

Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del Propóleo sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

In vitro evaluation of the antibacterial effect of Propolis on cultures of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

César Cayo¹, Luis Quijandría², Javier Ramos³

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro del Propolis en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Este trabajo responde a un diseño experimental in vitro, de tipo aplicada, transversal, prospectivo, y de nivel descriptivo. Para la cual se usaron concentraciones diferentes del Propolis y se midieron los halos de inhibición formados alrededor de los discos embebidos con cada una de las concentraciones sobre las cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Como resultado se obtuvo que solo basta que la concentración de 10% de Propolis mostro efecto inhibitorio positivo en los cultivos de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), los grupos no presentan diferencia estadísticamente significativa, es decir los tres grupos tienen valores de inhibición del halo similares y la concentración inhibitoria mínima entre los tres grupos es la de concentración del propóleo al 10%. En conclusión existe un efecto antibacteriano del Propóleo (Propolis) inhibitorio positivo a las en cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Palabras claves: Propolis, in vitro, Agar Müller Hinton, *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the in vitro antibacterial effect of Propolis on the growth of strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). This work responds to an in vitro experimental design, applied, transversal, prospective, and descriptive level. For which different Propolis concentrations were used and the inhibition halos formed around disks embedded with each of the concentrations of *Streptococcus mutans* strains (ATCC 25175) were measured. As a result was obtained that only sufficient that the concentration of 10% Propolis showed positive inhibitory effect in the cultures of strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), while the concentration of 20% and 30% had no inhibitory effect on crops of *Streptococcus mutans* strains (ATCC 25175). In conclusion there is an antibacterial effect of Propolis (Propolis) positive for encultivos of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) inhibitory.

Keys words: Propolis, in vitro, Müller hinton agar, *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

1.Docente de Embriología, Histología, Patología General y Aplicada de EAP de Estomatología Filial Huacho.
cesarcayorojas@gmail.com

2.Bachiller de Estomatología de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la UAP sede – Huacho.
luisjql2010@gmail.com

3.Docente de Anatomía Humana y Medicina Oral en la EAP Estomatología – filial Huacho.
jd_dent@hotmail.com.

INTRODUCCIÓN

La condición de salud bucal en el Perú, atraviesa una situación crítica debido a la alta prevalencia de enfermedades odontoestomatológicas, tenemos así que la prevalencia de caries dental es de 90%, constituyendo un problema de salud pública. Además en lo que se refiere a caries dental el índice de dientes cariados, perdidos y obturados (CPOD), a los 12 años es de aproximadamente 6, ubicándose según la OPS en un país en estado de emergencia (1).

Frank R. y Col (2010) (2), El propósito de su estudio fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (EEP) de Oxapampa-Perú evaluando in vitro su acción antibacteriana frente al *S. mutans* y *S. aureus* para enfrentarlas a las soluciones: Propóleo 10% y 30% y compararlas con los testigos clorhexidina 0,12 y 0,05%, listerine y agua destilada, el EEP al 30% presentó mayor eficacia con una media de 11,77 mm \pm 0,19 y se encontró que las dos concentraciones de propóleo a las 24 y 48 horas mostraron diferencia significativa $p=0,007$. Además, se determinó que para el *S. mutans*, tanto el EEP al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no mostraron diferencia significativa.

Rodrigo F et al (2009) (3). En este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de pastas de dientes a base de propóleo utilizada como medicamento intracanal en el tratamiento endodóntico. Las pastas de dientes a base de propóleo presentan actividad antibacteriana frente a 83,3% de las bacterias analizadas. Para 66,7% de estas bacterias, las pastas de dientes a base de propóleo exhiben mayor actividad antibacteriana que el hidróxido de calcio. Los resultados permiten concluir que las pastas experimentales A70D y D70D mostraron buena actividad frente a bacterias aeróbicas, resultando más eficaz que el hidróxido de calcio.

Moreno Z y col (2007) (4), evaluó la actividad antimicrobiana de cuatro extractos de propóleos argentinos, cinco colombianos y uno cubano

frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Los propóleos que presentaron mayor efecto bactericida fueron el 2 y el 3 (muestras colombianas) luego de 48 horas de incubación. El mejor efecto bacteriostático lo presentó la muestra 2 (propóleo colombiano) a un periodo de incubación de 24 horas. El 70% de las muestras de propóleo incrementaron su actividad luego de un tiempo de incubación de 48 horas, en relación con el efecto detectado a las 24 horas. A mayor exposición de las bacterias al propóleo, las muestras colombianas mostraron un efecto superior, las argentinas un efecto moderado y las demás muestras (30%), permanecieron estables.

