de gases y espectrometría de masas. Los efectos de EEP y EEH en *Streptococcus mutans* UA159 y *Streptococcus sobrinus* 6715. También se probó su efecto sobre el protontranslocating F-ATPasa. En su estudio en animales, las ratas fueron infectadas con *S. sobrinus* 6715 y alimentadas con dieta cariogénica 2000. Las ratas fueron tratadas tópicamente dos veces al día con cada uno de los extractos (o control) durante 5 semanas. Después del período experimental, se identificó la composición microbiana de su placa dental y presencia de caries. Los resultados mostraron que los ácidos grasos (oleico, palmítico, linoleico y esteárico) fueron los principales compuestos identificados en EEP y EEH. Estos extractos no mostraron efectos importantes el efecto bactericida contra los *Streptococcus mutans*. Sin embargo, EEP y EEH redujeron de forma estadísticamente significativa la formación de ácidos por parte de los *Streptococcus mutans* y también inhibieron su actividad de F-ATPasa (60-65%).

Moromi *et al.* (2007), tuvieron como objetivo determinar, el efecto antibacteriano *in vivo* de la infusión de *Camellia sinensis* (Té verde), como enjuagatorio al 10%; se recolectó saliva no estimulada de 32 personas aparentemente sanas, antes del enjuague, inmediatamente después, y luego a los 30 minutos. Se sembraron las muestras en Agar Trypticase Soya y Agar Mitis Salivarius Bacitracina; para luego hacer el recuento de colonias de *Streptococcus mutans* por ml. La prueba “t” y Wilcoxon, indican que existen diferencias estadísticamente significativas entre los recuentos realizados. Por otro lado para determinar la presencia de polifenoles, en el enjuagatorio se realizó espectrofotometría infrarroja y se observó picos de transmitancia en longitudes de onda para los grupos oxidrilos (-OH) y anillo

aromático. Como conclusión se obtuvo que existe efectiva reducción en el recuento de microorganismos de la microflora salival y respecto al *Streptococcus mutans*, se aprecia la disminución estadísticamente significativa a los 30 minutos de recuento de unidad formadora de colonias.

Mayta y Sacsquispe (2010), demostraron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (EEP) de Oxapampa-Perú evaluando *in vitro* su acción antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* para ello se aplicó concentraciones de propóleo al 10% y 30% y se comparó con la clorhexidina 0.12%, 0.05%, listerine® y agua destilada. Se evaluó la actividad antibacteriana mediante el método de Kirby-Bauer mediante un diseño experimental *in vitro* tomando como muestra 16. Se realizó la prueba t de Student para analizar los datos recabados. Se obtuvo como resultado que el extracto etanólico de propóleo (EPP) al 30% presentó 11, 77mm \pm 0,19mm de halo inhibitorio contra el *Staphylococcus aureus* y con respecto al extracto etanólico del propóleo, tanto a las 24 y 48 horas, se obtuvo diferencias estadísticamente significativas (p=0.007), además se determinó respecto al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* que el extracto etanólico del propóleo al 10% y 30%, tanto 24 y 48 horas, no demostraron diferencias estadísticamente significativas. Se llegó a la conclusión que el EEP al 30% obtuvo mayor efecto antibacteriano que el colutorio de Listerine® contra el *Streptococcus mutans* (p<0.001), sin embargo presentó similar efectividad que la clorhexidina al 0.05% frente al *S. aureus*.

Villalba (2010), el objetivo de su estudio fue determinar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico y extracto acuoso de *Camellia sinensis* (té verde) a la concentración de 20%, 10 %, 5 %, 2.5 %, 1.25% y 0.625 % sobre el crecimiento y número de colonias de *S. mutans*, para ello se cultivaron estas cepas en Agar Mueller Hinton, disueltas en suero fisiológico a una concentración comparable al tubo n° 3 de la escala de Mc Farland determinado por espectrofotometría (densidad óptica de 0.08-0.10 a 625nm equivalente a $1-2 \times 10^8$ UFC / ml). Según la dilución antes mencionada se tomó 0.6 ml para colocarlas en placas petri , luego a estas se agregó 15 ml del medio agar Mueller Hinton en estado líquido, se mezclaron ambas soluciones, se deja enfriar hasta que solidifique. Luego con una pipeta de Pasteur se realizaron dos orificios en el medio de cultivo, cada uno correspondiente a un tercio de la placa luego en el primer pozo se colocará 0.6 ml (600 ul) de cada una de las concentraciones (20% ,10 % , 5% , 2.5% ,1.25% y 0.625%) del té verde (acuoso y alcohólico), en el segundo pozo se colocó agua destilada estéril y en el tercio de la placa restante se colocó un disco de sensibilidad de amoxicilina. Para procesar los resultados se hizo el análisis de varianza de ANDEVA 95 % de confiabilidad y la prueba de Tuckey. Los resultados indican que al comparar la prueba de susceptibilidad bacteriana y la viabilidad celular sobre *S. mutans*, existe un efecto antibacteriano de los extractos alcohólico y acuoso de la *Camellia sinensis* (té verde) al 10% y 5%, logrando mayor efectividad el extracto alcohólico, con un CMI de 5%. Además esta última tiene una efectividad antibacteriana estadísticamente significativa frente a aislamientos de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus mitis*, sin afectar el crecimiento y desarrollo de *Streptococcus salivarius*.

1.5 Justificación de la investigación

El té verde presenta dentro de sus componentes el galato de epigalocatequina que actúa en contra del efecto de acidogenicidad y acidofilia del *Streptococcus mutans* y con respecto al propóleo la inhibición de la glucosiltransferasa que utiliza el *Streptococcus mutans* para adherirse a la placa bacteriana, puesto que este producto posee apigenina y tt farnesol, es por ello que este trabajo justifica consolidar este aspecto teórico al demostrar su efectividad antibacteriana por parte de ambos productos sobre el principal agente microbiano de la caries a saber el *Streptococcus mutans*. Es por esta razón que se desarrolló este estudio para comparar la efectividad tanto del té verde como el propóleo frente a la clorhexidina y así demostrar qué producto presenta mayor efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* y así brindar una propuesta económica de fácil alcance social para todas aquellas personas interesadas en cuidar su salud bucal frente a la caries dental y también así poder disminuir el índice de caries en nuestra población.

1.6 Limitaciones de la investigación

Como limitación de investigación fue encontrar falta de estudios abundantes que compare el efecto bactericida del propóleo y el té verde a diferentes concentraciones, frente al *Streptococcus mutans* tomando como referencia de control positivo a la clorhexidina al 0.12%. Otra limitación es el tiempo de activación de las bacterias para poder evaluar su crecimiento en el medio de cultivo, puesto que una vez que se activa se dispone de un máximo de 48 horas para empezar a ejecutar el estudio experimental.

1.7 Objetivos

- **Objetivo general**

Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del *Camellia sinensis* (té verde) y propóleo en comparación con la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

- **Objetivos específicos**

- Determinar la actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Determinar es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Comparar la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.

- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.

1.8 Hipótesis

- Hipótesis General

El extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde) y el extracto etanólico de propóleo presentaría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, frente al crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), en comparación con la clorhexidina al 0.12%.

- Hipótesis Derivadas

- Presentaría actividad antibacteriana la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Presentaría actividad antibacteriana el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Presentaría actividad antibacteriana el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).
- Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.

- Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas entre actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y la clorhexidina al 0.12%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado.
- Existiría diferencias significativas entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.

- Existiría diferencias significativas entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Marco Conceptual

Como se mencionó antes, Hegde *et al.* (2017), demostraron que la clorhexidina al 0.12% reduce significativamente el recuento de colonias de *Streptococcus mutans* esto se debe a que actúa bloqueando los grupos ácidos libres (sulfatos, carboxilos y fosfatos) de las glucoproteínas salivales. Esto trae consecuencia una disminución de la adherencia proteica sobre la superficie del diente, evitando o retardando la formación de la película adquirida. Además bloquea la adhesión y coagregación de las bacterias a la película adquirida. La clorhexidina se une a las cargas negativas que se hallan sobre la pared celular de la bacteria y de esta forma dificulta el mecanismo de adherencia a la película adquirida. Una vez que se ha formado la película adquirida, las bacterias se unen a esta a través de los iones Ca^{2+} , formando así la placa dentobacteriana; la clorhexidina tiene la capacidad de desplazar el Ca^{2+} impidiendo la adherencia y coagregación a la biopelícula (Negroni, 2009). Respecto al propóleo su actividad antimicrobiana es mayor contra las bacterias gram positivas, que las gram negativas. Se sugiere que esta capacidad se debe a la acción de flavonoides como: pinocembrina (flavonone) y galangina (flavonoles), así como también del fenil éster del ácido cafeico, cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición de la RNA polimerasa bacteriana. El mecanismo de acción de la galangina, consiste además en degradar la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que conduce a una pérdida de iones de potasio, provocando autólisis de la célula. La quercetina, aumenta la permeabilidad de la membrana celular, y disipa su potencial de acción haciendo que las bacterias pierdan su

capacidad de movimiento, transporte de membrana y síntesis de ATP, haciéndolas más vulnerables al ataque inmunológico y potenciando a los antibióticos, según Viuda, Fernández, Ruiz y Pérez (2008). Respecto a la *Camellia sinensis* (té verde), se debe precisar lo siguiente respecto a su eficacia contra el *Streptococcus mutans*, se sabe que la amilasa salival o ptialina hidroliza el almidón de los alimentos en azúcares (glucosa, maltosa), los que a su vez son fermentados por enzimas bacterianas permitiendo la producción de ácidos, el té verde inhibe dicha amilasa salival lo que no permitiría la degradación de la sacarosa y de esta manera los *Streptococcus mutans* no podrían metabolizar la glucosa y por ende no producir ácido láctico. Y para mencionar un factor más, que potencia su efecto anticariogénico, es que las catequinas ECG y EGCG inhiben la enzima glucosiltransferasa bacteriana, responsable de la síntesis de glucanos responsables a su vez de la adherencia bacteriana a la superficie dental (Padilla, 2015).

Teorías generales sobre el tema

Factores relacionados con el huésped. Con respecto al huésped, es importante conocer y analizar las propiedades de la saliva y el esmalte contra las bacterias cariogénicas, especialmente del *Streptococcus mutans*.

Saliva

La saliva es un fluido glandular fisiológico humano que contiene Ca^{2+} , agentes *buffer*, proteínas, lisozimas, H_2PO_4 , Ig A, F, glucoproteínas, proteoglicanos, etc. La saliva contiene escaso ion fluoruro, pero aun así es muy importante en el proceso de remineralización ya que al unirse al cristal de hidroxiapatita que presenta el esmalte como material inorgánico, le confiere mayor resistencia al proceso

cariogénico, por otro lado la saliva es esencial en la regulación ácido - base de la cavidad oral ya que ésta presenta un pH muy ligeramente ácido de 6.8. En la saliva también hay presencia de bacterias acidógenas y acidúricas que forman la placa dentobacteriana y metabolizan carbohidratos formando rápidamente ácido láctico como producto final de su fermentación y es así como el pH decrece en los primeros veinte minutos después de la ingestión de carbohidratos para incrementarse gradualmente; se plantea que en treinta minutos debe autorregularse y tomar sus valores normales. Para que esto último se produzca actúa el sistema tampón orgánico e inorgánico de la saliva, que incluye proteínas, fosfatos y bicarbonato, como éste último participa más en el proceso de regulación del pH salival, la disminución de ésta última provoca una caída del pH de 5.5 o menos, siendo éste considerado pH crítico, mientras que el incremento de saliva permite la recuperación del pH cercano a 7 (Núñez y García, 2010).

Microflora

En la boca existen 10^{10} bacterias entre los que destacan del género *Streptococcus* son las especies *mutans*, *salivarius*, *mitis*, *sanguis*, y el *Lactobacillus acidophylus*, éstas han sido relacionados con la formación de caries dental en humanos. Para que se pueda dar inicio a la formación de caries dental es imprescindible que la bacteria se adhiera al esmalte. Esta adherencia bacteriana se logra por acción de la enzima glucosiltransferasa que sintetiza el *Streptococcus mutans* y que éstas interactúan con algunas proteínas de la saliva que son adsorbidas por el esmalte dental, ésta interacción se produce por acción de cargas electrostáticas de las proteínas debido a que actúan como iones dipolares debido a su estructura química, de ahí que se demuestre su propiedad anfótera. También se ha demostrado que las bacterias se

adhieren a la película adquirida y entre sí, gracias a las adhesinas que se encuentran en su pared celular. Respecto al *Streptococcus mutans*, se sabe que es el agente causal de la caries como factor biológico debido a las siguientes características:

- Acidogenicidad: puede fermentar los carbohidratos de la dieta para liberar ácido láctico como resultado de su fermentación que ocurre en su citoplasma haciendo que disminuya el pH y se descalcifique los cristales de hidroxiapatita del esmalte dental.
- Aciduricidad: tiene la capacidad de mantener el pH ácido.
- Acidofilia: puede resistir la acidez del medio eliminando protones. Las enzimas bacterianas glucosiltransferasa y fructosiltransferasa (GTF y FTF), se obtienen como resultados del polímero glucano y fructano, a partir de la hidrólisis del almidón y éstos glucanos le permiten a la bacteria adherirse a la película adquirida, además de ser una fuente de alimentación. Las glucosiltransferasas se clasifican en GTF-S, que producen dextrano, que se caracteriza por uniones lineales alfa (1-6), es soluble en agua y de aspecto globular. El GTF-I, produce un glucano apolar y fibrilar caracterizado por uniones alfa (1-3) y la GTF-SI, que produce los dos tipos de glucanos. El *Streptococcus mutans* produce las tres clases de glucosiltransferasas es por ello que a la GTF-I y la GTF-SI, con alto predominio alfa (1-3), se le conoce como mutano, que por sus propiedades bioquímicas, participa en los procesos de adherencia, coagregación y acumulación bacteriana en la película adquirida. (Núñez y García, 2010).

Bases teóricas especializadas sobre el tema

Té Verde

Origen. El té verde se origina del sur de China y se hace cultivos de éste en Asia y África Central. Es común en China el consumo del té verde y además éste país es el principal productor de ésta planta. Los tres principales tipos de té verde, el oolong y el negro (Mayta y Sacsquispe, 2010).

