



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

PRE-GRADO

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE ÁPIS
MELLÍFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE
ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUÉS DE UNA
PREPARACIÓN BIOMECÁNICA ENDODÓNTICA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

BARBARA, CERVERA ROMERO

ASESOR

C.D. ELOY, GAMBOA ALVARADO

LIMA - NOVIEMBRE

2019

TESIS

**COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE ÁPIS
MELLÍFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE
ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUÉS DE UNA
PREPARACIÓN BIOMECÁNICA ENDODÓNTICA**

PRESENTADO POR:

BACHILLER: CERVERA ROMERO, BARBARA LORENA

ASESOR: Mg. C.D. ELOY GAMBOA ALVARADO

ÁREA DE INTERÉS: BIOLOGÍA ESTOMATOLÓGICA

EJE TEMÁTICO: MICROBIOLOGÍA EN ESTOMATOLOGÍA

LIMA - PERÚ

2019

A Dios por guiarme y darme la sabiduría en todo momento para cumplir con éxito todas mis metas.

A mi Madre por ser mi fuerza y apoyo incondicional en todo momento, todo lo hago por ella porque su felicidad de es el mejor regalo que puedo tener.

A mi hermano por su cariño y buenos deseos en este proceso.

A mi compañero, amigo y novio por su gran amor, comprensión, empuje y su ayuda siempre para ser la mejor.

Al Dr Eloy Gamboa por su asesoría, apoyo y alentamiento para la ejecución de mi tesis.

Al Dr Miguel Ángel Zuñiga por su gran capacidad profesional e invaluable aporte incondicional para la realización de la presente investigación.

Al Dr Jorge Chero por sus buenos consejos, gran apoyo y paciencia para la elaboración de mi tesis.

A la Dra Carmen Aquije y su gran equipo de trabajo del laboratorio por brindarme su amistad, consejos y supervisión adecuada para la realización de una buena ejecución de trabajo.

RESUMEN

El propósito de la presente investigación fue comparar el efecto antibacteriano de *Ápis mellífera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica endodóntica in vitro, ambos medicamentos intraconductos naturales fueron usados en su concentración al 100%. Para ello primero se realizó la reactivación de la cepa en el medio de cultivo Agar sangre. Luego se realizó la técnica de macrodilución en caldo BHI, sumergiendo los dientes uniradiculares preparados con la técnica corono-apical a 37°C por 21 días. Se realiza la medicación intraconducto dividiéndose en 4 grupos: Propóleo (Grupo I) , Muña (Grupo II), control positivo (Grupo III) , control negativo (Grupo IV) se sellaron con pasta provisional Eugenato y se dejó incubando por 7 días a 37°C. Luego se tomó una muestra con limas tipo H y se colocó en las diluciones en caldo BHI y se sembró 0,1ml de cada dilución en las placas de Agar Mueller-Hinton por 7 días. Los resultados indicaron que el propóleo presentó 50% efectividad alta y 20% efectividad alta y la muña presentó 50% de efectividad alta, con las pruebas estadísticas de ANOVA Y TUKEY se pudo determinar un mayor efecto antibacteriano del propóleo. La CMI del propóleo fue de 257.6 µg/ml; asimismo la CMI de la muña fue de 25 µg/ml.

Palabras clave: Propóleo, Muña, *Enterococcus faecalis*, extracto etanólico, aceite esencial.

ABSTRACT

The purpose of the present investigation was to compare the antibacterial effect of *Apis mellifera* (propolis) and *Minthostachys mollis* (muña) about the bacterial growth of the strain of *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) after an in vitro endodontic biomechanical preparation, both natural intraconducting medications were used in their concentration to 100%. For this, the reactivation of the strain was first carried out in the blood agar culture medium, then the macrodilution technique was performed in BHI broth, submerging the uniradicular teeth prepared with the corono-apical technique at 37 ° C for 21 days. Intraconduct medication is performed by dividing into 4 groups: Propolis (Group I), Muña (Group II), positive control (Group III), negative control (Group IV) sealed with provisional Eugenato paste and left incubating for 7 days at 37 ° C. A sample was then taken with type H files and placed in the dilutions in BHI broth and 0.1 ml of each dilution was seeded in the Mueller-Hinton Agar plates for 7 days. The results indicated that the propolis had 50% high effectiveness and 20% high effectiveness and the muña presented 50% high effectiveness, with the statistical tests of ANOVA and TUKEY a greater antibacterial effect of propolis could be determined. The MIC of propolis was 257.6 µg / ml; Likewise, the MIC of the muña was 25 µg / ml.

Keywords: Propolis, Muña, *Enterococcus faecalis*, ethanolic extract, essential oil.

ÍNDICE

Pág,

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
ÍNDICE	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE GRÁFICOS	
INTRODUCCIÓN	12
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción de la realidad problemática	14
1.2. Formulación del problema	17
1.3. Objetivos de la investigación	17
1.4. Justificación de la investigación	18
1.4.1. Importancia de la investigación	19
1.4.2. Viabilidad de la investigación	19
1.5. Limitaciones de la investigación	20
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes de la investigación	21
2.2. Bases teóricas	28
2.2.1 Medicación intraconducto natural	28
2.2.1.1 Plantas medicinales	28
2.2.1.2 El propóleo	28
2.2.1.3 Muña	31
2.2.2 Microorganismos Prevalentes en lesión periradicular	33

2.2.2.1 Enterococcus faecalis	34
2.2.3. Etiología de las infecciones	36
2.2.4. Tipos de infección endodóntica	36
2.2.4.1 Infección primaria del conducto radicular	37
2.2.4.2 Infección secundaria o persistente del conducto radicular	38
2.2.4.3 Infección extraradicular	39
2.2.5. Instrumentación	40
2.2.6 Clasificación técnica de preparación manual	40
2.2.6.1 Técnica Ápico coronal (Step Back)	41
2.2.6.2 Técnica Corono apical (Crow Down)	41
2.2.7 CMI (Concentración mínima inhibitoria)	42
2.3. Definición de términos básicos	43
CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	
3.1. Formulación de hipótesis principal y derivadas	44
3.2. Variables; dimensiones e indicadores y definición conceptual y operacional	45
CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	
4.1. Diseño metodológico	46
4.2. Diseño muestral	47
4.3. Técnica e instrumentos de la recolección de datos	48
4.4. Técnicas de procesamiento de la información	50
4.5. Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información	54
4.6 Aspectos éticos contemplados	54

CAPÍTULO V. ANÁLISIS Y Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos, fotos, tablas, etc.	55
5.2 Análisis inferencial, pruebas estadísticas paramétricas, no paramétricas, de correlación, de regresión u otras.	63
5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas.	67
5.4 Discusión	71
CONCLUSIONES	74
RECOMENDACIONES	75
FUENTES DE INFORMACIÓN	76
ANEXOS	83
Anexo N°1: Carta de presentación (emitido por la escuela)	
Anexo N°2: Constancia de desarrollo de la investigación	
Anexo N°3: Instrumento de recolección de datos	
Anexo N°4: Matriz de consistencia	
Anexo N°5: Fotografía	
Anexo N°6: Certificados	

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla N° 01. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis Mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	55
Tabla N° 02. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	57
Tabla N° 03. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis Mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	59
Tabla N° 04. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	61
Tabla N°05. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	63
Tabla N°06. Unidades Formadoras de Colonia de cepa de <i>Enterococcus Faecalis</i> (ATCC 29212) según <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y Ápis Mellifera (propóleo)	65

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pág.

Gráfico N° 01. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis Mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	56
Gráfico N° 02. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	58
Gráfico N° 03. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis Mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	60
Gráfico N° 04. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	62
Gráfico N°05. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) y Ápis mellifera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).	64
Gráfico N°06. Unidades Formadoras de Colonia de cepas de <i>Enterococcus Faecalis</i> (ATCC 29212) según <i>Minthotachys mollis</i> (muña) y Ápis Mellífera (propóleo)	66

INTRODUCCIÓN

La presente tesis es una investigación que tiene como propósito comparar el efecto antibacteriano de *Ápis mellífera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

El capítulo I se describe la realidad problemática que existe en la persistencia de la *Enterococcus faecalis* después de realizar una terapia endodóntica por lo que se busca encontrar un medicamento natural ideal con el *Ápis Mellífera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña) que presente propiedades terapéuticas para poder combatir con esta bacteria y mejorar la salud de los pacientes.

El capítulo II se realiza la búsqueda de estudios fundamentados o bases científicas que demuestre la efectividad antibacteriana de plantas frente a cepas bacterianas .

El capítulo III se plantea la hipótesis para comparar la mayor efectividad antibacteriana entre el *Ápis Mellífera* y *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica endodóntica.

El capítulo IV se da la ejecución de la investigación empezando con la obtención de extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) del fundo de Yanachaga de la región de Oxapampa y del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) del Laboratorio Essential oils Perú, la cepa bacteriana de *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) certificado por un Laboratorio capacitado para evaluar la efectividad antibacteriana con el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y determinar la concentración mínima inhibitoria que presente estas dos plantas con efectos terapéuticos.

El capítulo V se realiza las prueba de escala de efectividad antibacteriana de Kuruvilla y Kamath donde se determinó que las UFC del propóleo fue de 3538 UFC/ml y de la muña fue de 9988 UFC/ml determinándose que el extracto

etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica endodóntica en piezas dentarias. Por otro lado se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) según la turbidez óptica fue de 257.6 $\mu\text{g} / \text{ml}$ y *Minthotachys mollis* (muña) fue de 25 $\mu\text{g} / \text{ml}$. Concluyéndose la efectividad antibacteriana del *Ápis Mellífera* (propóleo) y *Minthotachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica endodóntica.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Más del 89% de las personas son afectadas por lesiones infecciosas de tipo bacteriano, los productos químicos irritantes (eugenol, paramonoclorofenol alcanforado, formocresol, yoduro de potasio) hoy en día no son recomendados como terapia endodóntica debido a su grado de citotoxicidad .¹

Actualmente el uso del hidróxido de calcio Ca (OH)₂ como agente bactericida presenta propiedades antimicrobianas pero aún con poca significancia en su capacidad de eliminar por completo al *Enterococcus faecalis* encontrado en los fracasos endodónticos, pues estos productos son de difícil acceso para personas que se encuentran con bajos recursos económicos y poco conocimiento de esta complicación.²

Se ha demostrado en fracasos de tratamiento de obturación radicular la presencia de bacterias anaerobias facultativas y Gram positiva siendo el *Enterococcus faecalis* encontrado con más frecuencia, se encuentra presente entre 30 a 90% en la terapia endodóntica, mientras que en los fracasos endodónticos está presente a un 70%.³

El *Enterococcus faecalis* es un coco gram positivo siendo una bacteria anaerobia facultativa, inmóvil, no esporulado. ⁴

Su hábitat natural es en el tracto gastrointestinal, sin embargo se encuentra en tejidos de la cavidad oral. ⁴

En casos de lesiones oportunistas, se puede aislar como microbiota en mucosa bucal y la lengua; también se ha evidenciado su presencia en bolsas periodontales e infecciones pulpo-periapicales.⁵

La colonización de un ambiente deficiente de nutrientes con una medicación previa de conductos, demuestra el papel de adhesión a la superficie dentinaria. La dentina presenta colágeno y otras proteínas donde se sugiere que las proteasa sintetizadas por la bacteria, así como la proteína de unión al colágeno podría tener relación en la proliferación bacteriana.⁶

En investigaciones se ha observado la formación de biofilms y crecimiento de *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares aun así siendo medicados y obturados demostrando así su alta resistencia de la bacteria ante antimicrobianos.⁷

La resistencia antibiótica a nivel global durante el tiempo a sido un problema causado por el uso inadecuado de antibióticos y el caso de los grupos *Enterococcus* está en aumento, generando fracasos en los tratamientos.⁸

Durante cientos de años la medicina natural herbolaria ha tomado un rol con éxito en la salud de distintas sociedades, causando un mayor impacto en el sector médico. Los indígenas han aplicado por mucho tiempo el consumo de distintas productos naturales para el cuidado y saneamiento de su salud debido a sus propiedades con contenido fitoquímico.⁹

El propóleo (*Ápis mellífera*) presenta propiedades terapéuticas bactericida y bacteriostática donde una de sus funciones en las colmenas es de proteger y momificar los insectos evitando la descomposición, putrefacción e infección logrando la desinfección de la colmena .¹⁰

Presenta la capacidad de contener el desarrollo de agentes patógenos por la presencia de los flavonoides (galangina y pinocembrina) que revelan actividad antibacteriana.¹⁰

De otro lado la muña (*Minthostachys mollis*) en épocas prehispanicas era utilizado para conservar en perfectas condiciones a los alimentos de origen vegetal; como también el campesino lo utilizaba para preservar la papa y otros tubérculos menores contra el ataque de insectos en condiciones de almacenamiento.¹¹

La presencia de carvicrol y timol son compuestos terpénicos derivados de los fenoles donde demuestra su efecto antibacteriano, actuando en la membrana citoplasmática de la bacteria siendo una alternativa terapéutica frente a fracasos endodónticos.¹²

Actualmente el campo referente de riqueza y megadiversidad que presenta el Perú permite el estudio e investigación de plantas nativas con actividades

antibacterianas que permite un enfoque en el área odontológica para un exitoso tratamiento.¹³

Este nuevo enfoque ha generado realizar esta investigación para el desarrollo de este trabajo, el cual tiene como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Apis mellifera* (propóleo) y aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema Principal:

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?