Eguizábal M y Col (2007) (5), el objetivo de su estudio fue determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico del propóleo peruano (EEPP) proveniente del Valle de Oxapampa (Pasco); mediante el método de difusión en Placa se usó las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Lactobacillus casei* ATCC 393, para enfrentarlas a las soluciones: 0,8, 20 y 30 % v/v del EEPP, y compararlas a los testigos Clorhexidina 0,12 % y alcohol 70 %. Se determinó que la acción antibacteriana del EEPP contra *S. mutans* muestra una mayor tendencia de actividad inversamente proporcional a su concentración, que en el caso del *L. casei*; tal acción antibacteriana en las concentraciones 0,8, 20 y 30 % es significativa en comparación al testigo negativo; así mismo la acción contra *S. mutans* es mayor que en *L. casei*; siendo significativas en las concentraciones de 0,8 y 20 %; y también la acción.

La importancia de este trabajo radicó en descubrir cuál es la concentración idónea del propóleo para que tenga un efecto óptimo bactericida respecto al *Streptococcus mutans*. Por esta razón nos planteamos el siguiente problema ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del propóleo en cultivos de *Streptococcus Mutans* (ATCC 25175)?

La hipótesis principal planteada es: El propóleo presentaría efecto antibacteriano in vitro en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

Siendo las hipótesis derivadas las siguientes:

- 1) Existiría actividad bacteriana de tipo sensible del propóleo al 10%, en la inhibición del crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* in vitro.
- 2) Existiría actividad bacteriana de tipo sensible del propóleo al 20%, en la inhibición del crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* in vitro.
- 3) Existiría actividad bacteriana de tipo sensible del propóleo al 30%, en la inhibición del crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* in vitro.

El objetivo principal fue: Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del propóleo en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*; a través de tres objetivos específicos:

- 1) Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del propóleo al 10% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
- 2) Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del propóleo al 20% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.
- 3) Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del propóleo al 30% en el crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans*.

MÉTODOS Y MATERIALES

El estudio se desarrolló en la ciudad de Huacho; la población muestral estuvo conformada por 30 sembrados *Streptococcus mutans* de placas contenidas de Agar Müller Hinton. Los cuales fueron evaluados luego de 42 horas encubadas en la estufa en un ambiente anaerobio, para luego ser medidas con un calibrador o pie de rey y una regla milimetrada estándar.

El cultivo de las cepas se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Alas Peruanas – Filial Huacho, por el investigador, bajo la supervisión de una microbióloga antes de realizar el cultivo de las cepas, estas se reactivaron,

debido a que se encontraban a -80°C , para lo cual se sometió a dos pasos de reactivación a las 24 y 48 horas antes del experimento y fueron colocadas a 37°C . Posteriormente se realizó el sembrado selectivo, mediante la técnica del hisopado sobre los medios de cultivo respectivos.

El Agar Müller - Hinton como el mejor para pruebas de susceptibilidad de rutina de bacterias por las siguientes razones:

- 1) reproducibilidad aceptable lote a lote para ensayos de susceptibilidad.
- 2) es bajo en inhibidores de sulfonamida, trimetoprim, y tetraciclina.
- 3) crecimiento satisfactorio para la mayoría de los patógenos no fastidiosos.

En el manejo del experimento se consideraron dos variables de estudio: una variable independiente, constituida por el efecto antibacteriano in vitro del Propolis (Propóleo), y una dependiente constituida por la inhibición de crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Luego del sembrado se rotuló con los números respectivos, y finalmente se llevó a la incubadora en un ambiente de 37°C en ausencia de oxígeno (idóneo para el crecimiento de los microorganismos).

El microorganismo creció en la superficie de la placa, pero alrededor de los disco se formaron unos halos de inhibición más o menos grandes, dependiendo de la mayor o menor sensibilidad de la bacteria a cada concentración.

Se midió el diámetro del halo (expresado en milímetros) y se llevó a las tablas, y se correlacionaron los diámetros de sensibilidad.