Descripción Botánica. Árbol de 1-12 m de altura con denso follaje con un tronco de 25 centímetros de diámetro, corteza lisa, blanquecina. Ramas juveniles grisáceas, glabras; ramosos glabros a pubescentes. Pecíolo 4-8 cm, glabrescente; lámina elíptica a oblonga, 4-14 x 1,5-7,5 m, coriácea, hipófilo verde pálido, glabro a pubescente; epífilo verde oscuro, brillante y glabro, vena media más o menos prominente en ambas superficies; venas secundarias 7-9 en cada hemilimbo, venas reticuladas visibles en ambas caras, base cuneada a anchamente cuneada, margen aserrado a serrulado, raro entero, ápice agudo a acuminado (Keller, Delucchi y Romero, 2011).

Nombre Común: Té Verde.

Clasificación Botánica

Camellia sinensis, perteneciente a la familia Theaceae, del género *Camellia* y especie *Camellia sinensis* (Libério et al., 2009). Los ingredientes activos del té verde, principalmente son las catequinas y la cafeína, que se suelen aislar mediante extracción con disolventes orgánicos. La composición del té varía según el clima, la variedad, y la edad de la hoja. El té también contiene grandes cantidades de taninos o sustancias fenólicas (5-27%) que consisten en catequina (flavanol) y unidades de ácido gálico, siendo las del té verde más altas que las del té negro

(Leung y Foster, 1996). En general, las hojas de té verde fresco contienen 36% de polifenoles, entre los cuales predominan las catequinas (Perva *et al.*, 2006). Por lo tanto la parte útil de esta planta son las hojas (Keller *et al.*, 2011).

Distribución y Cuidado. Las hojas del té se pueden procesar en té Oolong (semifermentado), el té negro fermentado y el té verde no fermentado, éste último posee más Catechin que los otros dos tipos. El té verde tiene propiedades antioxidantes, antivirales y antitumorales (Anita *et al.*, 2015).

Principales Usos Medicinales. Uso Interno; posee propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antimutagénicas, antidiabéticas, hipocolesterolémicas, antiinflamatorias y preventivas del cáncer. Lo resaltante en el campo odontológico es su actividad anticariogénica que se ha demostrado tanto en experimentos realizados en humanos y animales. Por ejemplo estudios hechos en seres humanos adultos encontró que el enjuague con extracto de té negro se tradujo en una reducción significativa de pH de la placa caída y un menor índice de placa en comparación con el enjuague con agua sola. Los enjuagues frecuentes a corto plazo con el té negro también inhibieron el rebrote posterior y la glucólisis de las bacterias de la placa supragingival humana. Estudios recientes han demostrado que el galato de epigallocatequina (EGCG), el componente monomérico antimicrobiano de las catequinas del té (el principal componente polifenólico en el té) posee fuerte acción antimicrobiana frente al *S. mutans*, particularmente su acidogenicidad y acidofilia, que son los principales atributos para propiciar la caries dental (Xu, Zhou y Wu, 2012).

Preparación de los extracto etanólico

Extracto Alcohólico: Por ejemplo para obtener té verde al 10% de concentración se procede a tomar 10 gr de té verde, se cubre con solución de alcohol al 96%, se deja macerar por 10 días aproximadamente, se filtra y se obtiene 10ml de extracto de té verde que estará al 100% luego se toma 1ml y se enraza a 10ml con agua destilada para obtener el extracto alcohólico a la concentración antes mencionada (Villalba, 2010).

Propóleo

Origen: Es un producto sintetizado por las abejas dentro del panal, cuyos componentes principales son cera y resinas recogidas de brotes o secreciones vegetales. En estos últimos años este producto natural se viene usando de manera amplia sobre todo por su acción antimicrobiana en el campo de la medicina y la odontología. También se ha reportado que el propóleo posee propiedades anticancerígenas (De Castro, Negri, Salatino y Bandeira, 2011).

Características: El propóleo se caracteriza por tener un 55% de resinas variadas y bálsamos aromáticos, 30% de lípidos complejos de tipo ceras, un 10% de aceites esenciales y un 5% de polen. Se han reportado alrededor de 38 flavonas, 12 derivados del ácido benzoico, 14 derivados del alcohol cinámico y el ácido cinámico, 12 componentes entre alcoholes, cetonas y fenoles, 7 terpenos, 11 esteroides, 7 azúcares y 2 aminoácidos. El propóleo resulta de la adición de las secreciones mandibulares de las abejas a las resinas recogidas por estos insectos de diferentes partes de las plantas. Dentro de la colmena, el propóleo es utilizado por las abejas para alinear las paredes internas y sellar posibles aberturas para permitir

el control térmico de la colonia y evitar la entrada de otros insectos. Las abejas utilizan también el propóleo en el panal para embalsamar insectos muertos (Libério *et al.*, 2009). El propóleo es un producto apícola resinoso y complejo, con una variable apariencia física, recogido y transformado por las abejas melíferas, *Apis mellifera*, desde la vegetación que visitan. Puede ser ocre, rojo, pardo, marrón claro o verde, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos. Etimológicamente significa en “defensa de la ciudad”. Se postula que diferentes propóleos pueden presentar diferentes propiedades químicas y farmacológicas (Peña, 2008). Dentro de sus múltiples propiedades destaca el efecto antimicrobiano que posee gracias a que presenta flavonoides (Tolosa y Cañizares, 2002). La farmacodinámica del propóleo ha sido revisada recientemente por Meneses (2005), destacando propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antioxidantes y antineoplásicas. (Viuda *et al.*, 2008). Aunque el propóleo de por sí es bien tolerado por numerosas personas que han recibido tratamientos naturales, faltan estudios sobre los efectos alérgicos debidos a las ceras que presenta este producto. Sin embargo, por su acción contra el *Streptococcus mutans* está siendo investigada para el tratamiento de las caries ya que se ha demostrado que inhiben la glucosiltransferasa, enzima relacionada con la fijación de microbios al tejido dentario. La apigenina y tt-farnesol serían en los causantes de tal inhibición (Peña, 2008).

Preparación del Propóleo

La toma de muestra de propóleo se toma por raspaje a partir de las partes superiores de la colmena, y se coloca en bolsas oscuras de polietileno y en refrigeración. Respecto a la obtención de propóleo consiste en enfriar la muestra hasta 0° C, luego

se pesa 20 gramos, y se transfieren a un matraz de 250 ml y se le añade 200 ml de etanol de 80°, se somete a reflujo en equipo Soxhlet durante una hora, al cabo de este tiempo se detiene y se filtra a través de papel filtro Whatman N° 40; se separa el filtrado y el sólido residual se somete nuevamente a reflujo con 200 ml de solvente correspondiente, el nuevo filtrado se junta con el anterior, obteniendo así el extracto final. Luego se transfiere a un rotavapor tipo Büchi y se mantiene en evaporación hasta que desaparezca el solvente. El sólido que se obtiene se somete a secado en estufa a 70° C durante 2 horas, obteniendo así una concentración al 10% (Jara, 2016)

Streptococcus mutans

En 1924, Clarke aisló esta bacteria de lesiones cariosas en seres humanos. Le dio nombre de *mutans* porque a veces se observaban como estreptococos y en otras ocasiones como cocobacilos, es decir, un comportamiento pleomórfico. La capacidad de adhesión y coagregación de esta bacteria a la película adquirida ocurre por la producción de glucanos solubles e insolubles utilizando las enzimas glucosiltransferasas (GTFs), a partir de los carbohidratos presentes en la dieta. Cuando estas metabolizan la glucosa a partir de la sacarosa hidrolizada producen como producto de su fermentación, por carencia de la mitocondria, el ácido láctico que provoca la formación de cavidades microscópicas a causa de la desmineralización de los cristales de hidroxiapatita del esmalte. Son alfa y gamma hemolíticos (cuando no hay destrucción de la hemoglobina no se forma ningún halo y se llama gamma y si el halo es incompleto se origina un pigmento llamado Biliverdina y aparece un halo verde transparente rodeando a la unidad formadora de colonia, el cual se denomina beta). Todas las cepas de *S. Mutans* fermentan el

manitol, inulina, sorbitol, rafinosa y esculina; algunas cepas fermentan melobiosa; tienen pruebas negativas para ureasa, arginina, hidrolisis de hipurato. Con respecto al aislamiento del grupo *Mutans*, es recomendable el uso del Agar Mitis Salivarius adicionándole 20% de sacarosa, 0,2 U/ml Bacitracina y solución de telurito de potasio al 1%; además, este medio contiene otras sustancias inhibidoras, como azul tripan y cristal violeta. (Gutiérrez, 2006).

Clorhexidina

Es una bisbiguanida catiónica, además es considerado como un excelente agente antimicrobiano efectivo en el campo de la medicina desde 1954. El gluconato de clorhexidina, ha demostrado presentar beneficios clínicos y microbiológicos es. En el transcurso del tiempo se han venido usando diferentes tipos de concentración de clorhexidina como colutorios primero al 0,2% en Europa y posteriormente en Estados Unidos al 0.12%; estas concentraciones de 0,2% y 0,12% son los más usados en el campo de la odontología. La clorhexidina se ha estudiado en numerosos tipos de ensayos controlados y no se detectó ningún indicio de resistencia bacteriana a este producto. Ya se ha demostrado la efectividad del gluconato de clorhexidina al 0,12% en colutorios, sin embargo no es aconsejable enjuagarse con agua inmediatamente después de usarlo, ya que puede disminuir su poder bactericida. (Negroni, 2009).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

Experimental *in vitro*, longitudinal, prospectivo, comparativo y de nivel aplicativo (Hernández, Fernández y Baptista, 2014).

3.2 Población y muestra

Se determinó a partir de un estudio piloto con 5 muestras por grupo obteniendo los siguientes resultados:

mm. (milímetros del halo de inhibición)

<i>Streptococcus mutans</i>	Agua destilada o control negativo	24	0	0	0	0	0
		Horas					
	<i>Camellia sinensis</i> al 10%	48	0	0	0	0	0
		Horas					
	<i>Camellia sinensis</i> al 20%	24	5	5	5	6	6
		Horas					
	Propóleo al 10%	48	5	5	4	6	4
		Horas					
	Propóleo al 20%	24	6	6	6	7	5
		Horas					
	Clorhexidina al 0.12% o control positivo	48	5	5	5	6	6
		Horas					
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	24	5	7	7	6	7	
	Horas						
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	48	5	6	6	5	6	
	Horas						
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	24	7	7	6	6	7	
	Horas						
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	48	7	6	6	6	7	
	Horas						
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	24	10	11	9	10	10	
	Horas						
Clorhexidina al 0.12% o control positivo	48	9	10	9	10	10	
	Horas						

Obteniendo:

$S_1 = 0.71$ (desviación estándar del grupo prueba)

$S_2 = 0.89$ (desviación estándar del grupo control)

$d = 0.5$ (Se asume 0.5 mm de diferencia entre grupo control y prueba)

$Z_\alpha: 1.96$ (coeficiente de confianza)

$Z_\beta: 0.84$ (coeficiente de potencia)

La fórmula que se aplicó es la siguiente, de acuerdo al tipo de estudio y reemplazando los valores de acuerdo a lo obtenido en el estudio piloto.

$$n = \frac{(Z_\alpha + Z_\beta)^2 * (s_1^2 + s_2^2)}{d^2}$$

Obteniendo $n = 14.77$; donde mínimo se puede admitir 15 por grupo de prueba.

$n = 15$

Criterios de selección: Como criterios de inclusión se consideró a las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), activadas y como criterio de exclusión se excluyó a cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), no activadas.

3.3 Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Nivel de medición	Escala de medición	Indicador	Instrum entos
Independiente Extracto etanólico de <i>Camellia</i> <i>sinensis</i> (té verde).	Concentraci ón al 10% y 20%	Cualitativa	Nominal	Difusión en agar Mueller – Hinton.	Discos de difusión
Independiente Extracto etanólico de propóleo.	Concentraci ón al 10% y 20%	Cualitativa	Nominal	Difusión en agar Mueller – Hinton.	Discos de difusión
Independiente Clorhexidina	Concentraci ón de 0.12%	Cualitativa	Nominal	Difusión en agar Mueller – Hinton.	Discos de difusión

Dependiente Actividad antibacteriana contra el <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	Halos de inhibición	Cuantitativa/ Razón	Continua	Medida del halo de inhibición en milímetros.	Pie de Rey y regla milimetrada.
Variable Interviniente Tiempo	24 horas 48 horas	Cuantitativa/razón	Continua	Horas	Cronómetro

3.4 Instrumentos

El instrumento de recolección de datos para este estudio, es un registro de datos visual, no constituye un constructo con la finalidad de medir una variable y por lo tanto no necesita de validación. Además está tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud (INS), 2002 (Ver anexo 2)

- Pie de rey: Los halos de inhibición se midieron con este instrumento, el cual dispone de dos puntas para el control de las mediciones de centro a extremo.

- Regla milimetrada estándar: Se utilizó una regla de precisión fabricada en acero inoxidable con graduación de 0,5 mm desde 0 mm hasta una longitud máxima de 150 mm.

3.5 Procedimientos

La obtención del Té Verde

Las hojas secas de *Camellia sinensis* fueron adquiridas en forma del producto comercial Té verde “China Green Tea” (Jemple of Heaven), tipo granel por 500gr. la cual se utilizó 75 gr. que contienen un 100% hojas de Té verde. Las hojas del té verde es muy oscuro en forma de pelotitas pequeñas que parecen pólvora, el cual se procedió a entregar el producto a un químico farmacéutico acreditado con más 10 años de experiencia para que pueda obtener la concentración necesaria de acuerdo a los objetivos planteados.