1.2.2 Problemas Específicos:

- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días?
- ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?
- ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo principal:

- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

1.3.2 Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.
- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.
- Determinar concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

1.4 Justificación de la investigación

La medicina natural está siendo utilizada como alternativa curativa para la salud humana, a pesar de eso aún hay pocas investigaciones en el área odontológica; aún así viviendo rodeados de una gran biodiversidad de plantas naturales medicinales que puede contribuir en el tratamiento de la cavidad oral.

Las infecciones de los conductos radiculares están colonizados por diversas bacterias que han ingresado por diferentes vías ocasionando infecciones persistentes, por ello en este estudio se busca el empleo de medicación de plantas naturales para la eliminación del *Enterococcus faecalis* considerado como la bacteria presente en fracasos de endodoncia.

La justificación de este estudio tendría gran relevancia ya que la obtención del recurso natural es de menor costo y debido a que su presentación es de origen

natural brinda más posibilidades de reducir los altos porcentajes de infecciones de tejidos orales.

1.4.1 Importancia de la Investigación

Su importancia teórica se basa en la utilización de nuevas sustancias para la medicación intraconducto que llevaría a emplear un producto derivado de plantas autóctonas de la serranía peruana y de la selva, que crece abundantemente en nuestro país, impulsando nuestra actividad profesional aplicando tratamientos endodónticos con menos posibilidades de fracaso, demostrando probadas propiedades antibacterianas.

Su importancia social se basa en que contamos con la biodiversidad del Perú brindando mayor acceso y menos costo para su obtención del propóleo y muña de forma natural en nuestras regiones generando efectos inhibitorios bacterianos gracias a sus determinados componentes.

Esta investigación presenta importancia clínica debido a que si se demuestra efectos antibacterianos del extracto etanólico del propóleo y aceite esencial de la muña en cepas de *Enterococcus faecalis*, podrían realizarse investigaciones centrándose en la utilización de la medicina natural; así aportar un eficaz tratamiento para la medicación intraconducto radicular garantizando la eliminación total de las bacterias anaerobias facultativas; generando aportes en el sector odontológico con el presente estudio que conlleve el uso del extracto etanólico de propóleo y aceite esencial de muña para la medicación intraconducto y la inhibición del desarrollo de bacterias, brindando el éxito favorable en el tratamiento endodóntico.

1.4.2 Viabilidad de la Investigación

- Fácil recolección del extracto etanólico de *Apis mellifera* (propóleo) y Aceite esencial de *Mintostachys mollis* (muña) debido a la diversidad de plantas naturales en tierras Peruanas.
- Esta investigación será autofinanciada.
- Existe acceso al Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas para la investigación.

1.5 Limitaciones del estudio

- Obtención limitada de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) debido a que su adquisición está controlada.
- Disponibilidad horaria para el trabajo de investigación en el Laboratorio central de la Universidad Alas Peruanas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1 Antecedentes nacionales:

Ccallo N. (2013). Realizó la tesis: “Concentración Mínima Inhibitoria del Aceite esencial del *Minthostachys Mollis*, frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus Mutans* y *Porphyromonas Gingivalis* en Puno, Perú”. Su objetivo fue determinar la CMI del aceite esencial de la muña. Se realizó el método de macrodilución en tubos de aceite esencial de *Minthostachys mollis*. Se usó el análisis descriptivo para obtener los resultados. Los resultados fueron que la CMI para el *Streptococcus mutans* es 0.448mg/ml inhibiendo el 50% de crecimiento bacteriano, en *Porphyromonas gingivalis* fue mayor a 0.448mg/ml tan solo inhibiendo el 23.05% de proliferación bacteriana. Se concluyó la efectividad antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys mollis*(muña) inhibe el *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*.¹⁴

Huari G. (2014). Realizó la tesis: “Efectividad antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans* en Lima, Perú”. Su objetivo fue valorar el efecto antibacteriano del aceite esencial *Minthostachys mollis*. Se utilizó el método de difusión en agar tripticasa de soya en discos, con 10 µl del aceite esencial de muña, 10 µl de dimetilsulfoxido como control negativo, como control positivo 25 µl de amoxicilina, controlando la sensibilidad bacteriana a las 24 horas. Los resultados del aceite esencial al 100% con halos de inhibición de 10.79mm, al 50% con 7.06mm, al 25% con 5mm, para la amoxicilina halos de inhibición de 49.3mm. En conclusión el aceite esencial de muña al 100% presenta menor efecto antibacteriano que la amoxicilina, y al 25, 50% presenta mayor efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*.²

Pajuelo S. (2015). Realizó la tesis: “Actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante *enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro en Trujillo, Perú”. El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 2.5% al 40°C, 37°C y 30°C ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro. En cuanto a métodos se utilizó

placas Petri con medios de agar aislado con el *Enterococcus faecalis* así realizando el método de conteo de unidades formadoras de colonias. El resultado muestra que la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio al 2.5% a 40°C presenta un efecto antibacteriano muy alto comparado al 37°C y 30°C. En conclusión se evidencia resultados positivos ante la actividad antibacteriana del hipoclorito de sodio a temperaturas de 40°C, 37°C y 30°C frente a *Enterococcus faecalis*, siendo el de 40°C que presenta mayor eficacia antibacteriana.¹⁵

Alaba W (2015). Realizó la tesis: “Efecto inhibitorio de las hojas de *Minthostachys mollis* en cepas de *Enterococcus faecalis* en Trujillo, Perú”. Su objetivo fue determinar el efecto inhibitorio de IKI al 2% y *Minthostachys mollis* en cepas de *E. faecalis*. En cuanto a materiales y métodos se utilizó difusión de discos para evaluar la susceptibilidad bacteriana, utilizo 7 placas Petri en agar Muller- Hinton sembrando las cepas bacterianas, y se colocó en discos con IKI al 2% o con el *Minthostachys mollis* al 100% y en dilución etanólico al 50%, se incubaron a 37° C para medir el aumento de los halos a 24,48 y 72 horas respectivamente. Dando como resultados a las 24 horas del aceite esencial al 100% fue de 15,02mm y del IKI al 2% con 7,85mm. Los halos disminuyeron de tamaño a las 72 horas. Concluyeron que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% posee mayor efecto inhibitorio in vitro sobre las cepas *E. faecalis* que el IK al 2%.¹⁶

Quispe J (2015). Realizó la tesis: “Caracterización físico química de las hojas de muña y su estudio antibacteriano en Trujillo, Perú”. Su objetivo fue determinar las características físico químicas que se presenta en el aceite esencial de muña (*Minthostachys setosa*) proveniente de Yauyos. En cuanto a materiales y métodos se realizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua sometido a los análisis físicos químicos como índice de refracción, solubilidad en Etanol, Índice de Ester, Índice de Acidez, etc. Se sembró en las placas y se determinó la CMI frente a las cepas de *E. faecalis*, *S. aureuginosa*, *E. coli*, *E. mutans* y *S. aureus*. El resultado fue que el aceite esencial de la Muña puede extraerse a escala industrial. Y la CMI para *E. faecalis* fue de 0.00125mL A.E/ml del inóculo, en *Escherichia coli* fue de 0.0025

mL A.E/ml del inóculo, en *Staphylococcus aureus* fue de 0.01 mL A.E/ml del inóculo, en *Streptococcus mutans* fue de 0.02 mL A.E/ml del inóculo y en el caso de *Pseudomona aeruginosa* no se pudo determinar la CMI ya que se empleó la mayor concentración empleada no fue lo suficiente para eliminar el 99.9% de población inoculada. Se concluyó que la Muña presenta propiedades antioxidantes naturales, además propiedades antibacteriana en cepas de *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* y *S. mutans*, ya que su crecimiento fue inhibido por el aceite esencial.¹⁷

Quispe D. (2016): Realizó la tesis: “Efecto inhibitorio in vitro del *Minthostachys mollis* Griseb en cepas prevalentes de patologías periapicales endodónticas en Puno, Perú”. Su objetivo fue determinar cuantitativamente y cualitativamente la eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* . En cuanto a materiales y métodos se utilizó el método de difusión en agar con discos frente a tres cepas bacterianas *F. nucleatum* ATCC 25586, *P. melaninogenica* ATCC 25845, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El aceite se diluyó en alcohol etílico al 70° al 25 y 50% de concentración; estas diluciones fueron comparadas con Paramonoclorofenol alcanforado como control positivo y con alcohol etílico al 70% como control negativo. La cual los resultados fueron halo de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* Griseb (muña) y del Paramonoclorofenol alcanforado. Encontrándose una media mayor del halo de inhibición en el aceite esencial de muña al 100%(23,350) y una media menor del halo de inhibición del aceite esencial de muña al 25%(12,895). Se concluyó que el *Minthostachys mollis* puro presenta efectividad bacteriana mayor al alcohol etílico y menor al Paramonoclorofenol alcanforado.¹³

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Mattigatti S (2013). Realizó el artículo: “Efecto antimicrobiano de los medicamentos convencionales del conducto radicular versus propóleos contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* en Maharashtra, India”. El cual tuvo como objetivo evaluar y comparar el efecto antimicrobiano de diversos medicamentos del conducto radicular contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*. En cuanto a

materiales y métodos fueron seis medicamentos para el conducto radicular las cuales fueron hipoclorito de sodio al 2%, clorhexidina al 2%, hidróxido de calcio, EDTA, MTAD, propóleos y tres microorganismos que se inocularon en infusión de cerebro y corazón (BHI) y se incubaron a 37 grados C durante 24 horas. Para la prueba de difusión en agar (ADT), las placas de Petri con 20 ml de agar BHI se inocularon con 0,1 ml de las suspensiones microbianas, utilizando hisopos estériles que se extendieron en el medio, obteniendo un requerimiento de crecimiento. En los resultados se halló que el E. Faecalis, E. aureus, Cándida albicans presentan halos de inhibición en MTAD de 22.05 mm/5.4mm/ 18.7 mm, Clorhexidina al 2% de 18.7mm/12.05mm/22.05mm, Propóleos 15.8 mm/4.5mm/ 14.4mm, Hipoclorito de sodio al 2% 15.1 mm/ 8.7mm/15.8mm, EDTA 14.4 mm/ 4.8mm/ 14.5mm, Hidróxido de calcio 12.68mm/2.7mm/14.4mm fueron medidos respectivamente. El propóleo y otros irrigantes son efectivos en C. albicans, S. aureus y E. faecalis. CHX y MTAD resultaron ser los más efectivos entre todos los materiales probados seguidos de los propóleos. Concluyó que el propóleo mostró actividad antimicrobiana contra E. faecalis, S. aureus, C. albicans, siendo un eficaz irrigante intracanal en la erradicación de E. faecalis y C. albicans.¹⁸

Zare M. (2013). Realizó el artículo: “ Propóleo: una nueva alternativa para la desinfección del conducto radicular en Isfahan, Irán” tuvo como objetivo evaluar y comparar las unidades formadoras de colonias y las concentraciones mínimas inhibitorias de hidróxido de calcio y propóleos como medicamentos intracanal. En cuanto a los materiales y métodos se utilizó 80 dientes uniradiculares la cual se prepararon con la técnica biomecánica coronapical donde se inocularon cepas de Enterococcus faecalis y se incubaron por 21 días, luego se aplicaron medicamentos intracanales por grupos; se dejó incubando por una semana y se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias después de 48 horas y la CMI se midieron mediante dilución en serie y métodos de dilución en agar respectivamente. En los resultados las CMI y las UFC de propóleo fueron dramáticamente menores que el hidróxido de calcio. La diferencia entre los grupos fue estadísticamente significativa ($P < 0,001$). Se concluyó que el propóleo es un agente intracanal antimicrobiano eficaz.¹⁹

Agarwal J (2014). Realizó el artículo: “Eficacia antimicrobiana del 25% de extracto de propóleo en la irrigación del conducto radicular de los dientes primarios en Uttar Pradesh, India” tuvo como objetivo evaluar el potencial del 25% de extracto de propóleo soluble en agua frente a los microorganismos presentes en los canales radiculares de los dientes primarios durante los procedimientos de endodoncia. En cuanto a los materiales y métodos fueron dientes seleccionados la cual se dividieron en dos grupos al azar. En el Grupo A, se utilizó solución salina isotónica al 0,9% y en el Grupo B, propóleos solubles en agua al 25% como solución de irrigación, respectivamente. Las muestras bacterianas se recolectaron antes y después de la irrigación y se transfirieron para el ensayo microbiano. En cuanto a sus resultados del presente estudio la comparación del cambio medio de los recuentos de colonias bacterianas de estreptococos y estafilococos en dos grupos, la prueba de Mann-Whitney reveló una diferencia significativa ($P < 0.01$) y una disminución mayor (59.2% y 68.2% respectivamente) en el recuento de colonias de estreptococos y estafilococos en el Grupo B en comparación con el Grupo A ($P < 0,001$). En comparación del cambio medio (pre-post) de *E. faecalis* y *E. coli* recuento de colonias bacterianas en dos grupos, la prueba de Mann-Whitney reveló (52.3% y 37.4%) mayor disminución de *E. faecalis* y *E. coli* colonia en el Grupo B en comparación con el Grupo A, pero los datos fueron no estadísticamente significativo ($P = 0.077$ y $P = 0.170$). En conclusión el presente estudio ha confirmado que la eficacia antibacteriana del extracto soluble en agua de propóleos en los canales radiculares primarios dientes *in vivo*. Teniendo en cuenta las preocupaciones de baja toxicidad y la eficacia antibacteriana, el extracto soluble en agua del 25% de propóleos se puede recomendar como un irrigante del conducto radicular en el tratamiento endodóntico de los dientes primarios.²⁰