La correlación diámetro/CIM no se efectúa en términos cuantitativos, porque la técnica no es lo suficientemente exacta como para permitir cuantificar con precisión.

Se utilizó el programa SPSS para procesar los resultados utilizando métodos analíticos, descriptivos y estadísticos. Los datos fueron analizados utilizando medidas de tendencia central como la media aritmética y la mediana, así como medidas de dispersión como la desviación estándar (DE) y coeficiente de variación (CV).

Para la comparación de los grupos de acuerdo a la concentración de propóleo, primero se analizó la forma de distribución de los datos por grupo.

Esto nos permitió establecer que los datos no presentaban distribución normal y por lo tanto no se pudo utilizar pruebas inferencial paramétricas. Para la prueba de hipótesis de diferencia se eligió la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes con un nivel de confianza del 95% y significancia del 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra el resumen de los descriptivos de los datos agrupados por concentración, obteniéndose:

Para el grupo 1(10%), la media aritmética fue de 0.486 con desviación estándar de 0.39, el valor de la mediana fue 0.5 y coeficiente de variación de 80.3%.

Estos datos nos muestran una gran dispersión de los datos por lo que no sería conveniente describirlos con la media aritmética sino por la mediana. En este caso el valor 0.5 nos dice que el 50% de los datos es menor a este valor y el otro 50% mayor o igual a este.

Para el grupo 2 (20%), una media de 0.714 con desviación estándar 0.3231, una mediana de 0.5 y coeficiente de variación de 45.2%. Del mismo modo, por la excesiva dispersión, la descripción de los datos se debe realizar utilizando la mediana como medida de tendencia central de elección.

Entonces interpretaremos que el 50% de los datos son menores a 0.5 y el 50 % restante mayor o igual este valor de la mediana.

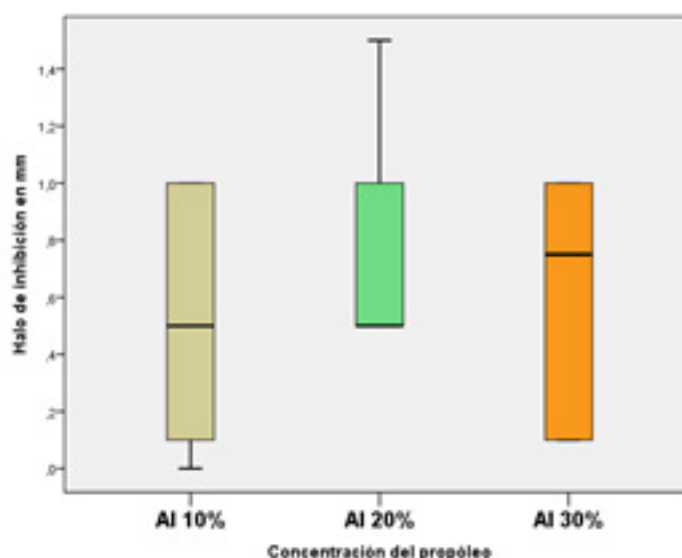
Para el grupo 3 (30%), se obtuvo una media de 0.636 con desviación estándar 0.4050, la mediana de 0.75 y coeficiente de variación de 63.7%. La alta dispersión mostrada de los datos hace que la descripción se realice utilizando la mediana.

Por lo que diremos que el 50% de los datos del grupo es menor a 0.75 y el 50% restante mayor o igual a este valor. Tal como lo muestra la gráfica N° 1.

Tabla N° 1. Analisis descriptivo para los valores del halo de inhibición (mm) de acuerdo al grado de concentración del propóleo

	N	Media	DE	Mínimo	Máximo	Mediana	CV
AI 10%	14	0,486	0,3900	0,0	1,0	0,5	80.30%
AI 20%	14	0,714	0,3231	0,5	1,5	0,5	45.20%
AI 30%	14	0,636	0,4050	0,1	1,0	0,75	63.70%

Gráfico N° 1. Diagrama de caja y bigotes para el halo de inhibición de acuerdo a la concentración del propóleo.



La tabla 2 muestra la prueba de Shapiro Wilk para establecer normalidad de los datos.