Obtención de principios activos

Técnica de maceración alcohólica: En un envase de vidrio estéril de 4 litros de capacidad se colocó ½ kg de *Camellia sinensis* y se secaron las hojas del té verde molida en una estufa por 24 horas a 60°C, seguidamente se agregó solución de alcohol etílico al 96% hasta cubrir completamente las hojas preparadas del producto. Luego se agitó el frasco de 3 a 4 veces por 24 horas, siendo el tiempo de maceración 7 días. Después de ello, se procedió a hacer el proceso de filtración con la ayuda de una membrana estéril. Para evaporar el alcohol de lo que se filtró se utilizó un Buche de Rotavapor V-805 a 270 mbar de presión con una temperatura de 40°C y a 100 revoluciones por minuto, obteniéndose de esta manera el principio activo del producto natural. Luego se le agregó agua químicamente pura para

obtener las concentraciones deseadas al 10% y 20% del extracto etanólico del Té verde.

Disolución del medio de cultivo deshidratado

Se utilizó una etiqueta en los envase para las cantidades y volúmenes requeridos. Se adquirió el agar Müeller Hinton ya preparado en estado gelificado y se procedió a poner en baño maría hasta lograr la disolución coloidal a medio líquido y luego se procedió a hacer el vaciado en las placas petri estériles hasta esperar nuevamente que se gelifique al enfriarse en un periodo de 30 minutos, acto seguido se hizo el sembrado de cepas bacterianas de *Streptococcus mutans* activados y luego se colocó en la incubadora a 37 grados centígrados.

Procedimiento microbiológico

El cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por el investigador; por otro lado, antes de realizar el cultivo de las cepas, estas fueron reactivadas debido a que se encontraron a -80°C, para lo cual se sometieron a dos pasos de reactivación a las 24 y 48 horas antes del experimento y fueron colocados a 37°C. Posteriormente se realizó el sembrado selectivo mediante la técnica de hisopado.

Sembrado del microorganismo

Se esterilizó un asa de siembra por flameado en la llama de un mechero, luego se introdujo en la suspensión bacteriana para hacer el sembrado mediante estriaciones sobre la superficie del Agar Mueller Hinton, en una placa Petri, luego se volvió a esterilizar el asa, se tocó en la zona de la placa ya sembrada y se hizo un segundo

grupo de estrías en una región nueva de la placa. Repetir el proceso una tercera y una cuarta vez, luego se procede a colocar en la incubadora.

Medición de los halos

Luego de ser sembrado se rotuló de acuerdo al tipo de tratamiento empleado por cuadrante, dividiéndose cada placa petri en 6 partes para proceder a colocar un disco de papel embebida en la sustancia a experimentar y colocada en el centro de cada porción, para que finalmente se lleve a la incubadora en un ambiente de 37°C en ausencia de oxígeno (idóneo para el crecimiento de los microorganismos). Los microorganismos crecen alrededor de la difusión bactericida de los discos, formando así halos de inhibición, dependiendo de la sensibilidad de la bacteria. Luego se midió el diámetro del halo (expresado en milímetro) y se anotó en la ficha de recolección de datos.

3.6 Análisis de datos

Se elaboró una base de datos en una hoja de cálculo Microsoft Excel 2016, luego se importó por el paquete estadístico SPSS versión 24.0, donde los datos se analizaron para responder las preguntas formuladas en esta investigación. Los datos resumidos fueron presentados en tablas de clasificación consignando los valores descriptivos utilizados. También se utilizaron gráficos de cajas y bigotes para representar la distribución de los datos. Para el contraste de hipótesis de diferencia; se aplicó las pruebas no paramétricas de Kruskal - Wallis para tres grupos independientes mientras que para la comparación entre pares independientes se aplicó el test U de Mann Whitney para muestras independientes. Para comparar la variable entre tiempo de 24 y 48 horas se utilizó la prueba Rangos de Wilcoxon

para muestras relacionadas. Las pruebas no paramétricas fueron utilizadas ya que los datos obtenidos no presentaron distribución normal (ver anexo 1). Para realizar el contraste de hipótesis de diferencia entre todos los grupos, se realizaron comparaciones múltiples utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis para muestras independientes. Todas las pruebas estadísticas fueron contrastadas a un nivel de confianza del 95% y nivel de significancia de 5%, con error tipo I.

3.7 Consideraciones éticas

La presente investigación, no requirió de consentimiento informado puesto que es un estudio in vitro y no se trabajó con humanos, ni animales; sin embargo hay que mencionar que el presente trabajo de investigación no guarda ningún conflicto de interés, respecto al autor.

IV. Resultados

4.1. Contrastación de Hipótesis

Tabla 1

Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas.

Clorhexidina 0.12%	Media	IC 95%		Mediana	DE	Mínimo	Máximo
		Li	Ls				
24 horas	10.64	10.02	11.26	10.00	.924	10	12
48 horas	9.82	9.31	10.32	10.00	.751	9	11

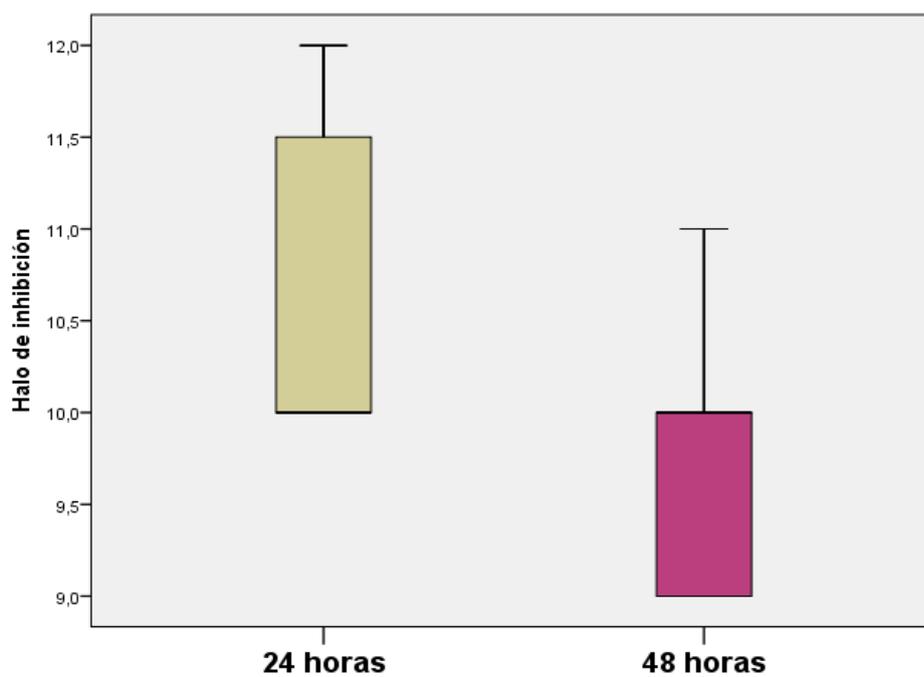


Figura 1. Actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas.

Tabla 2

Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% a las 24 y 48 horas.

Concentración té verde	Tiempo	Media	IC 95%		Mediana	DE	Mínimo	Máximo
			Li	Ls				
10%	24h	5.64	5.30	5.98	6.00	.505	5	6
	48h	5.09	4.53	5.65	5.00	.831	4	6
20%	24h	6.82	6.16	7.48	7.00	.982	5	8
	48h	6.09	5.62	6.56	6.00	.701	5	7

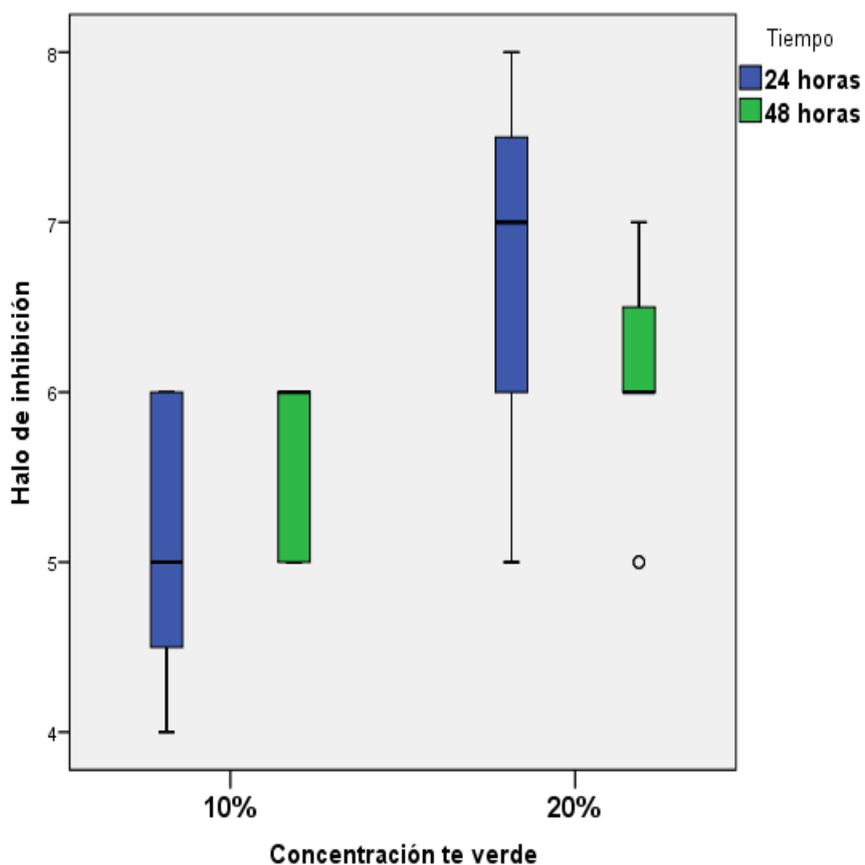


Figura 2. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% a las 24 y 48 horas.

Tabla 3

Actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas.

Concentración propóleo	Tiempo	Media	IC 95%		Mediana	DE	Mínimo	Máximo
			Li	Ls				
10%	24h	6.18	5.52	6.84	6.00	.982	5	8
	48h	5.82	5.23	6.41	6.00	.874	5	7
20%	24h	8.36	7.50	9.23	9.00	1.286	6	10
	48h	7.82	7.23	8.41	8.00	.874	6	9

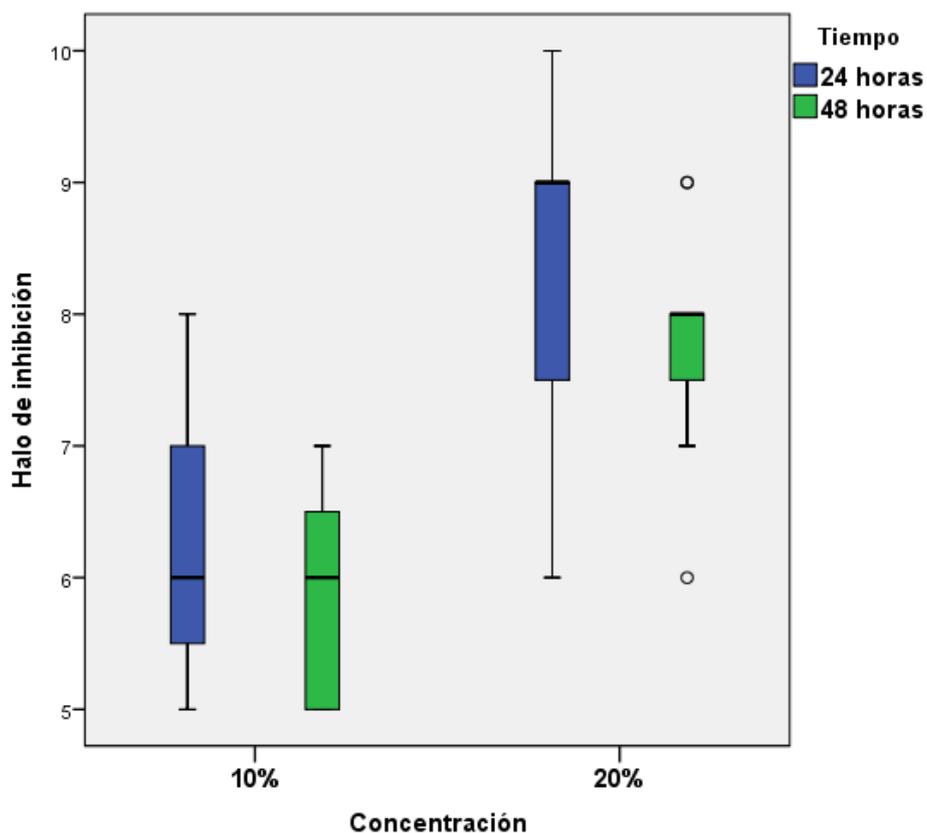


Figura 3. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas.

Tabla 4

Comparación de la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 24 horas de sembrado.

Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
		Li	Ls						
Té verde 10% (1)	5.64	5.30	5.98	6.00	.505				
Té verde 20% (2)	6.82	6.16	7.48	7.00	.982	0.000*	0.091	0.000*	0.009**
Clorhexidina 0.12% (3)	10.64	10.02	11.26	10.00	.924				

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; *Significativo ($p < 0.0001$); ** $p < 0.05$; DE: desviación estándar.

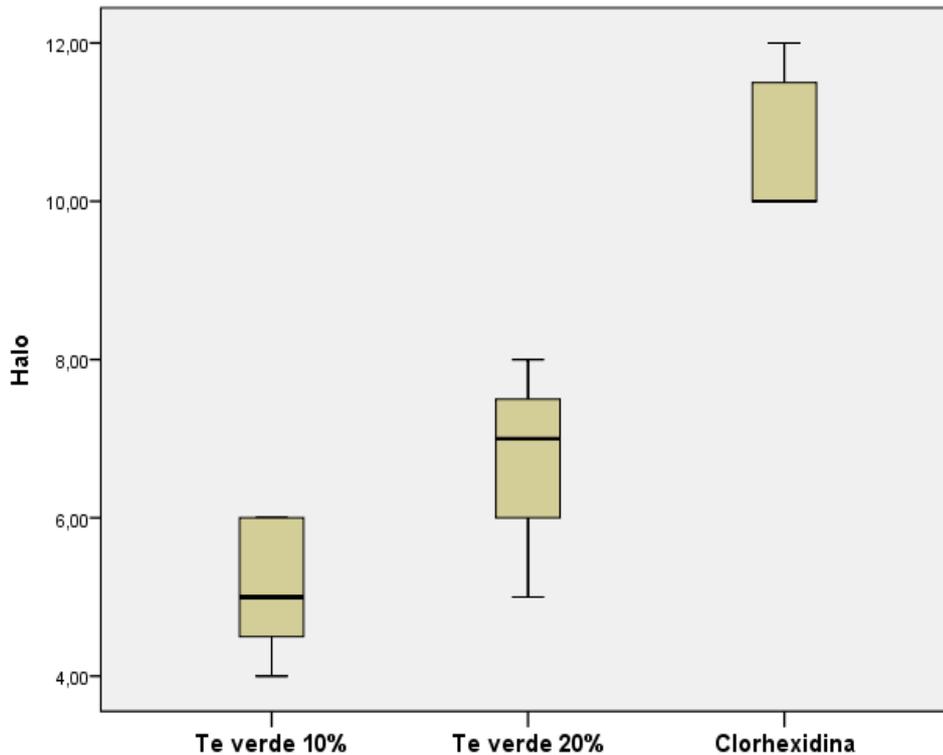


Figura 4. Comparación de la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; a las 24 horas de sembrado.