Torrenegra M (2016). Realizó el artículo: “Composición química y efecto antimicrobiano del *Minthotachys mollis* en Cartagena, Colombia” tuvo como objetivo determinar la concentración mínima inhibitoria. En cuanto a los materiales y métodos de microdilución en caldo donde se diluyeron los aceites para llegar a una concentración de 100- 50 $\mu\text{g/mL}$, se empleó el lector de microplacas para la cuantificación del crecimiento bacteriano. El rendimiento

fue de 0,6%. Se obtuvo el aceite esencial por hidrodestilación convencional, a partir de las hojas; se determinó densidad relativa a 20°C, índice de refracción; solubilidad de los aceites esenciales en etanol (70% v/v) y rotación óptica. La composición química se evaluó mediante cromatografía de gases/espectrómetro de masa. La actividad se realizó sobre tres bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922. En la cual los resultados de la prueba de concentración mínima inhibitoria en *S. aureus* es de 500ug/mL, *S. epidermidis* es de 600ug/mL, *E. coli* es de 500ug/mL; además, este aceite presentó un elevado contenido de monoterpenos oxigenados con reconocida actividad antibacteriana, como son el carvacrol y el timol. En conclusión mostraron que las bacterias fueron sensibles al aceite esencial de *Minthostachys mollis* y la especie vegetal evaluada es promisorio para el control del componente bacteriano.²¹

Aigaje A. (2016). Realizó el artículo: “Efectividad antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis* en Quito, Ecuador”. Su objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de la *Minthostachys mollis* (TIPO) un arbusto perenne de la Serranía Ecuatoriana, frente a la *Porphyromonas gingivalis* que es uno de los principales periodontopatógenos. En cuanto a los materiales y métodos es un estudio de tipo experimental, prospectivo, transversa, in vitro, se elaboró un aceite esencial utilizando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, obteniendo 10 ml luego del procedimiento, el mismo que fue diluido para obtener tres concentraciones al 25%, 50% y 100%, se utilizó Clorhexidina al 0,12%, Ampicilina de 10ug como control positivo y agua como control negativo, se realizó pruebas de hipótesis no paramétricas Kruskal Wallis y Mann Whitney. La cual los resultados de la efectividad antibacteriana en la concentración al 25% obtuvo un halo promedio de 11,2 mm, al 50% la efectividad alcanzó una media de 9,6 mm y al 100% logró un promedio de 13,6 mm siendo esta concentración la más efectiva. Los controles positivos estuvieron en un rango de muy sensibles y sumamente sensibles y el control negativo no obtuvo efectividad. Se concluyó tanto la clorhexidina al 0,12 y la

ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Tipo).²²

Joya M (2017). Realizó el artículo: “Extractos etanólicos de propóleos sobre el crecimiento in vitro de cepas del género *Cándida* en su actividad fungistática y fungicida en Carabobo, Venezuela”. Su objetivo fue determinar la actividad fungistática y fungicida de propóleos venezolano y de 3 regiones del mundo. En cuanto a los materiales y métodos se emplearon cepas del Complejo *C. albicans*, *C. guilliermondi*, *C. krusei* y *C. tropicalis* se enfrentaron a distintas concentraciones de extractos etanólicos de propóleos.). La cual los resultados fue que los propóleos de mayor actividad biológica fueron los de Alemania e Italia (10,2 mg/mL), seguidos por el de Venezuela (15,6 mg/mL) y España (18,8 mg/mL). La CMI en las especies más sensibles a los propóleos fueron *C. krusei* y *C. guilliermondii* (8,6 mg/mL como promedio de los 4 propóleos). Los extractos etanólico de propóleos italiano y alemán son fungicidas en todas las cepas estudiadas en diluciones de 1/32 (concentración final de 3,12 mg/mL). Se concluye que los extractos etanólico de los propóleos tienen efectos fungistáticos y fungicidas sobre las especies del Complejo *C. albicans*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* y *C. tropicalis*; que el *C. tropicalis* es la especie más resistente a la acción biológica de los propóleos y *C. krusei* y *C. guilliermondii* las más sensibles; los propóleos de Alemania e Italia son los más efectivos contra las especies de *Cándida* aisladas de pacientes venezolanas.²³

Ahangari Z. (2018). Realizó el artículo: “Propóleo: composición química y sus aplicaciones en endodoncia en Tehran, Irán”. Su objetivo fue revisar la composición química del propóleo y su aplicación en endodoncia. En cuanto a los materiales y métodos para este propósito, se buscaron palabras clave en las bases de datos ScienceDirect, PubMed y World of Chemicals para encontrar artículos publicados desde 1988 hasta febrero de 2018. La cual los resultados hay muchos compuestos diferentes en los propóleos de diferentes regiones geográficas; Los flavonoides son uno de los agentes más importantes que tienen efectos antiinflamatorios, antivirales, antialérgicos, anticancerosos, antibacterianos y antioxidantes. De acuerdo con las propiedades mencionadas, el propóleo se puede utilizar como solución de irrigación del canal y como

medicamento intracanal en tratamientos endodónticos. Los estudios han demostrado que el propóleo como medio de almacenamiento es capaz de mantener la vitalidad de las células de los ligamentos periodontales y también tiene la capacidad de inhibir la actividad osteoclástica debido a uno de los compuestos activos presentes en él. En la terapia de la pulpa vital, el propóleo puede inducir la producción de dentina tubular y también disminuir la inflamación de la pulpa. Se concluyó que fue teniendo en cuenta los componentes del propóleo como resina, polen, vitaminas, flavonoides y fenoles; puede utilizarse para diversos fines en endodoncia y tendría un papel prometedor en la medicina futura, así como en odontología.²⁴

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Medicación intraconducto natural

El Perú presenta en su territorio una riqueza de biodiversidad de plantas medicinales siendo una alternativa en la medicación de la población desde la época Incaica, siendo utilizada como terapia en cuidado de la salud.²⁵

Hay estudios que han demostrado la efectividad bacteriana de estas plantas con propiedades curativas que desempeña en la población.²⁵

2.2.1.1 Plantas medicinales

Según la OMS el derivado de estas plantas o preparado contiene ingredientes crudos o procesados con excelentes efectos terapéuticos. Botánicamente estas plantas carecen de tejidos leñosos, caracterizado por su olor o sabor utilizada con fines medicinales debido a la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante y biocompatible.²⁶

2.2.1.2 El propóleo

Es un compuesto de diferentes partículas de resina cérica viscosa recolectado de diferentes vegetales y arboles por las abejas con fin de construir, reparar y dar protección a sus colmenas.²⁷

Presenta propiedades importantes para el campo de salud como antimicrobiano, antimicótico, cicatrizante, antioxidante, antiinflamatoria, antiviral.²⁷

Sus componentes químicos están compuestos por fenoles, ésteres, flavonoides y terpenos.²⁷

Presenta efectos similares que el Hidróxido de calcio demostrando efecto antibacteriano en infecciones similares y también en regeneración pulpar durante la terapia endodóntica .²⁷

• **Composición Química**

La composición va a depender del sitio donde se encuentre la colmena fabricado por las abejas, sus principales componentes son resinas y bálsamos (55%), cera (30%), aceites volátiles (10%), polen (5%), minerales y sustancias orgánicas (5%). También se ha detectado diferentes ácidos (orgánicos, fenólicos, aldehídos aromáticos), compuestos fenólicos como flavonoides, minerales, y vitaminas.²⁸

- Resinas y bálsamos obtenidas de árboles (ramas o troncos), las abejas recogen las resinas de la plantas en la colmena, utilizando como sellador, pulidor o desinfectante y momificador de los insectos muertos en sus colmenas.²⁸
- Cera: Contiene ésteres, ácidos, alcoholes altos en grasa e hidrocarburos libres. Sustancia estable y altamente resistente a la humedad, no resiste al calor y presiones mecánicas.²⁸
- Polen de flores: Recolectado por las abejas, es rico en su valor alimenticio , aminoácidos esenciales, vitaminas, sales minerales y hormonas.²⁸
- Fenoles : Sus compuestos son flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos, cumarinas responsables de propiedades antiséptica,antioxidantes, anticancerígenas, antimutagénicas y antiinflamatorias.²⁸
- Minerales: Compuesto por el calcio, magnesio, aluminio, carbono, hierro, manganeso, níquel y zinc.²⁸

- Carbohidratos: El néctar y la miel son fuentes de glucosa, fructuosa y sacarosa.²⁸
- Vitaminas: E, C, B1, B2, B6, el retinol, tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina encontrados en el propóleo. La vitamina B1 y B2 es fuente del polen de la flor.²⁸

• **Actividad Antimicrobiana**

Investigaciones experimentales in vitro ha demostrado el extracto etanólico del *Apis mellífera* (propóleo) reacciona eficazmente a las bacterias anaerobias facultativas. Un estudio sobre la actividad antibacteriana del propóleo en sitios de Corea encontraron una alta presencia de bacterias como el *Stretococcus aureus*, *subtilis*, *typhimurium* y *Candida Albicans*. Otras investigaciones refieren la disminución in vitro de la presencia de estas bacterias debido al contenido de compuestos fenólicos principalmente los flavonoides.²⁸

• **Mecanismo de Acción**

Hoy en día son pocos los estudios enfocándose en los mecanismos que puede presentar el propóleo al momento de inhibir a ciertos patógenos; sin embargo algunos de los componentes encontrados en los propóleos, como ácidos aromáticos y ésteres, compuestos cinámicos y flavónicos, alteran las membranas celulares, inhiben la ARN polimerasa y reducen la motilidad bacteriana.²⁸

Según Mirzoeva (1997), encontró algunos componentes en el propóleo, los flavonoides principalmente la galangina y pinocembrina va actuar indirectamente en el mecanismo de inmunidad celular provocando un incremento en la permeabilidad y una reducción en el potencial de la membrana bacteriana, lo que contribuye a disminuir la resistencia de las bacterias a agentes antibacterianos.²⁸

Reportes indican que la galangina provoca la disminución del potasio en el *S.aureus* así causando la degeneración de la membrana citoplasmática de las bacterias por lisis osmótica, probándose una efectividad antibacteriana.²⁸

La pinocembrina causa bacteriólisis provocando la alteración del citoplasma, la pared celular, inhibición de síntesis de proteínas y ARN polimerasa.²⁸

2.2.1.3 Muña

Minthostachys mollis conocida como muña es usada tradicionalmente para dolencia de vías respiratorias y digestivas, malestares estomacales, sedante, hemostáticos, vómitos, náusea, fracturas. Crece en abundancia en diferentes zonas de la sierra peruana lugares cercanos a acequias, manantiales a las alturas de unos 2500 – 3500 msnm.²⁹

Denominada una planta herbácea vegetal que en temporada de invierno elimina sus hojas para brotar nuevas hojas en los primeros días de la primavera; presenta buena acumulación de humedad y Nivel de PH entre 5 a 8.²⁹

Existen estudios demostrando su gran efecto antibacteriano y efecto en la eliminación de plagas herbáceas. Otros estudios han analizado que existen metabolitos presentes en el aceite esencial.²⁹

- **Composición química**

Entre sus componentes encontramos:³⁰

- Pulegona: Componente más importante, el uso en altas dosis daña el hígado y puede provocar partos prematuros, este actúa contra plagas y parásitos, también usada en perfumerías y saborizantes.³⁰
- Mentona: Junto con la pulegona representa más del 75% del aceite esencial, presenta propiedades digestivas.³⁰
- Carvacrol: Porcentajes en menor proporción, encontrada también en el orégano, tomillo.³⁰
- Timol: Es antiséptico y alivia el dolor, sustancia conocida en distintas especies presente en aceites esenciales.³⁰

Componentes principales del aceite esencial de la *Minthostachys mollis*:

N° Pico	Compuestos	Cantidad relativa
1	P-cimoneno	15.42
2	Y-terpineno	16.58
3	Linalool	17.61
4	Acetato de octan-3-ilo	18.31
5	Mentona	19.2
6	Isomentona	19.46
7	Mentol	19.69
8	Pulegona	21.61
9	Trans-pulegol	21.91
10	Acetato de mentilo	22.86
11	Timol	22.97
12	Carvacrol	23.26
13	Acetato de timilo	24.62
14	Oxido de piperitenona	24.86
15	Elemeno	24.95
16	Acetato de carvacrilo	25.16
17	Acetato de geranilo	25.48
18	α -humuleno	28.06

Fuente: (Kalemba y Kunicka, 2003).³¹

• Actividad Antimicrobiana

Desde la época de la sociedad incaica, los llamados galenos amautas usaban el método de la medicina con plantas naturales con beneficios curativos y alimenticios, existiendo varias aplicaciones como infusiones para el alivio de dolores estomacales, flatulencias, vómitos, diarreas, fracturas.³²

En casos de mal de altura conocido como el soroche ayudando a disminuir los mareos, ayuda en problemas respiratorios, dolores de cabeza y halitosis.³²

Asimismo combate la eliminación de parásitos estomacales. También se usa como saborizante y aromatizante para la preparación de bebidas y licores.³²

La población indígena en tierras del Perú empleaba las hojas de muña con el fin de curar tumores, fracturas, luxaciones ocasionadas por golpe. Hoy en día los famosos hueseros utilizan estos métodos naturales logrando recuperación y el mejoramiento con el aceite esencial de muña con frotaciones en las lesiones del cuerpo del ser humano.³²

Durante milenios han aplicado su gran efecto bactericida, acción de repelente y antimoho para conservar su cosecha de papas contra las plagas y los gusanos de tierra que terminaba por malograr a los tubérculos, hojas.³²

- **Mecanismo de acción**

Existen observaciones microscópicas demostrando la eliminación de la membrana celular de las bacterias sensibles a su efecto antibacteriano del aceite esencial de muña.³³