El grupo 1(10%) con un valor $p=0.17$, el grupo 2 (20%) con un $p=0.000$ y el grupo 3 (30%) con va-

lor $p=0.001$. Con estos valores los tres grupos no presentan distribución normal de los datos, por lo que se eligió una prueba no paramétrica para establecer diferencias entre los grupos.

Tabla N° 2. Análisis de normalidad para los valores del halo de inhibición (mm) de acuerdo al grado de concentración del propóleo. prueba de Shapiro-Wilk.

Concentración del propóleo		Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p
Halo de inhibición en mm	AI 10%	0,842	14	0,017
	AI 20%	0,688	14	0,000
	AI 30%	0,751	14	0,001

La tabla 3 muestra el valor de significancia $p=0.286$ obtenido al comparar los grupos (1, 2 y 3), con el que no rechazamos la hipótesis nula de igualdad.

Mostrando que los valores del halo de inhibición es la misma entre los grupos de concentración del propóleo.

Tabla N° 3. Prueba de Kruskal-Wallis para la diferencia del halo de inhibición entre grupos a diferentes concentraciones.

Valor de prueba	gl	p
2.21	2	0

DISCUSIÓN

Para el grupo 1 (10%), la media aritmética fue de 0.486 con desviación estándar de 0.39, el valor de la mediana fue 0.5 y coeficiente de variación de 80.3%. Esto nos muestra una gran dispersión de los datos por lo que no sería conveniente describirlos con la media aritmética sino por la mediana.

En este caso el valor 0.5 nos dice que el 50% de los datos es menor a este valor y el otro 50% mayor o igual a este, difiriendo el resultado de Mayta F y Sacsquispe Sj (2010) el valor de la mediana fue 11.55, para Marly Eguizabal, Hilda Moromi N. (2007) el 0.8% tiene mejor acción antibacteriana contra *Streptococcus mutans*.

Para el grupo 2 (20%), la media aritmética fue de 0.714 con desviación estándar de 0.3231, el valor de la mediana fue 0.5 y coeficiente de variación de 45.2%.

Esto muestra una gran dispersión de los datos por lo que no sería conveniente describirlos con la media aritmética sino por la mediana. En este caso el valor 0.5 nos dice que el 50% de los datos es menor a este valor y el otro 50% mayor o igual a este, difiriendo el resultado de Marly Eguizabal A, Hilda Moromi Nakata (2007) el valor de la mediana fue 1.87.

Para el grupo 3 (30%), se obtuvo la media aritmética de 0.636 con desviación estándar de 0.4050, el valor de la mediana fue 0.75 y coeficiente de variación de 63.7%. Esto nos muestra una gran dispersión de los datos por lo que no sería conveniente describirlos con la media aritmética sino por la mediana.

En este caso el valor 0.75 nos dice que el 50% de los datos es menor a este valor y el otro 50% mayor o igual a este, difiriendo el resultado de Mayta F y Sacsquispe Sj (2010) el valor de la mediana fue 11.40, para Marly Eguizabal A, Hilda Moromi N (2007) el valor de la mediana fue 1.75.

En conclusión en este trabajo se demostró que los valores promedios de inhibición de los halos de los tres grupos, presentan alta dispersión. Además los grupos comparados no presentan diferencia estadísticamente significativa, es decir los tres grupos tienen valores de inhibición del halo similares. Finalmente la concentración inhibitoria mínima entre los tres grupos es la de concentración del propóleo al 10%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ministerio de Salud, **Reglamento de Organización y funciones del Ministerio de Salud** [base de datos en línea]. Perú: Editorial Ministerio de Salud del Perú; 2002 – 2012 .URL disponible en: http://www.minsa.gob.pe/portada/est_san_saludbucal.htm

Mayta F y Sacsquispe SJ. (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.

Rodrigo F et al. (2009) *La actividad antibacteriana de los dentífricos a base de propóleo para el tratamiento de endodoncia*. *Revista Brasileña de Ciencias Farmacéuticas*. p 45.

Moreno Z, Martínez P, Figueroa J. (2007) *Efecto antimicrobiano In vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*. *Revista Nova – Universidad Nacional de Colombia*, Vol 5 (7) pp 70 – 75.

Eguizabal M, Moromi H. (2007) *Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano sobre Streptococcus mutans y Lactobacillus casei*. *Odontología Sanmarquina*; 10(2): 18-20. ISSN: 1560-9111.