Tabla 5

Comparación de la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 48 horas de sembrado.

Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
		Li	Ls						
Té verde 10% (1)	5.09	4.53	5.65	5.00	.831				
Té verde 20% (2)	6.09	5.62	6.56	6.00	.701	0.000*	0.926	0.000*	0.001**
Clorhexidina 0.12% (3)	9.82	9.31	10.32	10.00	.751				

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; *Significativo (p<0.0001); **p<0.005; DE: desviación estándar

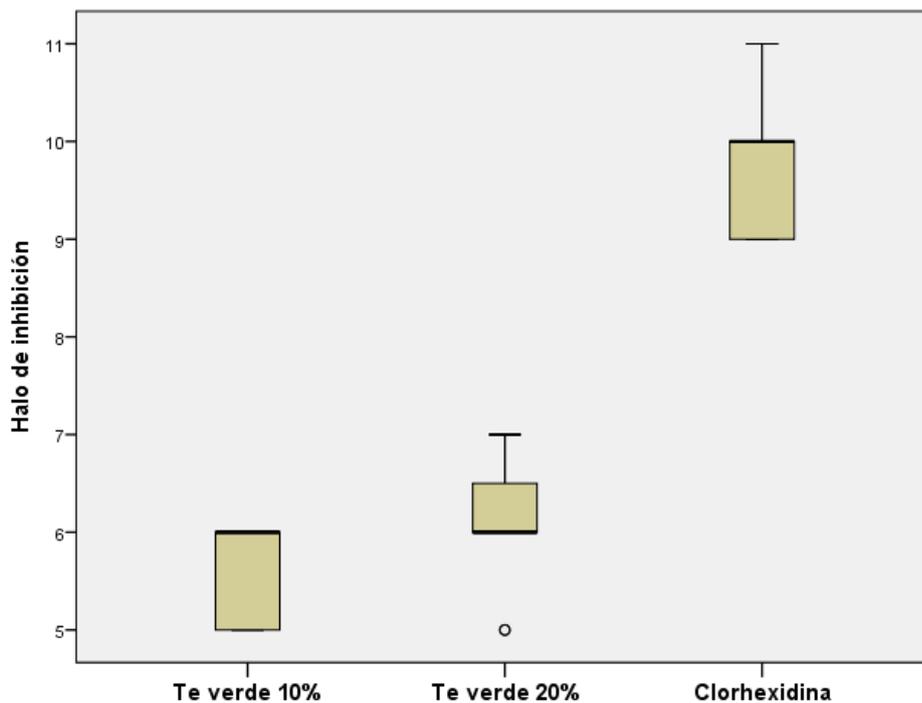


Figura 5. Comparación de la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; a las 48 horas de sembrado.

Tabla 6

Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a
			Li	Ls			
Té verde 10%	24h	5.64	5.30	5.98	6.00	.505	0.063
	48h	5.09	4.53	5.65	5.00	.831	
Té verde 20%	24h	6.82	6.16	7.48	7.00	.982	0.011*
	48h	6.09	5.62	6.56	6.00	.701	
Clorhexidina 0.12%	24h	10.64	10.02	11.26	10.00	.924	0.007**
	48h	9.82	9.31	10.32	10.00	.751	

^aBasado en el test rangos de Wilcoxon, Diferencias significativas *p<0.05; **p<0.01; DE: desviación estándar

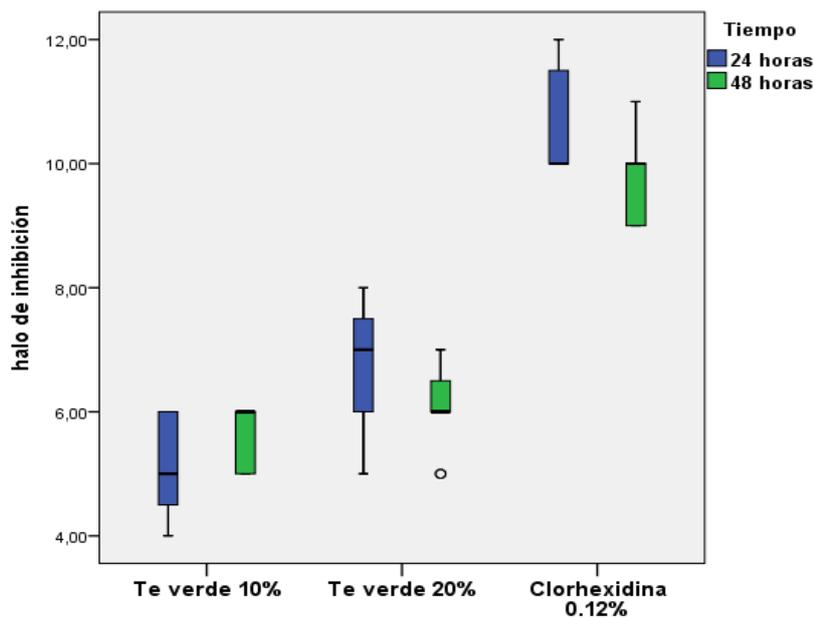


Figura 6. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

Tabla 7

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 24 horas de sembrado.

Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
		Li	Ls						
Propóleo 10% (1)	6.18	5.52	6.84	6.00	.982				
Propóleo 20% (2)	8.36	7.50	9.23	9.00	1.286	0.000*	0.06	0.000*	0.023**
Clorhexidina 0.12% (3)	10.64	10.02	11.26	10.00	.924				

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; *Significativo ($p < 0.0001$); ** $p < 0.05$; DE: desviación estándar.

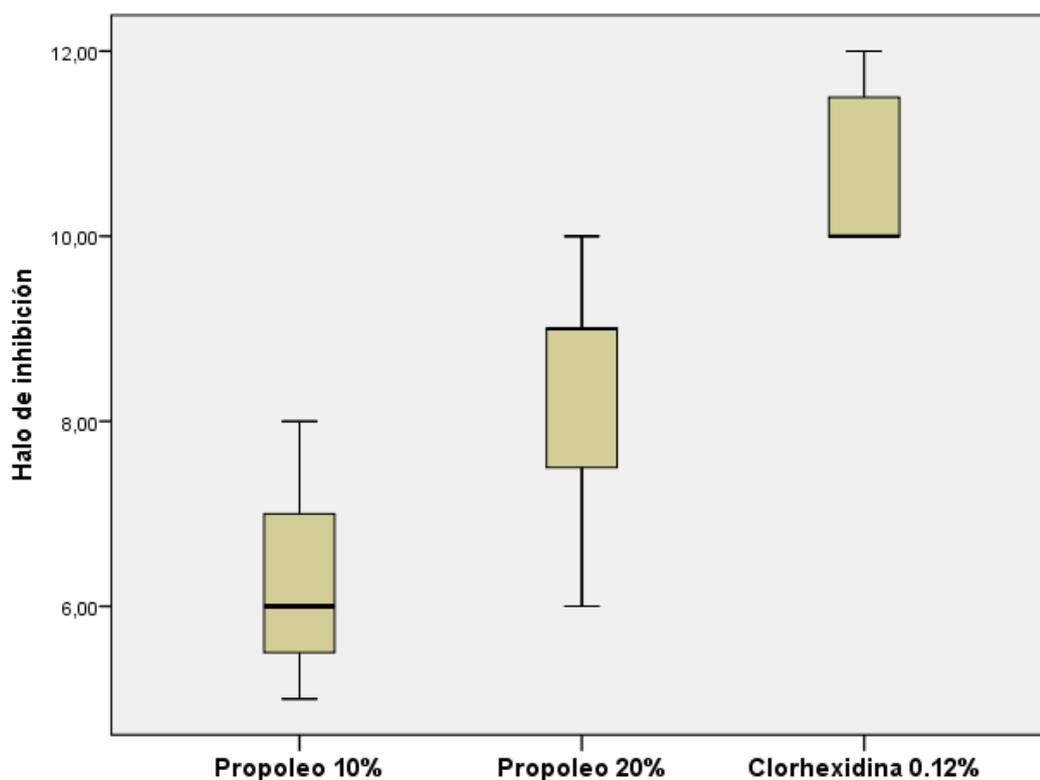


Figura 7. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 24 horas de sembrado.

Tabla 8

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 48 horas de sembrado.

Grupos	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3	2 vs 3
		Li	Ls						
Propóleo 10% (1)	5.82	5.23	6.41	6.00	.874				
Propóleo 20% (2)	7.82	7.23	8.41	8.00	.874	0.000*	0.042*	0.000*	0.022**
Clorhexidina 0.12% (3)	9.82	9.31	10.32	10.00	.751				

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; *Significativo ($p < 0.0001$); ** $p < 0.05$; DE: desviación estándar.

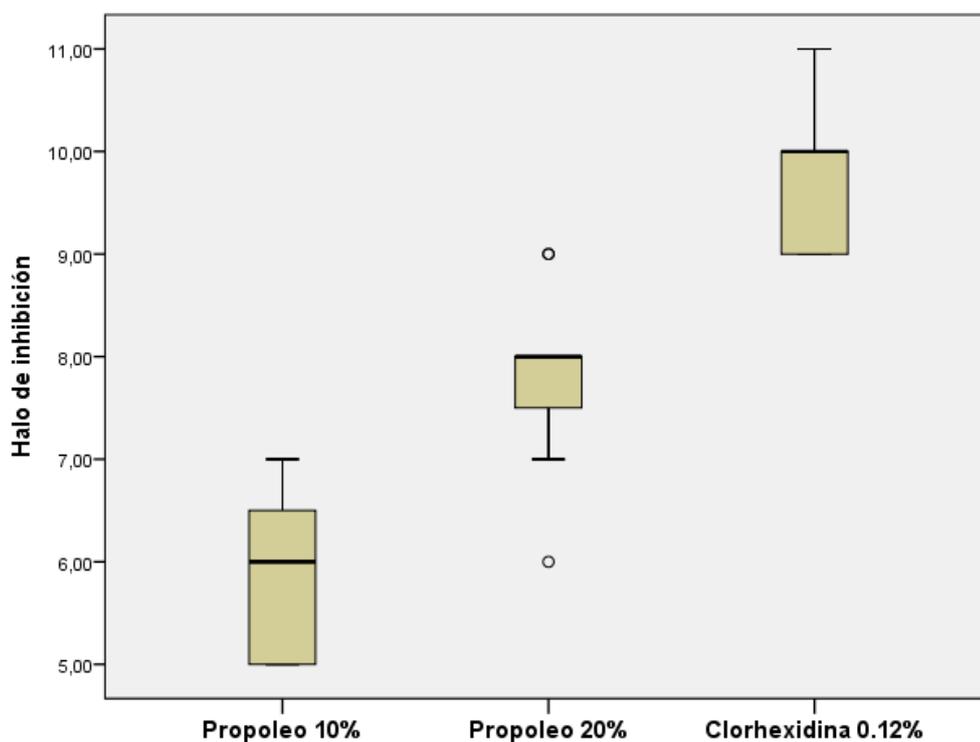


Figura 8. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, a las 48 horas de sembrado.

Tabla 9

Comparación la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a
			Li	Ls			
Propóleo 10%	24h	6.18	5.52	6.84	6.00	.982	0.046*
	48h	5.82	5.23	6.41	6.00	.874	
Propóleo 20%	24h	8.36	7.50	9.23	9.00	1.286	0.014*
	48h	7.82	7.23	8.41	8.00	.874	
Clorhexidina 0.12%	24h	10.64	10.02	11.26	10.00	.924	0.007**
	48h	9.82	9.31	10.32	10.00	.751	

^aBasado en el test rangos de Wilcoxon, diferencias significativas *p<0.05; **p<0.01; DE: desviación estándar

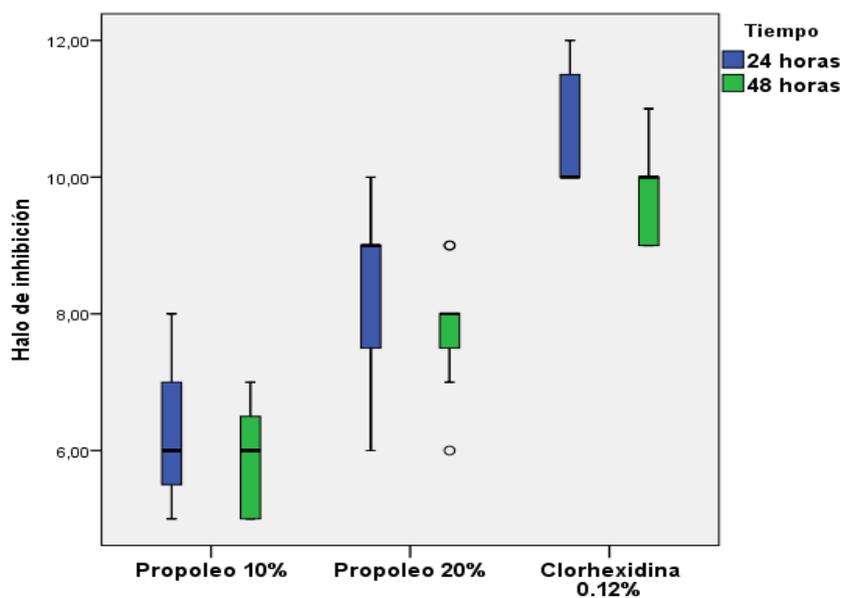


Figura 9. Comparación la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

Tabla 10

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 horas de sembrado.