Los componentes de los aceite esenciales (timol y carvacrol) son compuestos fenólicos que presenta propiedades antibacterianas contra los microorganismos provocando el desorden de la membrana citoplasmática rompiendo la fuerza motriz del protón, el bajo Ph de estas moléculas, su naturaleza hidrofóbicas de las proteínas y su bicapa lipídica de la membrana citoplasmática bacteriana es la causa de la pérdida de su integridad y la salida del material celular tal como iones, ATP, ácidos nucleicos.³³

2.2.2 Microorganismos Prevalentes en lesión periradicular

Existen más de 900 especies microbianas en la cavidad oral y 400 especies en el sistema de conductos radiculares, demostrando un aumento progresivo de microorganismos anaerobios. Analizada la cepa en infecciones persistentes o secundarias fue encontrado con mayor predominio la especie de *Enterococcus faecalis*.³⁴

2.2.2.1 Enterococcus faecalis

Especie bacteriana comúnmente aislada en los fracasos endodónticos con imagen periapical. A esta cepa se le clasificó como cocos gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil y catalasa negativo.³⁵

Su hábitat es en el aparato gastrointestinal colonizando el sistema digestivo formando parte de la flora aerobia y aparato genitourinario donde destacan las infecciones urinarias e infecciones de heridas abdominales. A mediados de los años 80 fue introducida su taxonomía.³⁵

Tiene como una característica importante crecer y sobrevivir en ambientes que pudieran ser muy tóxicos para muchas bacterias en particular con altas concentraciones de sales y temperaturas extremas 15-60°. Su tamaño es de aproximadamente 0.5 a 0.8 um y su adecuada temperatura de crecimiento es a partir de 35°.³⁵

• Taxonomía y características generales de Enterococcus faecalis

Investigaciones mencionan que el Enterococcus faecalis pertenece al grupo de la especie Streptococcus debido a sus semejanzas, una de sus características diferenciales del Enterococcus faecalis es la capacidad de aumentar a 45° C aun así se haya utilizado Hipoclorito de sodio al 6.5% o bilis al 40%, así como un Ph de 9.³⁵

El Enterococcus Faecalis es resistente a numerosos antibióticos como penicilinas, cefalosporinas.³⁵

• Factores de Patogenicidad

El Enterococcus Faecalis es encontrado en fracasos de terapias pulpares, presentes en infecciones persistentes sin presencia de sintomatología en comparación de casos con sintomatología; esta bacteria presenta resistencia a sustancias irrigadoras.³⁶

Autores como Pinheiro, colaboradores, Siqueira y Rocas (2004) investigaron la identificación de microorganismos existentes en los canales de tratamiento endodóntico fallidos, Enterococcus Faecalis fue la especie más aislada a un 77%.³⁶

Hay estudios donde demuestran que también se encuentran en infecciones endodónticas primarias. Ferrari, y Bombana Cai, investigaron la presencia de microorganismos: el género Enterococcus, Enterobacterias y levaduras en infecciones endodónticas primarias. Entre los diversos microorganismos encontrados, Enterococcus Faecalis estuvo presente en todas las etapas de evaluación que demuestra su resistencia a la preparación de la raíz e irrigación.³⁶

Love evaluó la capacidad de crecimiento y penetración intratubular de tres microorganismos: Streptococcus gordonii, Streptococcus mutans y E. faecalis. Evaluando la penetración tubular de estas cepas utilizando dientes uniradiculares realizando cortes longitudinales, se insertaron suero humano y colágeno, considerando a 3 microorganismos. Inhibiendo la penetración del S. mutans y S. Gordonii, pero si hubo penetración del Enterococcus faecalis.³⁶

Evans y colaboradores, encontraron que el mecanismo de la bomba de protones que se encuentran en la membrana citoplasmática de Enterococcus Faecalis sería la razón de su resistencia a los cambios en el pH.³⁶

Esta bacteria tolera bien Ph cercanos a 12, lo que lo hace altamente resistente a la utilización de medicamentos intraconducto con hidróxido de calcio, sin embargo Evan y cols han determinado la barrera de tolerancia en 11.1 hallando que un Ph de 11,5 no sobrevivirá el Enterococcus faecalis.³⁶

Su capacidad de sobrevivir y competir con otras bacterias en el sistema de defensa del hospedero abarca importantes factores de virulencia de esta cepa bacteriana. Sus factores de Patogenicidad son: sexo feromonas, ácido lipoteico, producción de superóxido extracelular, gelatinasa, hialuronidasa y citolisina (hemolisina).³⁶

• **Enterococcus faecalis y su relación con el tratamiento de conductos**

El Enterococcus faecalis está presente en infecciones de conductos radiculares donde las piezas dentarias ya obturadas muestran patología periapicales crónicas, persistentes o secundarias asociado a terapias endodónticas con mal pronóstico.³⁶

Tiene la capacidad de ingresar e impregnarse al colágeno de los túbulos dentinarios, la cual puede ser una de las respuestas del porque estas microorganismos del *Enterococcus faecalis* actúan invasivamente como patógeno en tratamientos con endodoncia causando el fracaso de este procedimiento.³⁶

El *Enterococcus faecalis* es más prevalente en periodontitis apicales asintomáticas que no demuestra situaciones sintomáticas y a su vez más frecuente en infecciones secundarias o persistentes que en las infecciones primarias de origen endodóntico.³⁶

2.2.3. Etiología de las infecciones

Las cepas bacterianas ingresan a los tejidos de los conductos radiculares adheriéndose a un sustrato logrando multiplicarse e instalarse en el huésped causando la infección de la pieza dentaria.³⁷

La presencia de una bacteria debe cumplir lo siguiente:

- Expresión de los factores de virulencia.
- Localización espacial del microorganismo en el conducto radicular para que sus factores de virulencia accedan a los tejidos del periápice.
- Ambiente a su favor para la respectiva existencia y expresión de los genes de virulencia de las bacterias.

2.2.4. Tipos de infección endodóntica

Existen diferentes tipos de infección en el conducto radicular las cuales pueden ser primarias, secundarias y persistentes según diferentes situaciones clínicas.³⁸

Particularmente estos patógenos se inicia con su ingreso a través de la presencia de lesiones cariosas o restauraciones en mal estado hacia los conductos radiculares.³⁸

Se han empleado nuevas técnicas moleculares como el PCR (Prueba Proteína C reactiva) e hibridación de ADN para la identificación de nuevos patógenos detectándolo en diferentes etapas de infecciones endodónticas; demostrando entre 10 y 30 diferentes especies bacterianas en los conductos radiculares.³⁸

La estructura bacteriológica debe ser el origen para diferenciar estas situaciones clínicas comenzando por una infección del conducto que va a ser la etiología de la enfermedad periradicular ya sea aguda o crónica, donde si esta sintomatología ya es persistente y presenta exudado conllevará al fracaso endodóntico.³⁸

Las infecciones endodónticas se clasifican según su localización anatómica en intraradiculares (primaria, secundaria o persistente), extraradiculares.³⁸

2.2.4.1 Infección primaria del conducto radicular

A través de las técnicas moleculares de PCR (Prueba Proteína C reactiva) se ha identificado mayor predominio de bacterias anaerobias estrictas gramnegativas (Porphyromonas Prevotella Mitsuoella Fusobacterium Selenomonas); grampositivos (Eubacterium); Espiroquetas (Treponema).³⁹

Cuando el esmalte y el cemento se encuentran en buen estado, va existir protección de invasión microbiana hacia la pulpa; si se pierde esta protección ya sea por caries, grietas, trauma, enfermedad periodontal o restauración inadecuada pues estos patógenos ingresarán penetrando los túbulos dentinarios invadiendo los conductos radiculares, causando un proceso infeccioso.³⁹

Los productos tóxicos de origen bacteriano se diseminan por el líquido dentinario y alcanzan la pulpa antes que los propios microorganismos. La composición y cantidad de estos microorganismos va a depender por sus determinantes ecológicos como sus necesidades nutritivas, interacciones metabólicas y el factor oxidación-reducción; la principal fuente energética nutritiva de las bacterias son los fluidos hísticos, residuos de descomposición pulpar y plasma.³⁹

En conductos necrosados se aíslan un promedio de 6 especies bacterianas mientras que en una infección aguda se presenta de 12 a 15 especies bacterianas, se estima que se puede encontrar entre 10^2 y 10^8 bacterias por miligramos en el conducto radicular.³⁹

Bacilos gramnegativos	Porphyromonas	P. gingivalis
	Prevotella	P. endodontalis
		P. oris
		P. buccae
		P. intermedia
		P. melaminogenica
		P. nigrescans
	Mitsuakella	M. dentalis
Fusobacterium	F. nucleatum	
Selemonas	S. sputigena	
Bacilos grampositivos	Eubacterium	E. lentum
Cocos gramnegativos	Peptostreptococcus	P. micros

Fuente: Figdor D, Sundqvist G. A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora. Aust Dent J. 2007;52

2.2.4.2 Infección secundaria o persistente del conducto radicular

Según investigaciones se ha determinado que las infecciones persistentes en los conductos intraradicales son una posible causa a un fracaso de la terapia endodóntica; la especie más frecuentemente aislada fue *E. faecalis* (64%), seguido de *Streptococcus* spp. (21%) y *T. forsythia* (14%).⁴⁰

Una de las principales causas del fracaso endodóntico es la persistencia, multiplicación y migración de bacterias desde el interior de los conductos hasta los tejidos periapicales. La incompleta desinfección químico-mecánica de los conductos mantiene una capa residual infectada que potencia la capacidad de los microorganismos en progresar hacia el interior de los túbulos dentinarios actuando como reservorio.⁴⁰

Un fracaso en la terapia pulpar se identifica con problemas clínicos como el exudado, exacerbaciones y observación de lesión apical en la radiografía, habitualmente habiendo presentado problemas durante la instrumentación, pues los conductos con una mala técnica de obturación contienen mayor cantidad de bacterias presentes en los conducto a comparación aquellos con buena instrumentación y buena técnica de obturación.⁴⁰

En un estudio de Siqueira y cols. sobre dientes con endodoncias fracasadas, encontraron que cuando el término de la obturación estaba a 2 mm o menos

del ápice, el número de especies era significativamente menor que cuando ésta se encontraba a más de 2 mm del ápice.⁴⁰

Sin embargo hay bacterias que no se eliminan, logrando persistir ante una buena técnica de instrumentación y desinfección, llamadas infecciones persistentes.⁴⁰

Infección secundaria	Grampositivas facultativas	Enterococcus faecalis, candida albicans, Actinomyces spp Gamella
		Morbillorum, Pseudoramibacter micra
	Anaerobias	Peptostreptor alactolyticas, streptococcus mitis, Fusobacterium nucleatum, Candida albicans

Fuente: Ricucci D, Siqueira JF. Recurrent apical periodontitis and late endodontic treatment failure related to coronal leakage: A case report. J Endod. 2011;37(8):1171–5.

2.2.4.3 Infección extraradicular

El avance progresivo de una infección periradicular produce el aumento y su acceso de microorganismos a los tejidos periradiculares superando la barrera defensiva y causando una infección extraradicular.⁴⁰

La presencia de supuración, abscesos, fistulas y amplia destrucción ósea periradicular puede indicar presencia de bacterias Actinomyces y Propionibacterium propias de una infección extraradicular.⁴⁰

Cuando la fístula cierre al realizar el tratamiento endodóntico indica la presencia de una infección intraradicular favorecida por una infección extraradicular.⁴⁰

Los microorganismos que residen en los tejidos periradiculares pueden adherirse a la superficie externa de la raíz en forma de biofilms o formar colonias dentro de la lesión inflamatoria.⁴⁰

2.2.5. Instrumentación

La utilización de instrumentos rotatorios son más utilizados con mayor frecuencia en conductos curvos para la conformación del conducto radicular, sin embargo existe investigación en la instrumentación manual demostrando mejores resultados de desinfección. La conformación de material Ni-Ti de la lima presenta una mejor instrumentación siguiendo la conformación del conducto radicular.⁴¹

Según en su investigación de Tan y Messer demuestran la efectividad de desinfección en 3 mm apicales con instrumentos rotatorios sin embargo ninguna fue al 100% efectiva.⁴²

Según Peters y cols. Demostraron que tanto la utilización de instrumentos rotatorios y manuales dejan más 35% de superficie dentaria infectada sin eliminarla, demostrando la limitada capacidad de estos instrumentos para limpiar el conducto dando énfasis en la importancia de irrigación y medicación intraconducto para el éxito endodóntico.⁴²

Según Seltzer y cols. Si no se utiliza irrigante durante la instrumentación, queda aproximadamente el 70% de barro dentinario.⁴²

Investigaciones indican que el diámetro apical normal es de 300 a 350 micras, cuando presenta cambios como periodontitis apical este diámetro aumenta. Siendo así la preparación mínima sería con una lima calibre ISO 30 a 35.⁵²

Estudios demuestran que mientras mayor calibre de lima utilizada va a presentar menor presencia de bacterias en la región radicular ya que va existir mayor acceso del irrigante para la eliminación de barro dentinario y la eliminación de bacteria penetradas en la dentina.⁴²

2.2.6 Clasificación técnica de preparación manual:

En el área de endodoncia se utiliza con mayor frecuencia dos técnicas manuales clasificadas en la Técnica Ápico Coronal y Técnica Corono Apical consistiendo en la preparación biomecánica manual de los conductos radiculares.⁴³