Grupos	Media	Mediana	p-valor ^a	1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
				p-valor ^a					
Té verde 10% (1)	5.64	6.00							
Té verde 20% (2)	6.82	7.00							
Propóleo 10% (3)	6.18	6.00	0.000**	0.091	0.437	0.000**	1.000	0.013*	0.06
Propóleo 20% (4)	8.36	9.00							

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; **Significativo ($p < 0.0001$); * $p < 0.05$; DE: desviación estándar.

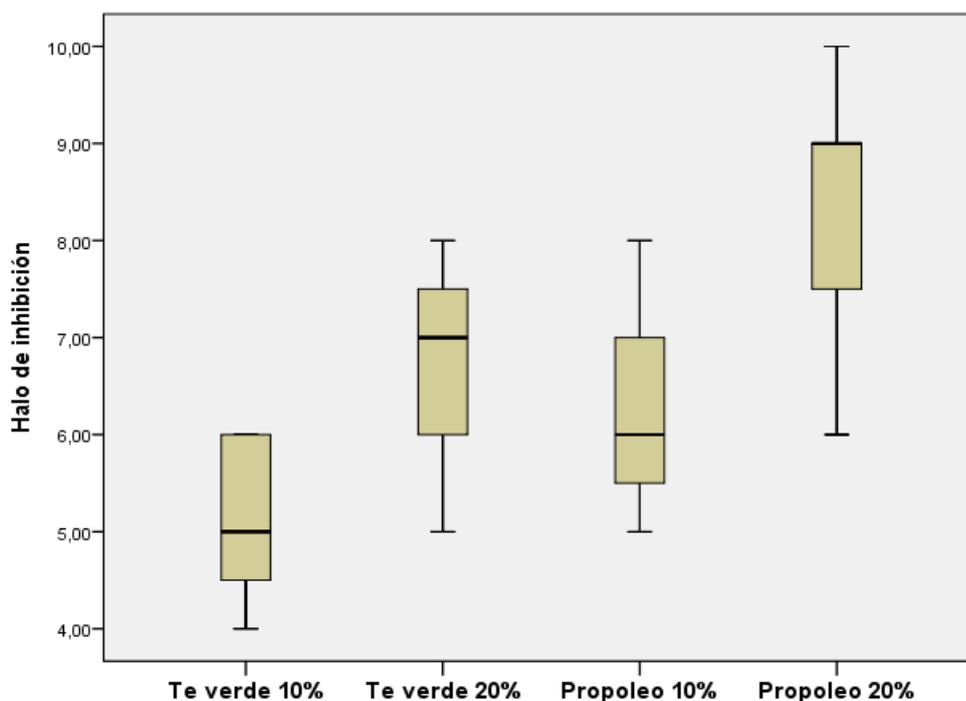


Figura 10. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 horas de sembrado.

Tabla 11

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 48 horas de sembrado.

Grupos	Media	Mediana	p-valor ^a	p-valor ^a					
				1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Té verde 10% (1)	5.09	5.00							
Té verde 20% (2)	6.09	6.00							
Propóleo 10% (3)	5.82	6.00	0.000**	0.926	1.000	0.000**	1.000	0.011*	0.042*
Propóleo 20% (4)	7.82	8.00							

^aBasado el test Kruskal Wallis para muestras independientes; **Significativo ($p < 0.0001$); * $p < 0.05$; DE: desviación estándar.

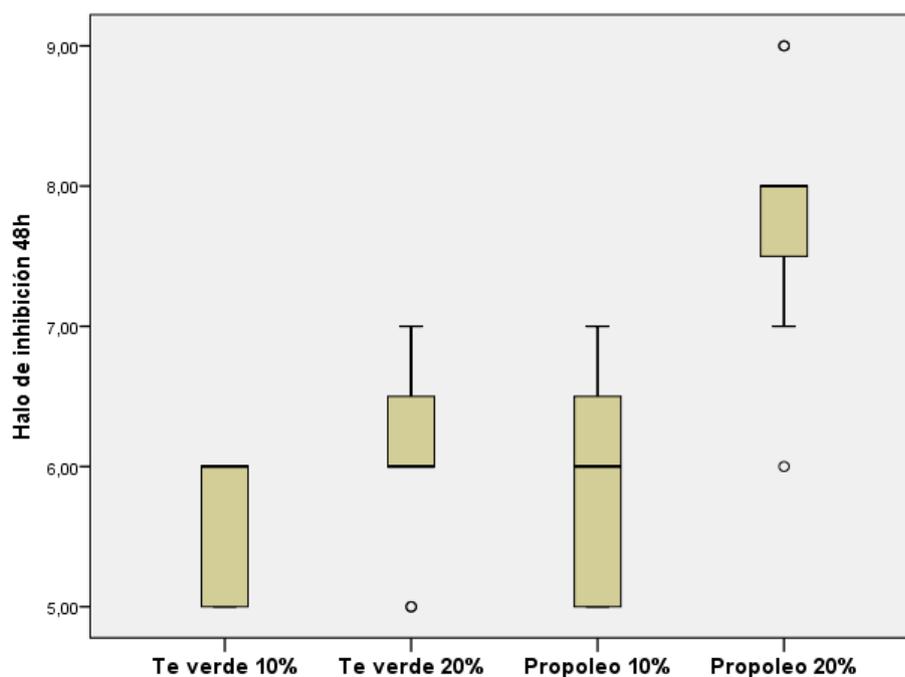


Figura 11. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 48 horas de sembrado.

Tabla 12

Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

Grupos	Tiempo	Media	IC 95%		Mediana	DE	p-valor ^a
			Li	Ls			
Té verde 10%	24h	5.64	5.30	5.98	6.00	.505	0.063
	48h	5.09	4.53	5.65	5.00	.831	
Té verde 20%	24h	6.82	6.16	7.48	7.00	.982	0.011*
	48h	6.09	5.62	6.56	6.00	.701	
Propóleo 10%	24h	6.18	5.52	6.84	6.00	.982	0.046*
	48h	5.82	5.23	6.41	6.00	.874	
Propóleo 20%	24h	8.36	7.50	9.23	9.00	1.286	0.014*
	48h	7.82	7.23	8.41	8.00	.874	

^aBasado en el test rangos de Wilcoxon, diferencias significativas *p<0.05; p<0.01; DE: desviación estándar

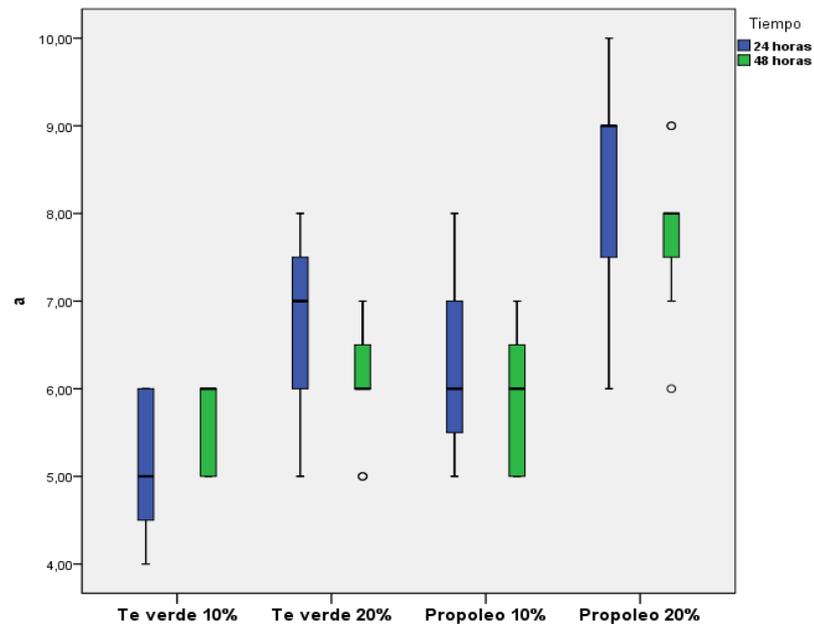


Figura 12. Comparación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, entre las 24 y 48 horas de sembrado.

4.2. Análisis e interpretación

Análisis descriptivo

La tabla 1 muestra los valores descriptivos para diámetro del halo inhibitorio del grupo clorhexidina al 0.12%, que a las 24 horas, se observó un halo de inhibición ($10.64 \text{ mm} \pm 0.924 \text{ mm}$) con una mediana de 10 mm, levemente menor que lo observado a las 48 horas donde el halo de inhibición fue ($9.82 \text{ mm} \pm 0.751 \text{ mm}$) con una mediana de 10 mm.

Al evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis*, con una concentración del 10% se hallaron similares valores a las 24 horas de $5.64\text{mm}\pm 0.505\text{mm}$ con una mediana de 6 mm de halo de inhibición y a las 48 horas con valores de $5.09 \text{ mm} \pm 0.831 \text{ mm}$, con una mediana de 5 mm. Para una concentración del 20% aumentó el halo de inhibición, que a las 24 horas presento valores de $6.82 \text{ mm} \pm 0.982 \text{ mm}$ con una mediana de 7 mm, mientras que a las 48 horas, los valores disminuyeron ligeramente a $6.09 \text{ mm} \pm 0.701 \text{ mm}$ con mediana de 6mm. (Tabla 2).

De igual forma, la actividad antibacteriana del propóleo con una concentración del 10% se halló valores a las 24 horas de $6.18 \text{ mm} \pm 0.982 \text{ mm}$ con una mediana de 6 mm de halo de inhibición y a las 48 horas con valores de $5.82 \text{ mm} \pm 0.874 \text{ mm}$, con una mediana de 6 mm. Para la concentración del 20% aumentó el halo de inhibición, que a las 24 horas presento valores de $8.36 \text{ mm} \pm 1.286 \text{ mm}$ con una mediana de 9 mm, mientras que a las 48 horas, los valores disminuyeron ligeramente a $7.82 \text{ mm} \pm 0.874 \text{ mm}$ con mediana de 8mm. (Tabla 3).

Análisis inferencial

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre el extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son estadísticamente muy significativas entre té verde 10% y clorhexidina 0.12% ($p < 0.0001$), en el caso del té verde 20% y clorhexidina 0.12% las diferencias estadísticas son significativas ($p < 0.05$). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas concentraciones de té verde ($p > 0.05$). (Tabla 4).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre *Camellia sinensis* (té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son estadísticamente muy significativas entre té verde 10% y clorhexidina 0.12% ($p < 0.0001$), así como entre el té verde 20% y clorhexidina 0,12% ($p < 0.005$). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas concentraciones de té verde ($p > 0.05$). (Tabla 5).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre *Camellia sinensis* (té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados.

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

Para el té verde al 10%, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.063$). Para la concentración de té verde al 20% se halló diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas ($p = 0.011$). En cuanto a la clorhexidina 0.12% hubo un cambio significativo entre las 24 y 48 horas ($p = 0.007$). (Tabla 6).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, a las 24 horas, se observa que entre el grupo propóleo 10% y clorhexidina 0.12% las diferencias estadísticas halladas son altamente significativas ($p < 0.0001$), y en el caso del propóleo al 20% y la clorhexidina al 0.12% las diferencias son estadísticamente significativas ($p = 0.023$). (Tabla 7).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, a las 48 horas, se observa que entre el grupo propóleo 10% y clorhexidina 0.12% las diferencias estadísticas halladas son altamente significativas ($p < 0.0001$), y en el caso del propóleo 20% y clorhexidina

las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0.022$). Además entre las concentraciones de propóleo las diferencias son estadísticamente significativas ($p=0.042$). (Tabla 8).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana entre extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

Para el propóleo al 10%, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas ($p=0.046$). Para la concentración del propóleo al 20% se halló diferencias estadísticamente significativas entre las 24 y 48 horas ($p=0.014$). En cuanto a la clorhexidina al 0.12% hubo un cambio estadísticamente muy significativo entre las 24 y 48 horas ($p=0.007$). (Tabla 9).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 24 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son altamente significativas entre el grupo té verde 10% y propóleo 20% ($p < 0.0001$). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones del té verde ($p = 0.091$) y de igual manera entre concentraciones del propóleo ($p = 0.06$) a las 24 horas. (Tabla 10).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), a las 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre al menos dos grupos evaluados

Al realizar las comparaciones entre grupos, se observa que las diferencias halladas son altamente significativas entre el grupo té verde 10% y propóleo 20% ($p < 0.0001$). Así mismo, se hallaron diferencias significativas entre té verde al 20% y propóleo 20% ($p = 0.011$) y significativas entre concentraciones del propóleo ($p = 0.042$) a las 48 horas. (Tabla 11).

Comparaciones múltiples de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas.

Hipótesis estadísticas

Ho: No existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados

H1: Existen diferencias del diámetro del halo inhibitorio entre los grupos evaluados.

Para el té verde al 10%, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.063$). Para la concentración de té verde al 20% se halló diferencias significativas entre las 24 y 48 horas ($p=0.011$)

Para el propóleo al 10%, se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.046$). Para la concentración del propóleo al 20% se halló diferencias significativas entre las 24 y 48 horas ($p=0.014$). (Tabla 12).

V. Discusión de resultados

La actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% a las 24 horas, logró un halo de inhibición ($10.64 \text{ mm} \pm 0.924 \text{ mm}$) con una mediana de 10 mm, levemente menor que lo observado a las 48 horas donde el halo de inhibición fue ($9.82 \text{ mm} \pm 0.751 \text{ mm}$) con una mediana de 10 mm, corroborando los resultados obtenidos Hegde, R., & cols. (2017) respecto al efecto antibacteriano contra el *Streptococcus mutans*.

Al evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Camellia sinensis* (té verde), al 10% se hallaron similares valores a las 24 horas de $5.64\text{mm}\pm 0.505\text{mm}$ con una mediana de 6 mm de halo de inhibición y a las 48 horas con valores de $5.09 \text{ mm} \pm 0.831 \text{ mm}$, con una mediana de 5 mm. Para una concentración del 20% aumentó el halo de inhibición, que a las 24 horas presento valores de $6.82 \text{ mm} \pm 0.982 \text{ mm}$ con una mediana de 7 mm, mientras que a las 48 horas, los valores disminuyeron ligeramente a $6.09 \text{ mm} \pm 0.701 \text{ mm}$ con mediana de 6mm. Corroborando de esta manera los resultados respecto al efecto antibacteriano contra el *Streptococcus mutans* obtenido por Anita, & cols. (2015); siendo también similares resultados a los obtenido por Villalba L. (2010) que afirmó en su estudio que la *Camellia sinensis* al 5% presenta efecto antibacteriano contra el *S. mutans*.

Respecto al propóleo con una concentración del 10% se halló valores a las 24 horas de $6.18 \text{ mm} \pm 0.982 \text{ mm}$ con una mediana de 6 mm de halo de inhibición y a las 48 horas con valores de $5.82 \text{ mm} \pm 0.874 \text{ mm}$, con una mediana de 6 mm. Para la concentración del 20% aumentó el halo de inhibición, que a las 24 horas presento valores de $8.36 \text{ mm} \pm 1.286 \text{ mm}$ con una mediana de 9 mm, mientras que a las 48

horas, los valores disminuyeron ligeramente a $7.82 \text{ mm} \pm 0.874 \text{ mm}$ con mediana de 8mm. concordando así con las conclusiones publicadas por Libério et al. (2009) respecto a la eficacia del propóleo, a su vez corroborando los resultados obtenidos por Moreno et al (2016), al igual que por Mayta y Sacsquispe (2010).

Al realizar comparaciones a las 24 horas entre el té verde al 10% y clorhexidina al 0.12% se obtuvo ($p < 0.0001$), lo que demuestra una diferencia estadística altamente significativa. Para los grupos de té verde al 20% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias significativas ($p < 0.05$), mientras que al comparar el té verde al 10% con el té verde al 20% no se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$). Quedando demostrado la superioridad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, tal como afirmó el estudio realizado por Hegde, R., & cols. (2017).

Al hacer comparaciones a las 48 horas entre el té verde al 10% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0.0001$); y en el caso del té verde al 20% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas significativas ($p < 0.005$); mientras que al comparar ambas concentraciones de té verde, no se obtuvo diferencias significativas ($p > 0.05$). Tal como afirmó el estudio realizado por Hegde, R., & cols. (2017), donde demuestra la alta y mayor efectividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12% sobre el té verde.

Al hacer comparaciones entre las 24 y 48 horas del té verde al 10% no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.063$); mientras que en el té verde al 20% si se obtuvo diferencias significativas ($p = 0.011$) y con respecto a la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas altamente significativas ($p = 0.007$).

A las 24 horas, al comparar el propóleo al 10% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas altamente significativas ($p < 0.0001$), mientras que al comparar el propóleo al 20% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas significativas ($p = 0.023$). Estos resultados muestran una discrepancia con los resultados obtenidos por Mohan, P. & cols (2016), que afirman que el propóleo tiene similar efectividad antibacteriana que la clorhexidina. Estos resultados discrepan con Mayta y Sacsquispe (2010), puesto que afirma que el propóleo tiene similar eficacia a la clorhexidina al 0.12%, quizá esta diferencia se deba a la diferente procedencia del propóleo puesto que su estudio menciona que es proveniente de Oxapampa mientras que en esta investigación el propóleo fue proveniente de Chiclayo; además Mayta y Sacsquispe (2010), hacen esa afirmación basándose en la aplicación del propóleo al 30%, lo que resultó imposible obtener en este estudio puesto que la concentración máxima obtenida fue de 20%.

A las 48 horas, al comparar el propóleo al 10% y la clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$), por otro lado en el caso de comparar propóleo al 20% y clorhexidina al 0.12% se obtuvo diferencias estadísticas significativas ($p = 0.022$). Al comparar entre las concentraciones de propóleo se obtuvo diferencias significativas ($p = 0.042$).

Al realizar comparaciones de la actividad antibacteriana entre las 24 y 48 horas, en el caso del propóleo al 10% si se encontró diferencias estadísticas significativas ($p = 0.046$); discrepando con lo obtenido por Mayta y Sacsquispe (2010); respecto al propóleo 20%, también se obtuvo diferencias estadísticas significativas ($p = 0.014$), discrepando con lo obtenido por Mayta y Sacsquispe (2010) puesto que

el afirma que a una mayor concentración como es el caso al 30% no obtuvo diferencias significativas entre las 24 y 48 horas.

VI. Conclusiones

- La actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 horas de observación es ligeramente mayor que a las 48 horas.
- La actividad antibacteriana de la *Camellia sinensis* (té verde) al 10% es similar tanto a las 24 horas como a las 48 horas. Del mismo modo sucede con la concentración de té verde al 20%.
- La actividad antibacteriana del propóleo tanto al 10% como al 20%, presenta valores diferentes, donde el crecimiento bacteriano aumenta a las 48 horas, lo que se refleja en la disminución del halo de inhibición.
- A las 24 horas de sembrado, se observa diferencias estadísticas altamente significativas de la actividad antibacteriana entre *Camellia sinensis* (té verde) al 10% y clorhexidina al 0.12%, de la misma manera entre la *Camellia sinensis* (té verde) al 20% y clorhexidina al 0.12%; mientras que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la actividad antibacteriana que logra ambas concentraciones de la *Camellia sinensis* (té verde).
- A las 48 horas de sembrado se observa diferencias estadísticas altamente significativas entre *Camellia sinensis* (té verde) al 10% y clorhexidina al 0.12%, así como entre el *Camellia sinensis* (té verde) al 20% y clorhexidina al 0.12%; mientras que no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre la actividad antibacteriana que logra ambas concentraciones de *Camellia sinensis* (té verde).
- Para el *Camellia sinensis* (té verde) al 10%, entre las 24 y 48 horas, no existen diferencias estadísticamente significativas de la actividad antibacteriana. Para la concentración de *Camellia sinensis* (té verde) al 20% se halló diferencias significativas entre las 24 y 48 horas. En cuanto a la clorhexidina al 0.12% hubo un

cambio estadístico altamente significativo entre las 24 y 48 horas, disminuyendo así su efecto con el paso del tiempo.

- A las 24 horas las diferencias estadísticas halladas entre el grupo propóleo al 10% y la clorhexidina al 0.12% son altamente significativas, y con respecto a la comparación entre el propóleo al 20% y clorhexidina al 0.12% a las 24 horas, las diferencias son estadísticamente significativas.
- A las 48 horas, las diferencias estadísticas halladas son altamente significativas entre el grupo propóleo 10% y clorhexidina 0.12%, y estadísticamente significativa entre el propóleo 20% y la clorhexidina al 0.12%; tal como sucede entre la actividad que logra el propóleo al 10% respecto al 20%.
- Para el propóleo al 10%, propóleo al 20% y clorhexidina al 0.12% entre las 24 y 48 horas, se hallaron diferencias estadísticamente significativas, disminuyendo su efecto con el paso del tiempo.
- A las 24 horas, las diferencias estadísticas son altamente significativas entre el grupo *Camellia sinensis* (té verde) al 10% y propóleo al 20%, siendo mejor el efecto de éste último. Respecto a la comparación de ambos productos al 20%, se observa diferencias estadísticamente significativas, siendo mejor el propóleo.
- A las 48 horas, existen diferencias altamente significativas de la actividad antibacteriana entre el grupo *Camellia Sinensis* (té verde) al 10% y propóleo al 20%, siendo mejor éste último. También se encontró diferencias estadísticamente significativas de la actividad antibacteriana entre *Camellia sinensis* (té verde) al 20% y propóleo al 20%, siendo mejor éste último y logrando a su vez mejor efecto sobre el propóleo al 10%.
- Tanto para el propóleo al 10% y el propóleo al 20% y *Camellia sinensis* (té verde) al 20% se halló diferencias estadísticamente significativas de su actividad

antibacteriana entre las 24 y 48 horas, disminuyendo su efecto con el paso del tiempo.

VII. Recomendaciones

- Ampliar la muestra por encima de quince por cada grupo experimental puesto que las diferencias en algunas comparaciones bordeaban el límite permitido de significancia estadística.
- Hacer un análisis comparativo del mismo estudio pero a diferentes medios de cultivo para ver si este constituye una variable interviniente.
- Se recomienda hacer trabajos in vitro comparativos entre propóleos de diferente región del país y trabajarlo a concentraciones de 20%.
- Se recomienda realizar estudios in vitro contabilizando las unidades formadoras de colonias que se formen des pues de aplicar propóleo al 20% y té verde al 20%.
- Se recomienda no trabajar con concentraciones por encima del 20% respecto al té verde y propóleo puesto que por encima de esa concentración solo se consigue sedimentar el producto más no aumentar la concentración lo que podría generar un falso resultado de preparación.
- Se recomienda estos productos naturales tanto el té verde como el propóleo como solución bactericida e inmediata puesto que su efecto no dura en el tiempo sino que tiende levemente a disminuir.
- Se recomienda hacer ensayos clínicos controlados utilizando el propóleo al 20% y el té verde al 20% como enjuagatorio bucal y compararlo con un control positivo de uso común que goce de aceptación por la comunidad odontológica.

VIII. Referencias

- Anita, P., Balan, I., Ethiraj, S., Madan, P. y Sivasamy, S. (2015). In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 6(1), 35. <https://doi.org/10.4103/0976-0105.145777>
- Arévalo, A. y Gómez, P. (2016). Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. *In Crescendo Ciencias de la salud*, 2(2), 530–537.
- Batista, G., Cunha, C., Scartezini, M., Von der Heyde, R., Bitencourt, M. y Melo, S. (2009). Estudio prospectivo, duplo cego e cruzado da *Camellia sinensis* (chá verde) nas dislipidemias. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 93(2), 128–134. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2009000800010>
- De Castro Ishida, V., Negri, G., Salatino, A. y Bandeira, M. (2011). A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria. *Food Chemistry*, 125(3), 966–972. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.089>
- Hegde, R. y Kamath, S. (2017). Comparison of the Streptococcus mutans and Lactobacillus colony count changes in saliva following chlorhexidine (0.12%) mouth rinse, combination mouth rinse, and green tea extract (0.5%) mouth rinse in children. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 35(2), 150. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_13_17
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C. y Baptista Lucio, P. (2014). *Metodología de la investigación (McGraw-Hill Interamericana)*. México. Recuperado de <http://www.e-libro.com/ayuda>
- Keller, H. A., Delucchi, G. y Romero, H. F. (2011). *Camellia sinensis* (Theaceae) en la Argentina: naturalización y usos locales. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 46(1–2), 145–150.
- Libério, S., Pereira, A., Araújo, M., Dutra, R., Nascimento, F., Monteiro, V. y Guerra, R. (2009). The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology*, 125(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.047>
- Mohan, P., Uloopi, K., Vinay, C. y Rao, R. (2016). In vivo comparison of cavity disinfection efficacy with APF gel, Propolis, Diode Laser, and 2%

chlorhexidine in primary teeth. *Contemporary Clinical Dentistry*, 7(1), 45.
<https://doi.org/10.4103/0976-237X.177110>

Moreno, Z., Martínez, P., y Figueroa, J. (2016). Efecto antimicrobiano In vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Recuperado de <http://repository.unad.edu.co/handle/10596/6784>

Negroni, M. (2009). *Microbiología Estomatológica*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Naderi, N., Niakan, M., Fard, M. y Zardi, S. (2011). Antibacterial activity of Iranian green and black tea on *Streptococcus mutans*: an in vitro study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 8(2), 55.

Moromi, H., Martínez, E., Gutierrez, M., Ramos, D., Nuñez, M., Burga, J. y Tello, J., Trevejo, I. (2007). Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontología Sanmarquina*, 10(2), 12–14.

Núñez, D. y García Bacallao, L. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), 156–166.

Pacompea Rivera, P. (2013). SPEMAC | Sociedad Peruana de Medicina Alternativa y Complementaria. Recuperado el 12 de agosto de 2018, de <http://www.spemac.org/>

Padilla, K. (2015). Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. *Pueblo continente*, 24(2), 349–356.

Patel, H., Ajith Krishnan, C. y Thanveer, K. (2013). Antimicrobial effect of honey on *Streptococcus mutans* – An in vitro study. *International Journal of Dental Science and Research*, 1(2), 46–49.
<https://doi.org/10.1016/j.ijdsr.2013.11.004>

Peña, R. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e investigación agraria*, 35(1), 17–26.

Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F. y Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, 96(4), 597–605.

Tolosa, L. y Cañizares, E. (2002). Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. Recuperado a partir de <http://digibug.ugr.es/handle/10481/28241>

- Mayta, F. y Sacsquispe, S. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa-Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Revista Estomatológica Herediana*, 20(1), 19–24.
- Villalba, L. (2010). *Efecto antibacteriano del extracto alcohólico y del extracto acuoso de Té verde (Camellia sinensis) sobre bacterias orales de Importancia Estomatológica, Streptococcus mutans, Streptococcus mitis y Streptococcus salivarius* (tesis de pregrado). Universidad Alas Peruanas, Arequipa, Perú.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J. y Pérez-Alvarez, J. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), R117-124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x>
- Xu, X., Zhou, X. y Wu, C. (2012). Tea catechin epigallocatechin gallate inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation by suppressing gtf genes. *Archives of Oral Biology*, 57(6), 678–683. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.10.021>

IX. Anexos

Anexo 1

Prueba de Normalidad

GRUPOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-valor ^a
Te1 (10%) a las 24h	.630	15	0.000
Te2 (10%) a las 48h	.815	15	0.006
Te1 (20%) a las 24h	.881	15	0.049
Te2 (20%) a las 48h	.823	15	0.007
Pro1 (10%) a las 24h	.882	15	0.052
Pro2 (10%) a las 48h	.771	15	0.002
Pro1 (20%) a las 24h	.867	15	0.031
Pro2 (20%) a las 48h	.915	15	0.163
Clorhexidina 0.12% a las 24 horas	.771	15	0.002
Clorhexidina 0.12% a las 48 horas	.643	15	0.000

^aDistribución normal ($p>0.05$)

Anexo 2

Definición de términos

- ***Streptococcus mutans***: Microorganismo perteneciente al grupo monera. Son unicelulares, procariotas y carecen en general de pigmentos asimiladores; se reproducen por bipartición. Poseen un solo cromosoma disperso por el protoplasma (carecen de membrana nuclear); en algunos casos, existe un pequeño fragmento adicional denominado plásmido, son anaerobios facultativos Gram positivos.
- **Cultivo**: Es la forma en la que se hacen crecer los microorganismos (colonias) en una superficie sólida (agar) o en medio líquido (caldo) e incluso en células (línea celular) y es utilizado como el método principal para poder estudiar a los agentes causales de enfermedades, y saber si se trata de bacterias, hongos, virus, parásitos o algas.
- **Agar nutritivo**: Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento de microorganismos poco exigentes en lo que se refiere a requerimientos nutritivos. Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.
- **Müller Hinton**: Medio de cultivo recomendado universalmente para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.
- **Prueba *in vitro***: Muchos experimentos en biología celular son llevados a cabo fuera del organismo, en células. Son a menudo denominados *in vitro*, para distinguirlos de los experimentos *in vivo*, en los que los tejidos estudiados permanecen dentro del organismo en el que normalmente se encuentran.