2.2.6.1 Técnica Ápico coronal (Step Back)

Mullaney en 1968 propuso la técnica Ápico coronal también llamada Técnica Escalonada, retrograda, piramidal, telescópica. Técnica utilizada en la conformación radicular de conductos curvos, también pudiendo ser utilizada en conductos rectos.⁴³

La conformación va a medida de menor a mayor diámetro del calibre del instrumento, manteniendo la conicidad y forma del conducto apical natural de la pieza dentaria.⁴³

La conformación se divide en dos momentos: La primera en la conformación apical con la lima de menor diámetro teniendo como objetivo generar el el stop apical; segundo es conformar la conicidad del tercio medio y cervical del conducto radicular.⁴³

Siendo las técnicas más utilizadas se recomienda la utilización de Lima K con sección triangular en conductos curvos.⁴³

2.2.6.2 Técnica Corono apical (Crow Down)

Publicada por Morgan y Montgomery en 1983, la técnica Corono Apical o también llamada técnica Crow Dow.⁴³

Esta técnica se inicia con el acceso de un instrumento de mayor calibre ISO 35 sin realizar presión hacia apical hasta encontrar resistencia, una vez se logra mejor ingreso en el conducto se procede a la utilización de una lima de menos calibre ISO 30 en sentido horario, es importante la realización del barrido dentinario.⁴³

Así sigue la lima de menor calibre para llegar al ápice del conducto radicular consiguiendo la constricción apical, se procede con la toma de radiografía control para establecer la longitud de trabajo. Se determinara la longitud de trabajo verdadera con una Lima ISO 10, luego se repite la secuencia de mayor calibre ISO 40 hasta ISO 15.⁴³

2.2.7 CMI (Concentración mínima inhibitoria):

Tiene la capacidad de determinar de forma precisa la concentración necesaria de sustancia necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano.⁴⁴

Para realizar la prueba de concentración mínima inhibitoria de una sustancia frente a una cepa bacteriana se prepara una serie de tubos con caldo de cultivo bacteriano con diluciones seriadas de la sustancia a ensayar. Para ello se toma 9 tubos para cada bacteria y sustancia a ensayar y se marca cada uno con la concentración final que va oscilar cada uno entre 0,5 y 64 µg/ml. De esta manera se le marcara como cero a un tubo, ya que este no contendrá la sustancia antibacteriana a ensayar.⁴⁴

Interpretación: Luego de dejar en incubación los tubos inoculados con las cepas bacterianas por 24 horas, se procede a la observar si presenta o no turbidez considerando si hay crecimiento bacteriano en todos aquellos tubos. En los tubos controles positivos se debe observar turbidez por la presencia de bacterias y en aquellas que no se aprecie turbidez significa que no hubo crecimiento bacteriano. La CMI de una sustancia antibacteriana frente a cepas bacterianas será el tubo mas diluido donde no se observe crecimiento bacteriano.⁴⁴

Categoría de interpretación: basada a la respuesta in vitro de un microorganismo a un antibiótico.⁴⁴

- **SENSIBLE:** Implica a un infección dada por la cepa de estudio puede ser tratada con la dosis de antibiótico, interpretado a ≤ 4 µg/ml.⁴⁴
- **INTERMEDIO:** Cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones de antibiótico más elevadas, siempre que se pueda aumentar la dosis, . interpretado a 8-16 µg/ml.⁴⁴
- **RESISTENTE:** Las cepas resistentes no son inhibidas por las concentraciones séricas normalmente alcanzadas a dosis habituales y caen en el rango donde son comunes los mecanismos de resistencia microbiana y la eficacia clínica no ha sido comprobada. Interpretado a ≥ 32 µg/ml.⁴⁴

2.3. Definición de términos básicos

- **Efecto antibacteriano:** Reacción para detener o eliminar el crecimiento bacteriano. Provocando alteraciones en la membrana citoplasmática y pared celular disminuyendo el aumento o destrucción de estas cepas bacterianas.⁴⁵
- **Bactericida:** Sustancia capaz de atacar la pared celular de la bacteria provocando la eliminación total del microorganismo.⁴⁶
- **Bacteriostático:** Sustancia capaz de inhibir la replicación ó crecimiento bacteriano.⁴⁶
- **Extracto etanólico:** Extracto obtenido a partir por materia prima natural de origen vegetal en proceso de desecación, maceración o percolación con etanol, sometido por la eliminación del solvente etanol mejorando la calidad del producto deseado.⁴⁷
- **Aceites esenciales:** Es la combinación de sustancias volátiles y aromáticas de plantas naturales, siendo su metabolismo de las células vegetales.³⁶
Son químicamente una mezcla compleja y variable llamados terpenos y alcanfores.⁴⁸
- **Medio de cultivo:** Lugar donde se inocula o siembra el microorganismo para observar su crecimiento.⁴⁸
- **Cepa bacteriana:** Organismos descendientes de un cultivo puro, con fenotipo y genotipo definido.⁴⁹
- **Anaerobios facultativos:** Proceso donde las cepas aumentan ya sea en presencia de oxígeno mediante procesos oxidativos y también sin la presencia de oxígeno utilizando medios de fermentación.⁵⁰
- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):** Es aquella evaluación de la susceptibilidad bacteriana en mínimas concentraciones (ug/ml).⁵¹
- **Turbidez óptica:** Propiedad óptica de una sustancia que hace que la luz se disperse y no se transmita a través de la suspensión.⁵²
- **Unidad formadora de colonia:** Es el número mínimo de células dando lugar a la proliferación de una colonia bacteriana.⁵³
- **Escala de Mc. Farland:** Es aquella escala utilizada para pruebas de susceptibilidad de la cepa bacteriana.⁵³

CAPITULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Formulación de hipótesis principal y derivadas

3.1.1. Hipótesis principal:

- El extracto etanólico de *Ápis mellifera* (propóleo) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

3.1.2. Hipótesis específicas:

- El extracto etanólico de *Ápis mellifera* (propóleo) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.
- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.
- La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis mellifera* (propóleo) es a partir de 340 ug/ml sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.
- La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) es a partir de 450 ug/ml sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.

VARIABLES

VARIABLE		DIMENSIÓN	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALOR
Dependiente	Efecto antibacteriano del extracto etanólico <i>Ápis mellífera</i> (propóleo) y del aceite esencial <i>Minthostachys mollis</i> (muña)	Efecto antibacteriano in vitro	UFC (Método directo Conteo en placas)	Cuantitativo	Razón	MUY BAJO (0 UFC) BAJO (< 103 UFC/ml) MODERADO (103-105 UFC/ml) MODERADAMENTE ALTO (105-108 UFC/ml) ALTO (>108 UFC/ml)
Independiente	Crecimiento bacteriano de la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	Crecimiento bacteriano	Crecimiento bacteriano in vitro	Cualitativo	Nominal	SI NO

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Diseño metodológico

4.1.1 Enfoque: Cuantitativo

4.1.2 Nivel: Experimental

4.1.3 Tipo de diseño

- **Experimental in vitro:** Según Hernández Sampieri Roberto, se tiene como objetivo descubrir el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera y aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de la cepa *Enterococcus faecalis* en condiciones puras o no contaminadas y se manejó la gran parte en el Laboratorio Central.⁵⁴
- **Transversal:** Según Hernández Sampieri Roberto, se recolecta los datos en un solo momento, con el propósito de describir la variable del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a los 7 días, con el fin de indagar e interrelacionar en un momento dado.⁵⁴
- **Prospectivo:** Según Hernández Sampieri Roberto, se recolecta los datos a medida que se va avanzando y observando si existe o no efecto entre las dos plantas naturales, el extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).⁵⁴
- **Correlativo:** Según Hernández Sampieri Roberto, se describe las relaciones entre dos o más variables en un momento determinado, comparando el grado de eficacia entre dos plantas naturales, el extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).⁵⁴

4.1.2 Nivel de la investigación

Basados en el propósito de la presente investigación, a la naturaleza de los problemas que mencionamos y a los objetivos formulados, realizando un trabajo experimental in vitro.

4.2. Diseño muestral

4.2.1. Población

Piezas dentarias con preparación biomecánica manual expuestas a cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

4.2.2 Muestra

- Estimación de muestras aplicado la fórmula de comparación de medias.
- N= 40 Piezas dentarias

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

N = elementos necesarios en cada una de las muestras

Z_{α} = Valor Z correspondientes al riesgo deseado, se considero un riesgo de 0.05 con un valor z correspondiente a 1,96

Z_{β} = Valor Z correspondiente al poder deseado asociado al riesgo escogido, se considero una potencia de 0.99 con un valor z correspondiente a 2,326

S^2 = Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control o de referencia

D = Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar

No se tiene información previa por lo que se considera S^2/d^2 igual a 1

Reemplazando se obtiene

$$N = 2 (1,96 * 2,326)$$

$$N = 2 (4.55) = 9.1$$

$$N = 9.1$$

Siendo el tamaño mínimo de cada grupo de 10 elementos

4.2.3 Criterios de inclusión

- Dientes premolares superiores e inferiores extraídos por prescripción ortodóncica y periodontal.
- Cierre de los ápices radiculares.
- Ausencia de fisuras o fracturas de los ápices radiculares.

4.2.4 Criterios de exclusión

- Dientes birradiculares o multirradiculares.
- Dientes fracturados.
- Conducto radicular dilacerado.
- Conductos calcificados

4.3. Técnicas e instrumentos de la recolección de datos

4.3.1. Técnicas

- La recolección de propóleo fue en la provincia de Oxapampa- Pasco.
- Se realizó la preparación biomecánica de los dientes uniradiculares.
- Se realizó la reactivación de la cepa bacteriana.
- Se preparó los medios de cultivo
- Prueba de Concentración mínima inhibitoria y el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) .

4.3.2. Instrumentos

- Para efectos de la investigación, se elaboró una ficha de recolección de datos empleado para el análisis de este trabajo.

a. Materiales de Laboratorio para extraer el extracto etanólico

- Propóleo
- Alcohol al 96°
- Vaso precipitado
- Papel Whatman n°40

- Varilla

b. Material y equipos para la preparación de los medios de cultivo

- Balanza

- Agua destilada

- Probetas

- Pipetas

- Vasos de precipitado

- Placas Petri

- Tubos de ensayo

- Agar Muller Hinton

- Asas de siembra

- Alcohol

- Algodón

- Mechero

- Encendedor

- Espátula de Drigalsky

c. Materiales para la concentración mínima inhibitoria

- Puntas para micropipetas

- Micropipetas

- Cepa bacteriana

- BHI

- Extracto etanólico de propóleo

- Aceite esencial de muña

- Agua destilada

-Tubos de ensayo

- Mecheros

- Encendedor

d. Material digital

- Cámara

-Lap top

-Impresora

e. Infraestructura

- Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas - Lima.

4.4. Técnicas de procesamiento de la información

4.4.1 Obtención de la cepa: En este estudio se utilizó la cepa *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), el cual se obtuvo liofilizado del Kwikstik de laboratorios Microbiologics , Laboratorio Genlab de los Estados Unidos de América con sede en Lima - Perú.

4.4.2 Activación de la cepa: El dispositivo Kwikstick se realiza la hidratación de la cepa donde en la parte superior del hisopo de inoculación presenta una ampolla donde se encuentra el fluido de hidratación, se aprieta con la yemas de los dedos para así el fluido se junte con la cepa que se encuentra en la parte inferior. Una vez homogenizado se siembra en forma de estriado en las placa con agar sangre para el crecimiento de la cepa a una temperatura de 37° por 72 horas.⁵⁵

4.4.3 Obtención del Ápis mellífera (propóleo):

• **Recolección:** El Propolis de Ápis mellífera “Propóleo” se recolectó en el fundo de Yanachaga en la provincia de Oxapampa- Pasco. Se recolectó de las cantoneras para colmenas (cajas donde se haya preparado y acondicionado adecuadamente para la crianza de abejas); mediante la técnica de recolección de raspado con una espátula y con la ayuda de un apicultor con experiencia en la recolección del propóleo. Se recolectó 300 gramos.⁵⁵

- **Selección:** Se pasó a realizar la separación de contenidos externos del propóleo como restos de madera, hojas, partes e las abejas como trozos de alas, patas, aguijones que puede ocasionar cambios en sus propiedades.⁵³

- **Identificación:**

El propóleo seleccionado se identificó visualmente de acuerdo a sus caracteres organolépticos para así asegurar su nivel de calidad y pureza contenida. Ya que su diversidad y variedad de la flora en Oxapampa viene a ser un color más oscuro, sabor muy fuerte y marcado pues debido a la cantidad y variedad del recurso arbóreo y bosque natural nativo que presenta. Este se colocó en un frasco de vidrio para evitar la contaminación y llevarlo hacia el Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas.⁵⁵

4.4.4 Preparación del extracto etanólico de propóleo: El propóleo fue cortados en trozos muy pequeños y posteriormente se molieron 300 mg de propóleo pulverizados con un mortero y pilón, y disuelto en 300ml de alcohol al 96% vertiendo la mezcla en un frasco para su respectiva incubación a 37° por una semana. Luego de su incubación la mezcla sobrenadante se filtró varias veces por papel whatman n°4 y se obtuvo la solución etanólica del propóleo. La mezcla filtrada se concentró a 40° durante 2 semanas esperando la volatización del alcohol.⁵⁵

4.4.5. Obtención del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña):

La muestra obtenida fue de la empresa Essential Oils Perú donde se adjunta el certificado de pureza al 100% del aceite esencial de muña (ANEXO).

4.4.6. Método de recolección y cultivo de muestra en el conducto

a) Procedimiento:

- Selección de las piezas dentaria uniradiculares con característica de presencia de caries, discromía dental, ápices cerrados, conductos rectos no atrésicos. Se desinfectó colocándolo en hipoclorito de sodio 2.5% y agua en proporción 1:1 y luego para conservarlo se dejó en suero fisiológico para así evitar su deshidratación.¹⁹

- Luego se desinfectó la corona clínica con etanol al 70°, se procede a la apertura cameral por la zona oclusal con una fresa redonda diamantada.¹⁹
- Luego se empieza con la limpieza de la cámara pulpar y el tercio cervical con soluciones irrigadoras de hipoclorito de sodio al 2.5% e ingresando con una lima K # 15 agitándolo para disolver materia orgánica y retirar el líquido con los dentritus. Se procede a ingresar hasta el tercio apical y tomar una radiografía para establecer la longitud real del diente.⁵⁶
- Luego de su preparación previa del tercio cervical; se ingresa la fresa Gates # 1 en sentido de ingreso y salida solo 2 mm, luego se ingresa con el # 2 realizando el mismo procedimiento.⁵⁶
- Se procede a la limpieza en sentido corono-apical con instrumentos de calibre progresivo de mayor a menor; se ingresa con una lima K # 40 hasta su ajuste de las paredes dentinarias con movimientos de introducción, rotación y retiro de la lima; con irrigación constante con hipoclorito de sodio.⁵⁶
- Se repite lo mismo con la lima #35,#30,#25 alcanzando la longitud real del diente instrumentando e irrigando el conducto.⁵⁶
- Sigue la conformación del conducto con la lima tipo K # 30,#35,#40 con 1 mm menos para realizar su longitud de trabajo, estableciendo así el ajuste de la lima maestra.⁵⁶
- Para terminar la preparación del conducto con una lima #45,# 50,# 55 con 1mm, 2mm,3mm menos respectivamente según la longitud de trabajo.⁵⁶
- Se sellaron los ápices radiculares con resina compuesta autocurable para evitar la microfiltración bacteriana.¹⁹
- Se irrigó con EDTA AL 17% durante 4 minutos con el fin de eliminar la capa de frotis, seguido de hipoclorito de sodio (NaClO) al 5% durante otros 4 minutos. Luego se enjuagaron los dientes con 10 ml de solución salina fisiológica y se autoclavaron dos veces a 121°C durante 30 minutos.¹⁹
- Después se sumergieron en medio de cultivo BHI con los especímenes *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ajustado espectrofotométricamente

a un estándar de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ bacterias/ml). Luego estas muestras se mantuvieron en una incubadora a 37° C durante 21 días, cambiando el medio de cultivo infectado cada 3 días.¹⁹

• **Medicamentos Intracanal**

Después de 3 semanas, las muestras infectadas se dividieron en cuatro grupos. Al grupo I (10 dientes) se inyectaron extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) hasta que se llenaron. Al grupo II (10 dientes) se inyectaron aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña). Luego el grupo III (10 dientes) no recibió ningún medicamento para demostrar un entorno adecuado para el crecimiento bacteriano (control positivo) y el grupo IV (10 dientes) no recibe suspensión bacteriana (control negativo). Se completó la inyección en los orificios de los canales y se sellaron con Eugenato. Las muestras se envolvieron luego en una gasa estéril empapada en solución salina para evitar la deshidratación de los dientes se colocaron en un recipiente hermético y se incubó a 37° por una semana.¹⁹

• **Muestreo y cultivo**

Se abrieron los orificios y se enjuagaron con solución salina fisiológica para la eliminación completa del medicamento, se secaron con conos de papel estériles, se utilizó una lima tipo H por 2 segundos con el fin de eliminar virutas dentinarias para recolectarlo en caldo de BHI y se realizaron diluciones en serie. De cada dilución se extrajo 0.1 ml y se plaquearon en agar Mueller-Hinton. Después de una semana de incubación a 37° , se contabilizaron las unidades formadoras de colonias (UFC).¹⁹

• **Concentración inhibitoria mínima (MIC)**

Se realizó un método de dilución en serie para el extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) y aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).⁴⁴

• **Dilución en serie**

- Se preparó una serie de 10 tubos de las cuales el primero contenía 1 ml de caldo nutritivo BHI .⁴⁴

- Al primer tubo se añadieron 1ml de extracto etanólico de propóleo homogenizando y de este modo se tomo 1 ml del primer tubo al tubo siguiente procediendo así con los tubos restantes.⁴⁴
- Se añaden 100 ul del inóculo debajo de la superficie a cada uno de los tubos ajustado espectofotométricamente a 5×10^5 .⁴⁴
- Se preparan dos tubos adicionales para controlar el crecimiento bacteriano y su esterilidad.⁴⁴
- La concentración más baja de propóleo que eliminó el crecimiento visible de manchas bacterianas sobre la placa se definió como la concentración mínima bactericida.⁴⁴

4.5 Técnicas estadísticas utilizadas en el análisis de la información

Los resultados obtenidos serán primeramente organizados y presentados siguiendo las características de la estadística descriptiva, es decir, se consideraron las tablas de frecuencia para reconocer la distribución de las variables principales, así como, las tablas de doble entrada y así observar la distribución entre dos variables.

Para la comparación de los resultados entre los grupos experimentales e identificar la sustancia con mejor efecto, se procedió a ejecutar estadística inferencias con las pruebas estadísticas paramétricas de análisis de varianza (ANOVA) y prueba de TUKEY (pos hoc)

4.6 Aspectos éticos contemplados

- Antes de la eliminación de las muestras y desechos se procedió a colocar en autoclave para la eliminación completa de las bacterias presentes estudiadas para así prevenir la integridad del personal de limpieza que entran en contacto con los desechos.
- Protocolo de eliminación de las muestras obtenidas *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) y desechos biológicos según las normas establecidas por el área del Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas filial Lima.
- No existen daños a la integridad de la persona y del medio ambiente, siendo factible para realizar la investigación

CAPÍTULO V.
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo

Tabla N° 01

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

	Promedio	Desv. Stand.	Valor mínimo	Valor máximo
Propóleo	3.38	0.569	2.2	4

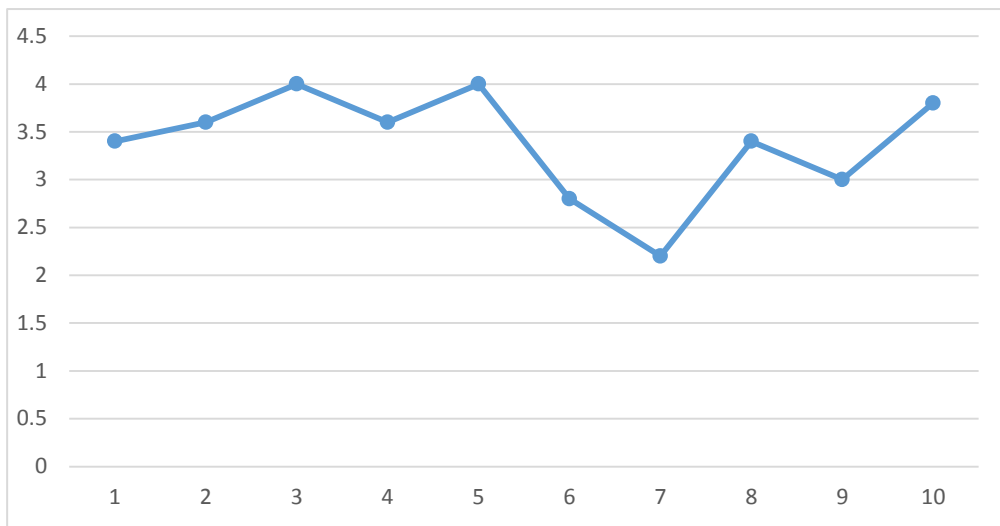
CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC/ML)						CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
CONCENTRACION DE PROPOLEO AL 100%							
DIENTES	PLACAS						
	P1	P2	P3	P4	P5		
D1	800	2000	0	0	0	13500	0
D2	2400	0	0	0	0	11000	0
D3	0	0	0	0	0	8500	0
D4	700	1000	0	0	0	15200	0
D5	0	0	0	0	0	13200	0
D6	1400	3000	20000	0	0	16200	0
D7	1100	8000	10000	100000	0	15100	0
D8	800	2000	0	0	0	12800	0
D9	200	3000	20000	0	0	10400	0
D10	500	0	0	0	0	13500	0

FUENTE: Cervera Romero,Barbara

El promedio de las UFC después de la aplicación del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) es 3.38 la cual se encuentra en una efectividad alta con respecto a su efecto antibacteriano. Al observar los resultados sobre toda la muestra estos se encuentran en un rango entre 2.2 a 4 UFC.

Gráfico N° 01

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).



FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Tabla N° 02

Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

	Promedio	Desv. Stand.	Valor mínimo	Valor máximo
Muña	3.18	0.511	2.4	3.8

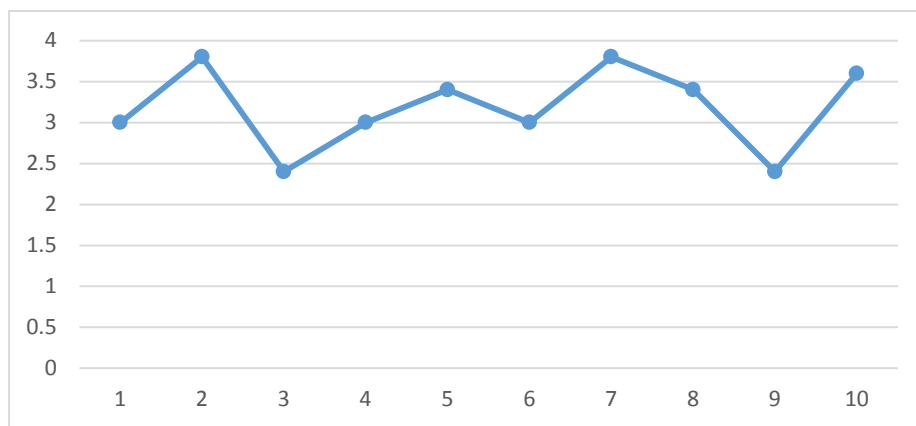
CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC/ML)						CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
CONCENTRACION DE LA MUÑA AL 100%							
DIENTES	PLACAS						
	P1	P2	P3	P4	P5		
D1	900	1000	10000	0	0	10500	0
D2	300	0	0	0	0	17000	0
D3	3300	15000	60000	200000	0	10400	0
D4	800	5000	20000	0	0	5700	0
D5	300	1000	0	0	0	12600	0
D6	900	8000	60000	0	0	5100	0
D7	200	0	0	0	0	14700	0
D8	200	1000	0	0	0	16400	0
D9	300	1000	10000	100000	0	8400	0
D10	200	0	0	0	0	8800	0

FUENTE: Cervera Romero,Barbara

El promedio de las UFC después de la aplicación del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) es 3.18, la cual se encuentra en una efectividad alta con respecto a su efecto antibacteriano. Al observar los resultados sobre toda la muestra estos se encuentran en un rango entre 2.4 a 3.8 UFC.

Gráfico N° 02

Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).



FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Tabla N° 03

Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

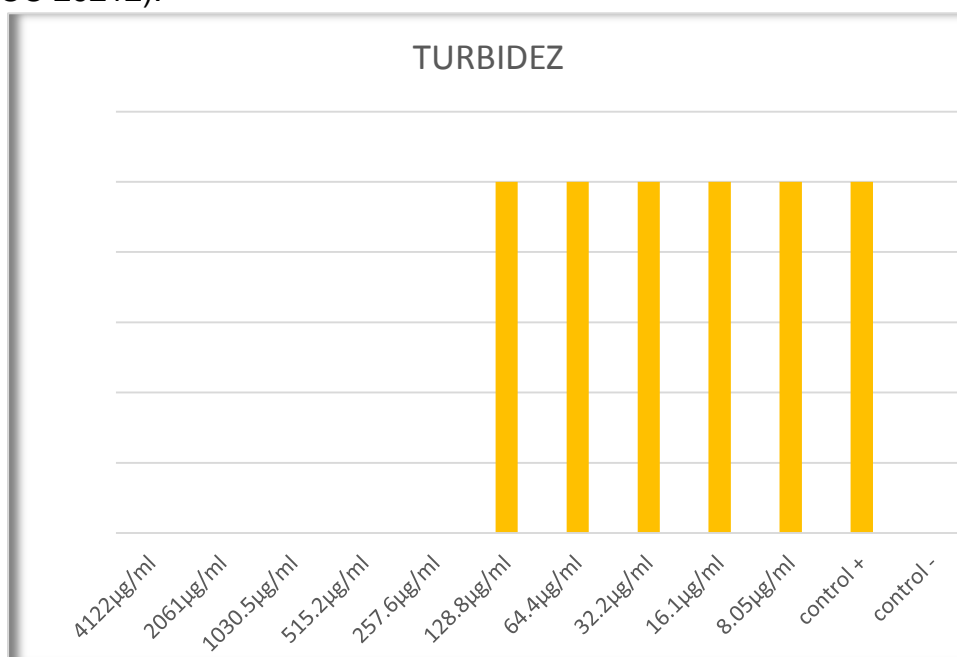
CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)			
TUBOS	Concentración de Propóleo	Crecimiento de suspensión bacteriana de <i>Enterococcus faecalis</i> 0.5 Mc Farland (TURBIDEZ)	Absorbancia(0.5 Mc farland)
1	4122µg/ml	-	0.033
2	2061µg/ml	-	0.038
3	1030.5µg/ml	-	0.042
4	515.2µg/ml	-	0.064
5	257.6µg/ml	-	0.121
6	128.8µg/ml	+	0.206
7	64.4µg/ml	+	0.211
8	32.2µg/ml	+	0.213
9	16.1µg/ml	+	0.238
10	8.05µg/ml	+	0.251
11	Control positivo	+	0.223
12	Control negativo	-	0

FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Se observa las diferentes concentraciones del propóleo examinadas para determinar la concentración a partir de la cual se observa efecto inhibitorio, estas concentraciones han ido duplicándose de manera progresiva para tener un mejor detalle de la concentración inhibitoria. Como se observa en el gráfico a partir de los 257.6 µg/ml se impide el crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis*.