- **Flavonoides:** Son metabolitos secundarios polifenólicos comúnmente con un grupo cetona y normalmente pigmentos de coloración amarilla de donde viene su nombre (del latín flavus, "amarillo").
- **Glucosiltransferasa:** enzima sintetizada por el *Streptococcus mutans* para adherirse a la película adquirida del diente.

Anexo 3

MUESTRA	BACTERIA	TIEMPO DE LECTURA/Hrs.	DISCO / mm																														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
Control (-)	<i>Streptococcus mutans</i>	24 Horas																															
		48 Horas																															
Té verde (<i>Camellia sinensis</i>) 10%		24 Horas																															
48 Horas																																	
Té verde (<i>Camellia sinensis</i>) 20%		24 Horas																															
48 Horas																																	
Propoleo 10%		24 Horas																															
		48 Horas																															
Propoleo 20%		24 Horas																															
		48 Horas																															
Clorhexidina 0.12%		24 Horas																															
		48 Horas																															

*Ficha de recolección tomada de Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco por difusión. Instituto Nacional de Salud (INS), 2002

Anexo 4.

**Evidencias o constancias de documentos emitidos por la
Institución donde se realizó la investigación. Fotos**

Solicitó: Permiso para uso del
laboratorio de microbiología de la UIGV – FE

Sr. Decano de la facultad de Estomatología

Dr. Luis Adolfo Cervantes Ganoza

Presente.-



Yo, Mg. Esp. César F. Cayo Rojas es grato dirigirme a usted para solicitarle, el uso del laboratorio de microbiología durante el mes de mayo y junio del 2018, para ejecución de mi proyecto de tesis de doctorado, para obtener el grado de Doctor en Odontología, sin obstaculizar los horarios de práctica con los alumnos de pregrado.

Agradeciendo de antemano su gentil comprensión, es propicia la oportunidad para expresarle los sentimientos de mi especial consideración y alta estima.

Atentamente

Mg. Esp. CD. César Félix Cayo Rojas

Docente UIGV – Patología General y Aplicada

Código J416

Lima, 1 de mayo del 2018



Universidad
Inca Garcilaso de la Vega
Nuevos Tiempos. Nuevas Ideas

Facultad de Estomatología

Av. Bolívar 165 – Pueblo Libre

Tf. 4630000 Anexo 2301

Pueblo Libre, 10 de Mayo del 2018

CARTA N°989 -DFE-2018

Dr.
Cesar Felix Cayo Rojas
Docente
Facultad de Estomatología

De mi mayor consideración:

Tengo a bien dirigirme a usted para saludarlo cordialmente, a fin de autorizar el uso de los laboratorios de microbiología durante los meses de mayo y junio del presente año para su ejecución de su proyecto de tesis para el doctorado de acuerdo a su solicitud S/N que se adjunta al presente.

Agradeciendo la atención que brinde a la presente quedo de Usted.

Cordialmente,



Dr. Luis Cervantes Ganoza
Decano
Facultad de Estomatología

LCC/mt
Tramite: 932726



CONSTANCIA N° 28 – UFV - 2018

EL JEFE DEL HERBARIO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA DEPARTAMENTO
ACADÉMICO DE BIOLOGÍA DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Planta completa), recibida del Mg Cesar Félix Cayo Rojas egresado del doctorado en odontología y docente de la facultad de odontología de la universidad Alas Peruanas Filial Huacho; ha sido estudiada y clasificada como *Camellia sinensis* y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación APG III 2009.

CLADO: EUDICOTILEDONEA

ORDEN: THEALES

FAMILIA: THEACEAE

ESPECIE: *Camellia sinensis* VAR. *sinensis*

Nombre Vulgar: “Té verde” o “Té de la china”

Determinado por: Mg Blgo Botánico JORGE LUIS LÓPEZ BULNES con maestría en Botánica Tropical, Mención, Taxonomía y Sistemática Evolutiva Colegiatura: CBP 8932 – Habilitado.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada para fines de estudio.

Fecha: 15 de Marzo de 2018



Mg Blgo JORGE LUIS LOPEZ BULNES
CBP 8932
Jefe de Herbario UFV

CONSTANCIA

Conste por medio del presente documento que yo **Fermín Humberto Arévalo Ortiz**, con DNI 10190957, de profesión Químico Farmacéutico con No. de colegio CQFP 0076, Magister en Biotecnología acreditado por la UNMSM y Profesor del curso de Fitoquímica del Dpto. de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM, **dejo constancia y doy fe que, en el ejercicio de mi profesión y amparado por la Ley de Trabajo del Químico Farmacéutico, Ley No. 28173**, he realizado la **extracción etanólica** de hojas de *Camelia sinensis*, cuyo nombre común es “té verde” a una concentración equivalente de 20 g de hojas secas estabilizadas y particuladas, en 100 ml de suspensión etanólica, la misma que fue macerada hasta agotamiento, decantada, filtrada al vacío y concentrada en rotavapor. Adicionalmente, a partir del extracto mencionado, se realizó diluciones al 20%, 10%, 5% y 2.5%, respecto al extracto obtenido de la suspensión primigenia. Cabe destacar que la muestra de “té verde” fue proporcionada por el cliente.

En ejercicio de mi derecho profesional, extendiendo la presente constancia a solicitud de del Mg. César Félix Cayo Rojas, con DNI N° 41613915, para fines investigativos que él manifiesta.

Se extiende la presente Constancia a los 20 días del mes de marzo del 2018.


FERMIN HUMBERTO AREVALO ORTIZ
Mg. en BIOTECNOLOGÍA
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.Q.F.P. N° 00076

CONSTANCIA

Conste por medio del presente documento que yo **Fermín Humberto Arévalo Ortiz**, con DNI 10190957, de profesión Químico Farmacéutico con No. de colegio CQFP 0076, Magister en Biotecnología acreditado por la UNMSM y Profesor del curso de Fitoquímica del Dpto. de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM, **dejo constancia y doy fe que, en el ejercicio de mi profesión y amparado por la Ley de Trabajo del Químico Farmacéutico, Ley No. 28173**, he realizado la preparación de soluciones etanólicas de propóleos a una concentración de 20% y 10%. Para esto el propóleo bruto fue particulado, solubilizado, decantado, filtrada al vacío y concentrada en rotavapor, para obtener la solución al 20% y, posteriormente, a partir de esta concentración se preparó la solución de 10%.

En ejercicio de mi derecho profesional, extendiendo la presente constancia a solicitud de del Mg. César Félix Cayo Rojas, con DNI N° 41613915, para fines investigativos que él manifiesta.

Se extiende la presente Constancia a los 11 días del mes de junio del 2018.


FERMIN HUBERTO AREVALO ORTIZ
Mg. en BIOTECNOLOGÍA
QUIMICO FARMACEUTICO
C.Q.F.P. N° 00076



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Spiritus ubi vult spirat

CONSTANCIA

Quien suscribe hace constar que:

Se han cumplido con todos los protocolos para la reactivación (24/48 horas) del microorganismo *Streptococcus mutans* ATCC[®] 25175[™] la cual será utilizada para cumplir fines de investigación científica.

Se expende la presente constancia para los fines convenientes.

S.M.P. Lima, junio del 2018



MSe. Maurtua Torres Dora
Docente Microbiología – FCF - UPCH
C.B.P. 0776

DI/UPCH
Archivo108

*Av. Honorio Delgado 430, Urb. Ingeniería, S.M.P. Lima – Perú.
Teléfono. (51-1) 310 – 0000 // email. portalweb@upch.pe*



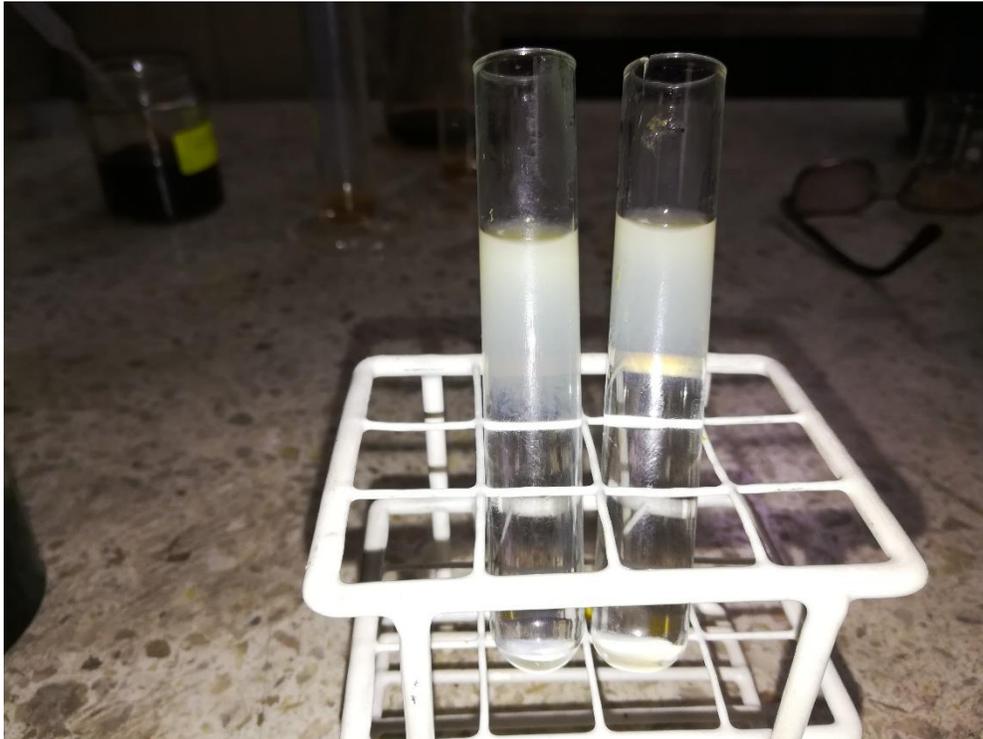
Té verde (*Camellia sinensis*)
Jemple of Heaven - CHINA GREEN TEA

Propóleo de Chiclayo

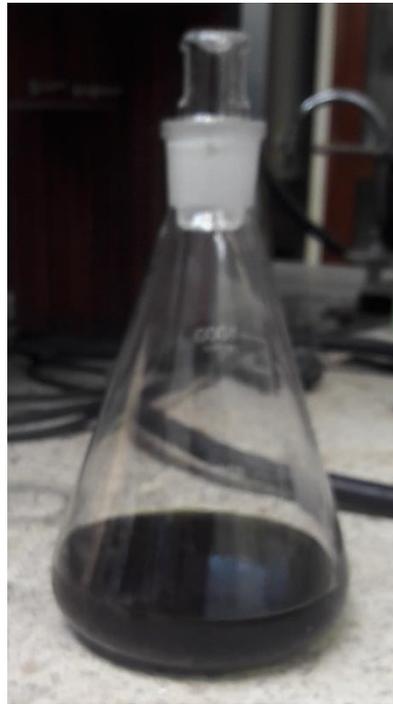
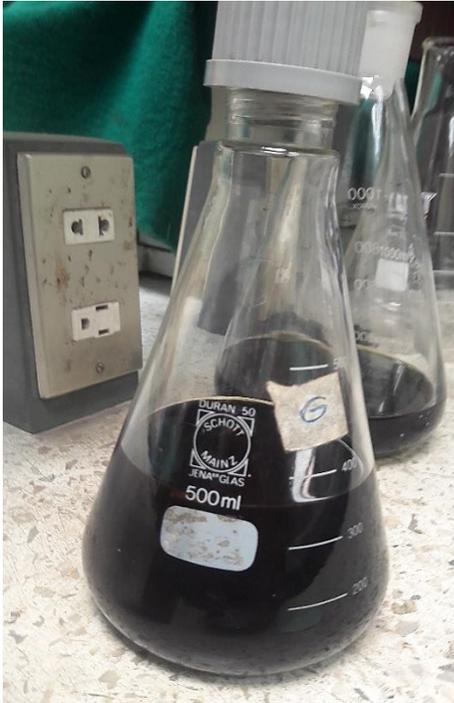




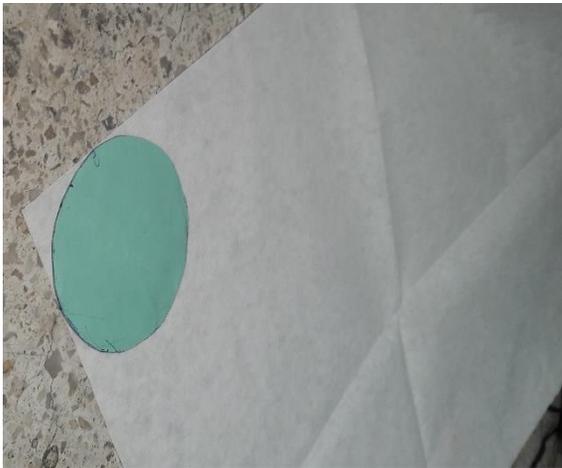
Comprobación de la pureza a diferente concentración para el caso del propóleo



ELABORACIÓN - Maceración con alcohol de 96% por 7 días.