Gráfico N° 03

Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis Mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).



FUENTE: Cervera Romero, Barbara

Tabla N° 04

Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

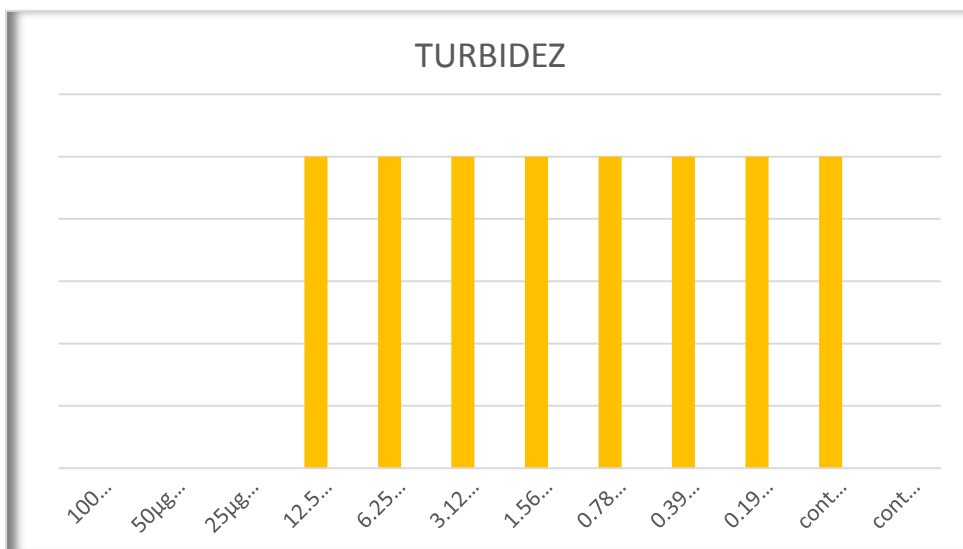
CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)			
TUBOS	Concentración de la Muña	Crecimiento de suspensión bacteriana de <i>Enterococcus faecalis</i> 0.5 Mc Farland (TURBIDEZ)	Absorbancia(0.5 Mc farland)
1	100µg/ml	-	0.049
2	50µg/ml	-	0.05
3	25µg/ml	-	0.052
4	12.5µg/ml	+	0.201
5	6.25µg/ml	+	0.208
6	3.125µg/ml	+	0.223
7	1.56µg/ml	+	0.233
8	0.78µg/ml	+	0.25
9	0.39µg/ml	+	0.251
10	0.195µg/ml	+	0.252
11	Control positivo	+	0.212
12	Control negativo	-	0

FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Se observa las diferentes concentraciones de la muña examinadas para determinar la concentración a partir de la cual se observa efecto inhibitorio, estas concentraciones han ido duplicándose de manera progresiva para tener un mejor detalle de la concentración inhibitoria. Como se observa en el cuadro a partir de los 25µg/ml se impide el crecimiento de la cepa de *Enterococcus faecalis*

Gráfico N° 04

Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).



FUENTE: Cervera Romero,Barbara

5.2 Análisis inferencial

Tabla N°05

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) y aceite esencial *Minthosthachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

		Efectividad antibacteriana			
		Efectividad muy alta	Efectividad alta	Efectividad moderada	Total
Propóleo	Frecuencia	2	5	3	10
	%	20,0%	50,0%	30,0%	100,0%
Muña	Frecuencia	0	5	5	10
	%	,0%	50,0%	50,0%	100,0%
Control Positivo	Frecuencia	0	0	10	10
	%	,0%	,0%	100,0%	100,0%
Control Negativo	Frecuencia	10	0	0	10
	%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
Total	Frecuencia	12	10	18	40
	%	30,0%	25,0%	45,0%	100,0%

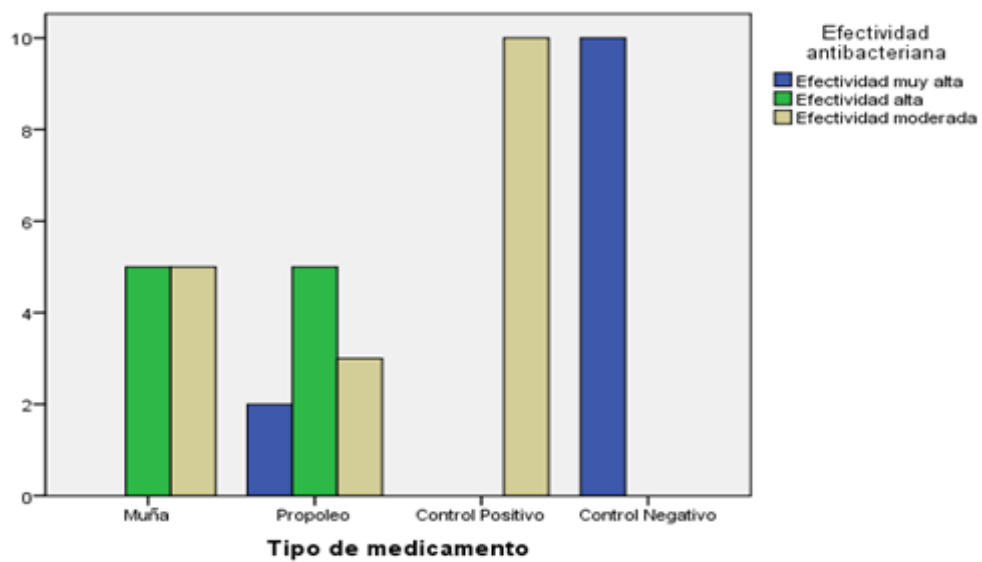
FUENTE: Cervera Romero,Barbara

$p=0,05$

Se observa que el propóleo tiene mayor frecuencia de efecto antibacteriano ya que el 70% de sus resultados se encuentran entre efectividad alta y muy alta, en comparación con la muña. Sin embargo, el control negativo tiene como resultado el 100% demostrando su esterilidad del diente. Así también se observa que existe una diferencia significativa en estos resultados.

Gráfico N°05

Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Apis mellifera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).



FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Tabla N°06

Unidades Formadoras de Colonia de cepas de *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212) según *Ápis Mellifera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña).

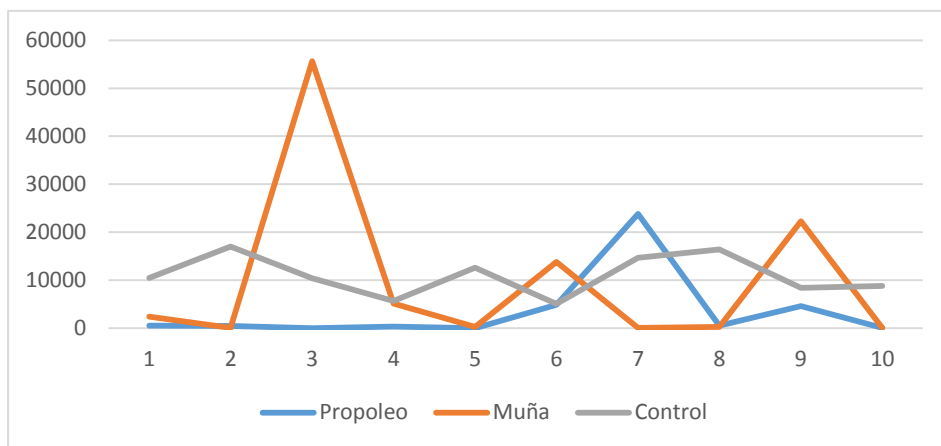
	Unidades Formadoras de Colonia			
	Media	Desviac estand	Valor max	Val min
Propóleo	3538	7368	23820	0
Muña	9988	17696	55660	40
Control Positivo	10960	4170	17000	5100
Control Negativo	0	0	0	0

FUENTE: Cervera Romero,Barbara

Al comparar entre el propóleo y la muña con respecto a la cantidad de unidades formadoras de colonia es el propóleo con un menor producción de las mismas, llegando inclusive a valores de cero.

Gráfico N°06

Unidades Formadoras de Colonia de cepas de *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212) según *Ápis Mellífera* (propóleo) y *Minthotachys mollis* (muña).



FUENTE: Cervera Romero,Barbara

5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas.

Al comparar los promedios de la UFC del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) según las pruebas estadísticas aplicadas ANOVA Y TUKEY da como resultados obtenidos mayor efecto antibacteriano en el propóleo.

PRUEBA ESTADÍSTICA DE ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

Unidades Formadoras de Colonia

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,251E8	3	2,750E8	2,859	,050
Within Groups	3,463E9	36	9,620E7		
Total	4,288E9	39			

PRUEBA DE TUKEY (POS HOC)

Multiple Comparisons

Unidades Formadoras de Colonia

Tukey HSD

(I) Tipo de medicamento	de (J) Tipo de medicamento	Mean	Std. Error	Sig.
		Difference (I-J)		
Muña	Propoleo	6450,000	4386,407	,465
	Control Positivo	-972,000	4386,407	,996
	Control Negativo	9988,000	4386,407	,122
Propoleo	Muña	-6450,000	4386,407	,465
	Control Positivo	-7422,000	4386,407	,343
	Control Negativo	3538,000	4386,407	,851
Control Positivo	Muña	972,000	4386,407	,996
	Propoleo	7422,000	4386,407	,343
	Control Negativo	10960,000	4386,407	,077
Control Negativo	Muña	-9988,000	4386,407	,122
	Propoleo	-3538,000	4386,407	,851
	Control Positivo	-10960,000	4386,407	,077

(I) Tipo de medicamento	de (J) Tipo de medicamento	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
Muña	Propoleo	-5363,59	18263,59
	Control Positivo	-12785,59	10841,59
	Control Negativo	-1825,59	21801,59
Propoleo	Muña	-18263,59	5363,59
	Control Positivo	-19235,59	4391,59
	Control Negativo	-8275,59	15351,59
Control Positivo	Muña	-10841,59	12785,59
	Propoleo	-4391,59	19235,59
	Control Negativo	-853,59	22773,59
Control Negativo	Muña	-21801,59	1825,59
	Propóleo	-15351,59	8275,59
	Control Positivo	-22773,59	853,59

Unidades Formadoras de Colonia

Tipo de medicamento	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Control Negativo	10	,00
Propoleo	10	3538,00
Muña	10	9988,00
Control Positivo	10	10960,00
Sig.		,077

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Por lo que se acepta la hipótesis general presentada, donde se concluye que: “El extracto etanólico de *Apis mellífera* (propóleo) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.

5.4 Discusión

La presente investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis mellifera* (propóleo) y *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias donde los resultados obtenidos muestra que después de realizar el conteo de unidades formadoras de colonias en placas Petri según la escala de grado de efectividad antibacteriana de kuruvilla y kamath ; donde el propóleo presentó una efectividad muy alta a comparación de la muña que presentó una efectividad alta. Esto indica que el propóleo presenta mayor efecto antibacteriano que la muña existiendo estadísticamente diferencias significativas.

Así mismo observamos que la concentración mínima inhibitoria del *Ápis mellifera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) obtenemos que las concentraciones de 128.8µg/ml hasta 8.05µg/ml presentan turbidez (+), lo que indica crecimiento bacteriano, pero a partir de las concentraciones 257.6µg/ml hasta 4122µg/ml no presenta turbidez (-), lo que evidencia que no hubo crecimiento bacteriano, esto indica que el método de dilución en serie dio como resultado su CMI de 257.6 µg/ml.

En los resultados de la concentración mínima inhibitoria del Aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) obtenemos que las concentraciones de 12.5µg/ml hasta 0.195µg/ml presentan turbidez (+), lo que indica crecimiento bacteriano, pero a partir de las concentraciones 25µg/ml hasta 100µg/ml no presenta turbidez (-), lo que evidencia que no hubo crecimiento bacteriano, esto indica que el método de dilución en serie dio como resultado su CMI de 25µg/ml.

Los resultados obtenidos de Zare M. 2014 en su investigación tuvo como objetivo evaluar y comparar las unidades formadoras de colonias y las concentraciones mínimas inhibitorias de hidróxido de calcio y propóleo como medicamentos intracanal donde se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias después de 48 horas y la CMI se midieron mediante dilución en

serie, donde la CMI del propóleo fue de 340 µg/ml y las UFC de propóleo presentó mayor efectividad que el hidróxido de calcio. Se concluyó que el propóleo es un agente intracanal antimicrobiano eficaz coincidiendo con nuestra investigación.

A diferencia de la CMI del propóleo los resultados son contrarios observándose mayor efecto a una menor concentración.

Asimismo en su investigación de Alaba W 2015 donde su objetivo fue determinar el efecto inhibitorio de IKI al 2% y *Minthostachys mollis* en cepas de *E. faecalis* en disco de difusión donde concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% posee mayor efecto inhibitorio in vitro sobre las cepas *E. faecalis* que el IK al 2%.Coincidiendo con esta investigación demostrando efectividad antibacteriana teniendo en cuenta que se utiliza el método de conteo de unidades formadoras de colonias.

Existen estudios que evalúan la efectividad antibacteriana de otros medicamentos intraconductos sobre cepas de *enterococcus faecalis* ATCC 29212.