Destilación al vacío







APLICAR EN ROTAVAPOR DESTILACIÓN ROTATORIO



Té verde (*Camellia sinensis*)
Prueba de la cantidad
etanólico

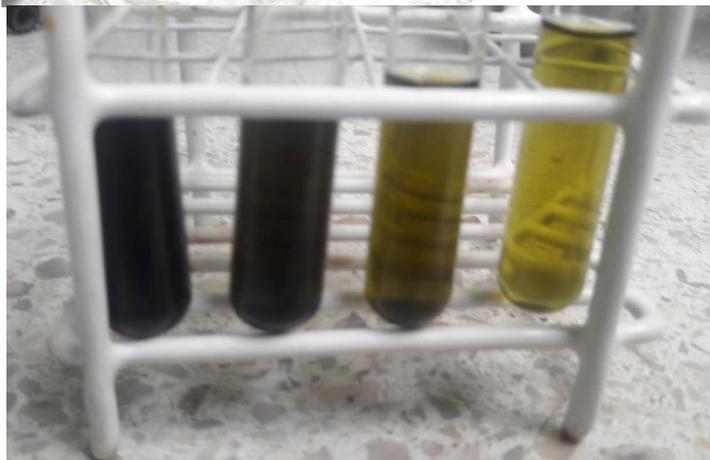




Verificar temperatura con el Termómetro: A 47 grados de temperatura, pero a son 10 grados menos en el extracto.



200 ml de Extracto de Té verde



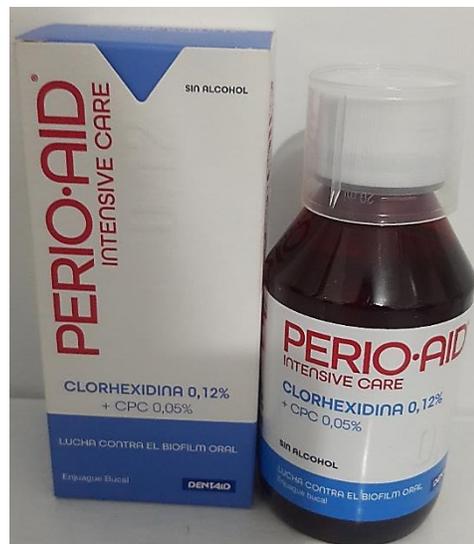
1. CONTRACCIÓN DEL TÉ VERDE:

Extracto de Té verde:

- ✓ 0, 25%
- ✓ 5%
- ✓ 10%
- ✓ 20%



2. CLORHEXIDINA 0,12%:



3. AGUA DESTILADA:



4. AGAR MUELLER HINTON



5. BACTERIA *Streptococcus mutans*



6. PLACAS PETRI

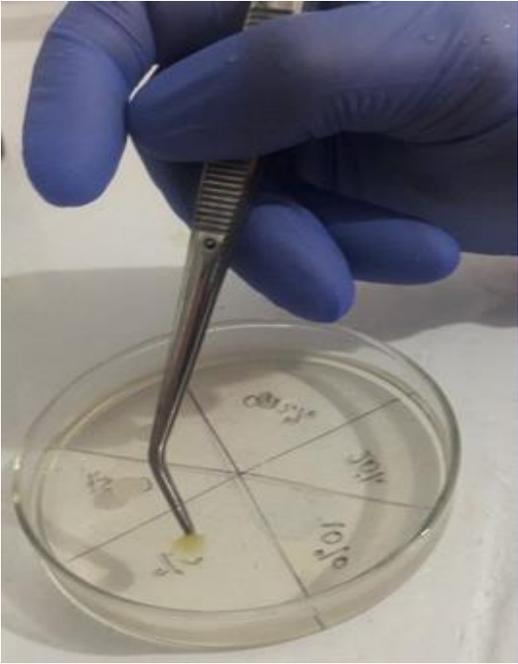


7. DIVISIÓN EN LA PLACA PETRI:



DILUCIÓN DEL AGAR MULLER HINTON:

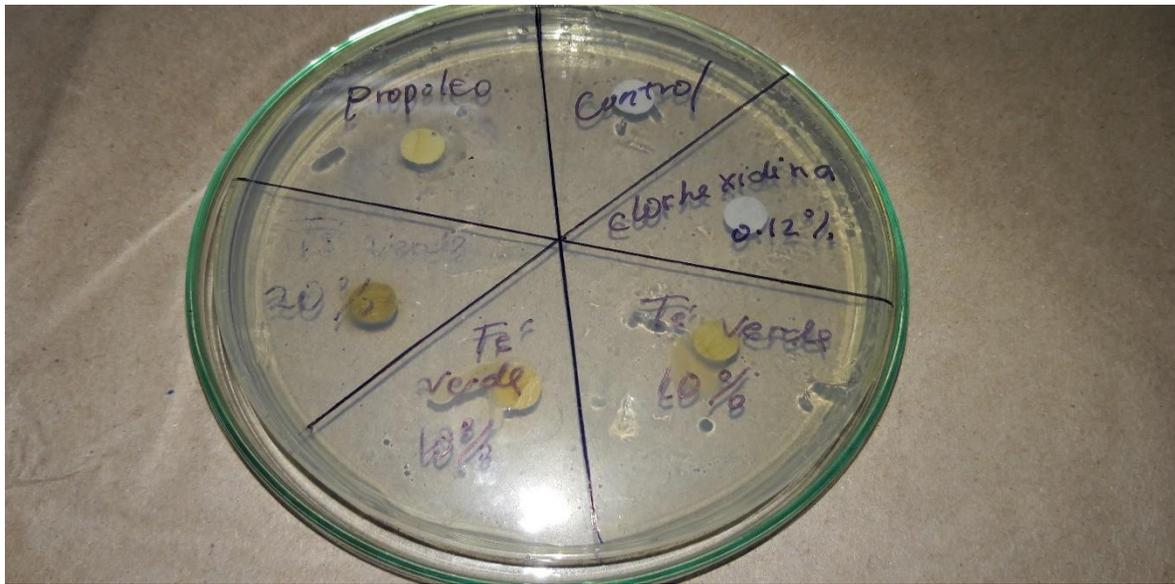




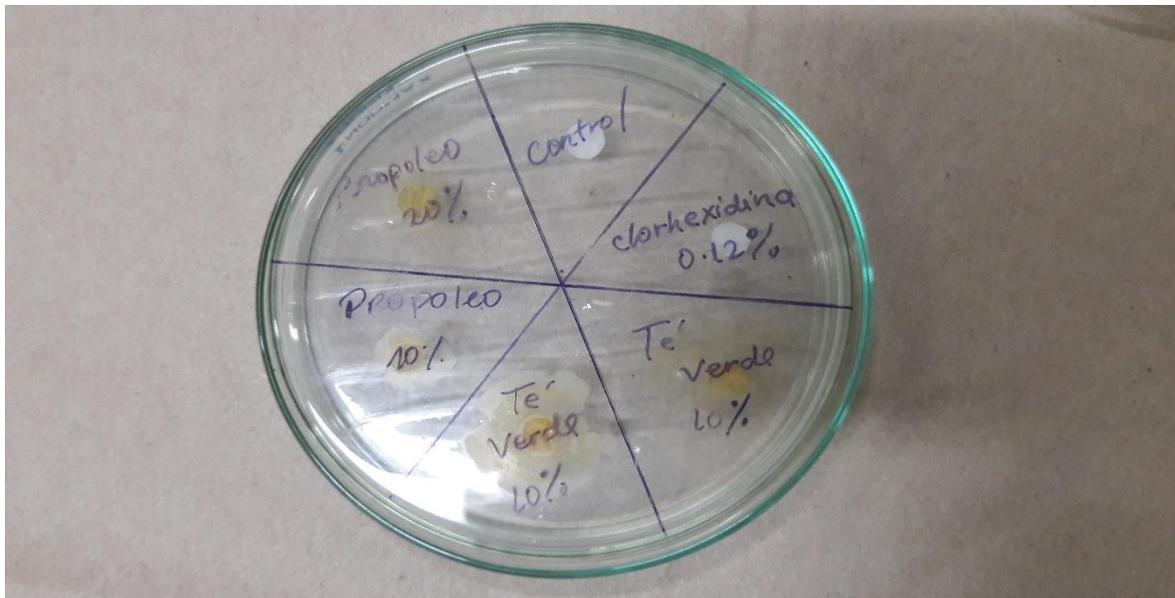
A LAS 24 HORAS



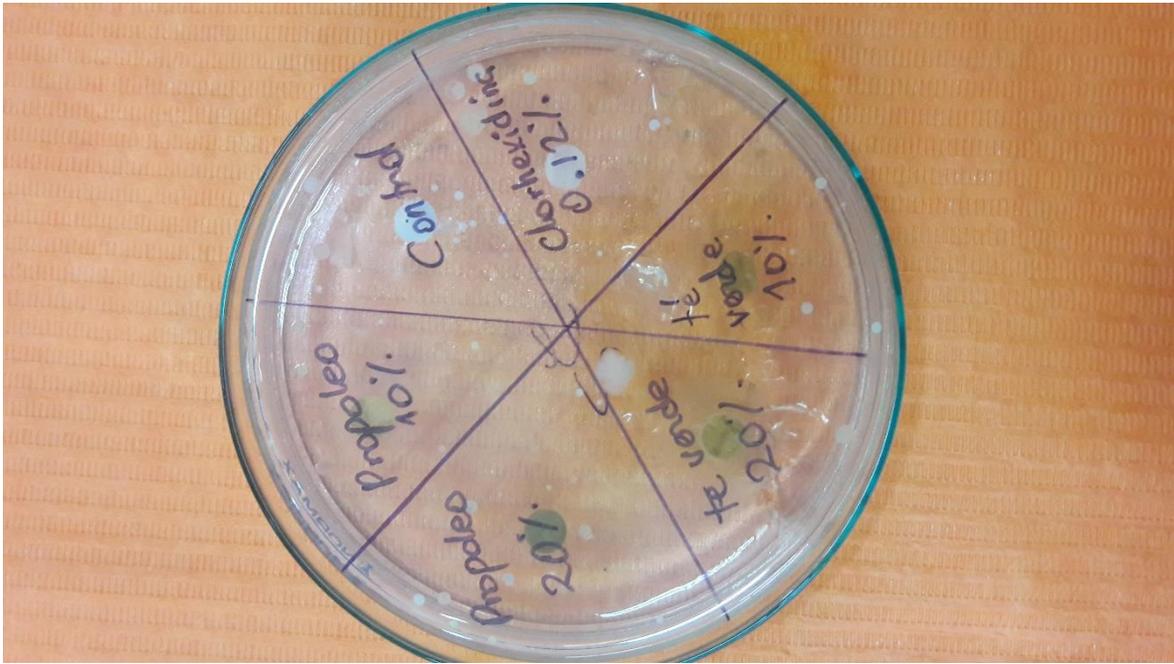
A LAS 24 HORAS



A LAS 48 HORAS



A LAS 48 HORAS



LECTURA A LAS 24 HORAS



LECTURA A LAS 48 HORAS



Anexo 5. Matriz de consistencia

EFEECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL *CAMELLIA SINENSIS* (TÉ VERDE) Y PROPÓLEO EN COMPARACIÓN A LA CLORHEXIDINA AL 0.12% SOBRE EL *STREPTOCOCCUS MUTANS* (ATCC 25175)

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÒTESIS	VARIABLES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICION	TECNICA Y MÈTODO	INSTRUMENTOS
<p>Problema Principal ¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del <i>Camellia sinensis</i> (té verde) y propóleo en comparación a la clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?</p> <p>Problemas Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál es la actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)? ¿Cuál es la actividad antibacteriana 	<p>Objetivo general Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del <i>Camellia sinensis</i> (té verde) y propóleo en comparación con la clorhexidina al 0.12%; sobre crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175). Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de 	<p>Hipòtesis Principal El extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (té verde) y el extracto etanólico de propóleo presentaría diferencias significativas en la actividad antibacteriana del crecimiento de cepas del <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), en comparación con la clorhexidina al 0.12%.</p> <p>Hipòtesis Derivadas</p> <ul style="list-style-type: none"> Existiría actividad antibacteriana de la clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175). Existiría actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té 	<p>Independiente</p> <ul style="list-style-type: none"> Extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (té verde). Extracto etanólico de propóleo. Clorhexidina <p>Dependiente Actividad antibacteriana contra el <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)</p> <p>Variable Interviniente Tiempo</p>	<p>Método de difusión en agar con discos</p> <p>Medición del halo de inhibición en milímetros.</p> <p>horas</p>	<p>Nominal.</p> <p>Continua / razón</p>	<p>Nivel: - Explicativo</p> <p>Tipo: Comparativo, longitudinal y prospectivo.</p> <p>Diseño: - Experimental <i>in vitro</i>.</p> <p>METODO -Observación. -Método estadístico.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Ficha de recolección de datos. Observación directa. Pie de rey.

<p>del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)?</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)? • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado? 	<p>cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar es la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175). • Comparar la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana, del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té 	<p>verde) al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Existiría actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, a las 24 y 48 horas, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175). • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de 					
--	---	---	--	--	--	--	--

<ul style="list-style-type: none"> • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado? • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado? • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto 	<p>verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 	<p>Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado. • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans 					
--	--	--	--	--	--	--	--

<p>etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado?</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana, al comparar el extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado? • ¿Existirá diferencias en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 	<p>25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado. • Comparar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado. 	<p>(ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10%, 20% y clorhexidina al 0.12%; sobre el crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado. • Existiría diferencias significativas entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado. • Existiría diferencias significativas entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de Camellia sinensis (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas 					
--	---	---	--	--	--	--	--

<p>24 y 48 horas de sembrado?</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Existirá diferencias entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 24 horas de sembrado? • ¿Existirá diferencias entre la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10% y 20% y el extracto etanólico de propóleo al 10% y 20%, sobre crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado? • ¿Existirá diferencias en la actividad 		<p>de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), a las 48 horas de sembrado.</p> <ul style="list-style-type: none"> •Existiría diferencias significativas en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado. 					
---	--	---	--	--	--	--	--

antibacteriana del extracto etanólico de <i>Camellia sinensis</i> (Té verde) al 10%, 20% y propóleo al 10% y 20%, sobre el crecimiento de cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175), entre las 24 y 48 horas de sembrado?							
---	--	--	--	--	--	--	--