En su investigación de Pajuelo S. 2015 coincide con los resultados obtenidos donde su objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio a cambios de temperatura ante el *Enterococcus faecalis* ATCC29212 in vitro, realizando la investigación mediante el método de conteo de unidades formadoras de colonias según la escala de grado de efectividad antibacteriana de kuruvilla y kamath. En los resultados se concluyó que el hipoclorito de sodio presenta una efectividad muy alta a una temperatura de 40°C.

Existen investigaciones con procedimientos similares que tuvieron como objetivo determinar la concentración mínima inhibitoria de la muña frente a la actividad de diversos tipos de bacterias.

En este estudio se determinó que la concentración mínima inhibitoria de (muña) es de 25 µg/ml frente a *Enterococcus faecalis* en comparación con la investigación de Ccallo 2014 con resultados contrarios donde enfrentó a la muña a *Streptococcus mutans* y *Phorphyromonas gingivalis*, quien obtuvo como CMI de *Minthostachys mollis* (muña) de 0.448 mg/ml.

La CMI de la muña en *Enterococcus faecalis* era tan bajo como 25 µg/ml sin embargo Torrenegra M (2016) encontró la concentración mínima inhibitoria

Minthostachys mollis sobre tres bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922 usando métodos de microdilución en caldo a una concentración de 1000- 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en la cual los resultados tan altos la CMI en *S. aureus* fue de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, *S. epidermidis* es de 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, *E. coli* es de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en conclusión demostrando efectividad al aceite esencial de *Minthostachys mollis* en estas cepas pero a mayores concentraciones.

Según en su investigación de Joya M (2017) evaluó la actividad fungistática y fungicida de propóleos venezolano y de 3 regiones del mundo en cepas del Complejo *C. albicans*, *C. guilliermondi*, *C. krusei* y *C. tropicalis* encontrando mayor efectividad en Alemania e Italia (10,2 mg/mL), seguidos por el de Venezuela (15,6 mg/mL) y España (18,8 mg/mL). La CMI en las especies más sensibles a los propóleos fueron *C. krusei* y *C. guilliermondii* (8,6 mg/mL como promedio de los 4 propóleos). Según esta investigación el propóleo en Perú presenta efectividad a partir 257.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días ha sido 50% y 20% de efectividad alta y muy alta, respectivamente.
- El efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días ha sido 50% de efectividad alta.
- La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias es de 257.6µg/ml.
- La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias es de 25µg/ml.

RECOMENDACIONES

- Tener en cuenta el efecto antibacteriano que presentó el extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) para que sea utilizado en investigaciones futuras frente a otras bacterias de la cavidad bucal.
- Realizar pruebas “in vivo” para obtener resultados de efectividad y toxicidad del extracto etanólico de *Ápis mellífera* (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).
- Realizar investigaciones sobre el tema que tomen las observaciones a través del tiempo, a los 7, 14 y 21 días.
- Diseñar estudios que comparen la efectividad antibacteriana de estas sustancias con otros elementos naturales.
- Realizar diferentes presentaciones entre el propóleo y la muña como cementos en polvo, pasta o geles, y probar su efectividad antibacteriana.

FUENTE DE INFORMACIÓN

1. Alaba W. Efecto inhibitorio de las hojas de *Minthostachys* sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Rev. Simiykita. [Internet] 2015. [citado Ene-Jun 2015]; 1(1):15-22. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/471-1663-1-PB%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/471-1663-1-PB%20(5).pdf)
2. Huari G. Efecto antimicrobiano del *Minthostachys mollis* en *Streptococcus mutans*. [Tesis]. Lima: Universidad nacional mayor de san marcos. Facultad de Odontología; 2014.
3. Pinheiro ET, Gomes B, Ferraz C, et al. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontics failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral Microbiol Immunol* 2003;18: 100-3.
4. Alamo J. Efectividad de irrigantes sobre cepas de *Enterococcus faecalis* en la preparación de conductos radiculares. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; 2015.
5. Liebana Ureña J. Microbiología oral. 2ed. Madrid. Ed Mc Graw-Hill-Interamericana de España,S.A.U.; 2002.
6. Hubble Ts, Hatton JF, Nallapareddy SR , et al. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 121-6.
7. Distel J, Hatton J. *Enterococcus faecalis* colonization and biofilm formation in medicated root canals. *J endod* 2001;28:689-93.
8. Bader M, Loeb M, Brooks A. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med*. 17 Feb. 2017;123(2):242-58.
9. Bader M, Loeb M, Brooks A. An update on the management of urinary tract infections. *Postgrad Med*. 17 Feb. 2017;123(2):242-58.

10. Lopez J. Estandarización del propóleos de la provincia de Oxapampa, departamento de Pasco (Perú) como materia prima. Universidad Nacional de San Marcos, facultad de farmacia y bioquímica, 2004.
11. Yapuchura Roxana. Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña. [Tesis]. Lima: Universidad Agraria la Molina. Facultad de tecnología de alimentos; 2010.
12. Lambert, R. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. of Appl. Microb. 2001;91: 453-62.
13. Cano C. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). Rev. Peruana Med Exp y Salud Pub. 2008; 25:3.
14. Ccallo N. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. [Tesis]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Odontología; 2013.
15. Pajuelo S. Efecto antibacteriano del hipoclorito de sodio al 2.5% a cambios de temperatura ante *enterococcus faecalis* ATCC 29212 in vitro. [Tesis]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Estomatología; 2015.
16. Alaba W. Efecto inhibitorio de las hojas de *Minthostachys* sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Rev. Simiykita. [Internet] 2015. [citado Ene-Jun 2015]; 1(1):15-22. Disponible en: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/471-1663-1-PB%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/471-1663-1-PB%20(5).pdf)
17. Quispe J. Caracterización físico química del aceite esencial de la muña (*Minthostachys setosa*) y su estudio antibacteriano, [Tesis] Perú: Universidad nacional de Trujillo. Facultad de Ingeniería Química; 2015.
18. Mattigatti S. Efecto antimicrobiano de los medicamentos convencionales del conducto radicular versus propóleos contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. J Contemp Dent

Pract.[Internet] 2012 [citado May- June 2012];13(3):305-309.Disponible en:
<http://www.jaypeejournals.com/eJournals/ShowText.aspx?ID=3133&Type=FREE&TYP=TOP&IN=eJournals/images/JPLOGO.gif&IID=241&isPDF=Y>
ES

19. Zare M. Propolis: A New Alternative for Root Canal Disinfection, Endod J [Internet]. 2012 [citado 1 Aug 2012]; 7(3):127–133. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3467135/>
20. Jyotsna Agarwal, The antimicrobial effectiveness of 25% propolis extract in root canal irrigation of primary teeth, J Indian Soc Pedod Prev Dent [Internet]. 2014 [citado Apr-Jun 2014];32(2):120-124. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24739910>
21. Torrenegra M, Composición Química y Actividad antimicrobiana de *Minthostachys mollis*, Antibacteriana. Scielo [Internet] 2016 [citado 23 May 2016];20(1):69-74.Disponible:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
22. Aigaje A. Efecto antibacteriano del *Minthostachys mollis* al 25,50,100% contra *Porphyromonas Gingivalis*. [Tesis]. Quito. Universidad Central de Ecuador, Facultad de Odontología; 2016.
23. Joya M; Gil M; Bastidas G. Extractos etanólicos de propóleos sobre el crecimiento in vitro de cepas del género *Candida* en su actividad fungistática y fungicida. Tecnología en Marcha [Internet] 2017. [citado Julio-Setiembre 2017];30(3):3-11.Disponible en:
<http://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v30n3/0379-3982-tem-30-03-00003.pdf>
24. Ahangari Z, Propoleo:: composicion quimica y sus aplicaciones en Endodocia. Iran Endod J. 2018; 13(3):285-292.
25. Burgos F. Medicación intraconducto en endodoncia [Tesis]. Chile: Universidad de Valparaíso, Facultad de Odontología; 2013.
26. Wieckiewicz W, Miernik M, Wieckiewicz M, and Morawiec T. Ayuda el propóleo a mantener la salud bucal? Evid Based Complement Alternat

- Med [Internet] 2013. [citado 22 Dec 2012];13(1):1-8.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3556426/>
27. Herrera L. Actividad antibacteriana in vitro del propóleo Santander sobre *Enterococcus faecalis*. Ustasalud [Internet]. 2012 [citado 12 Dec 2012];11(1):73-78.Disponible en: http://revistas.ustabuca.edu.co/index.php/USTASALUD_ODONTOLOGIA/article/viewFile/1119/918
28. Vargas Rey. El propóleo: conservador potencial para la industria alimentaria. Interciencia [Internet] 2013. [citado 4 Oct 2013]; 38(10)705-711. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/339/33929482003/>
29. Cano C, Actividad antifúngica y metabolitos de las hojas de *Minthostachys mollis*, Rev Peru Med Exp Salud[Internet] 2008. [citado 15 Feb 2008]; 25(3): 298-301. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36311611008>
30. Chica N, Melgarejo L, Sanchez J, Carrascal A. Actividad antibacteriana del *Minthostachys mollis* (Lamiaceae); APS Caribbean Division 2007; 97(7):1-6.
31. Kalemba D, Kunicka A. Propiedades antibacteriana y antifúngica de aceites esenciales. Curr Med Chem. 2003;10(10): 813-829.
32. Baca C. Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) sobre el género *Proteus* causantes de infecciones del tracto urinario. [Tesis]. Perú. Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Odontología; 2014.
33. Nostro A, Roccaro A, Bisignano G, Marino A, Cannatelli M, Pizzimenti F, et al. Efectos del oregano, carvacrol y timol en *Stafilococcus aureus* y *Stafilococcus epidermis* biofilms. J Med Microbiol. [Internet] 2007. [citado 13 Apr 2007] ; 56(4) :519- 523. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17374894>
34. Teixeira K., Cortez M. Estado actual de antibacterianos para medicación intracanal. Acta Odontol Venez [Internet] 2005. [citado 4 Agust 2005];

43(2):112. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/260928812>
Estado actual de la indicación de antimicrobianos para la medicación intracanal

35. Rodríguez G. Géneros Streptococcus y Enterococcus. Temas de bacteriología y virología médica. Vol 17. 2a ed, Cefaed: Uruguay; 2006.p.273-290.
36. Azaña L. Efecto antimicrobiano de *Mintostachys mollis* en cepas prevalentes de origen endodóntico. [Tesis]. Perú: Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología; 2010.
37. Farinango H. Efecto inhibitorio de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) y Paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina en cepas de *Enterococcus faecalis*. [Tesis]. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Odontología; 2013.
38. Pérez Alfayate R., Díaz-Flores García V., Algar Pinilla J., et al. Actualización en microbiología endodóntica. *Cient Dent*. 2013; 10;(1): 27-39.
39. Aguilar T. Microbiología de periodontitis apical crónica persistente. *Revista CES de odontología* 2004; 6(1):120-145.
40. Orihuela D, Manejo clínico y pronóstico de la infección endodóntica primaria y secundaria [Tesis]. México: Universidad autónoma, Facultad de Odontología; 2017.
41. Siqueira J, Santos S, Rocas I. Eficacia de las técnicas de instrumentación y los regímenes de irrigación para reducir la población bacteriana dentro de los conductos. *J Endod*. 2002 ; 28(3):181-184.
42. Young G, Parashos P. The principles of techniques for cleaning root canals. *Aust Dent J*. 2007; 52(1): 52-63.
43. Alvarez J. Preparación biomecánica de conductos radiculares. [Tesis]. La Habana: Universidad de ciencias médicas de la Habana, Facultad de Odontología; 2016.

44. Malbrán C. Metodo de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. *Clinical and Lab. Standars Inst.* 2012;32:3-19.
45. Malpartida F. Efecto inhibitor del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación al paramonoclorofenol alcanforado y gluconato de clorhexidina al 2% frente a cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Lima: Universidad Privada Alas Peruanas, Facultad de Estomatología; 2010.
46. Rubinteins A. Guía de medicamentos esenciales para el PNA. 1ª.ed. Buenos Aires: Cob. Univer de salud; 2017.
47. Gonzalez A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas [Tesis]. Colombia: Universidad nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería Química; 2004.
48. Labán Y. Efecto inhibitor del aceite esencial de la Menta piperita al 100% e hidróxido de calcio frente a cepas de *Enterococcus faecalis* [Tesis]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener, Facultad de Odontología; 2014.
49. Negroni M. Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica. Vol.1. 2a.ed. Buenos aires: Editorial médica panamericana; 2009.
50. Quintero B. Infections due to anaerobic bacteria: clinical management criteria and diagnostic microbiological procedures. *Revista Logos, Ciencia & Tecnología*, 2009;1(1):121-136.
51. Horna G. C.M.I y C.M.B de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas. *Rev Med Hered.*2005;16(1):1-7.
52. Deloya, A. Metodos de analisis fisicos y espectrofotometricos para el analisis de aguas residuales, *Tecnología en marcha* Vol. 19-2 Pag.31.
53. Álvarez M. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de propolis de apis mellífera (propóleo) [Tesis]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego; Facultad de Estomatología; 2014.
54. Hernández R. Metodología de la Investigación. 1ª.ed. México: Mc Graw Hill; 1997.

55. Díaz M. Buenas prácticas con las plantas medicinales en comunidades de la Amazonía ecuatoriana, Vol1. 1a.ed.Cuba: Universitaria;2014.
56. Schilder H. Preparación del conducto radicular: Limpieza y conformación. Argentina:Ed. Medica panamericana; 2013

ANEXOS

ANEXO1

Carta de presentación (emitido por la escuela)



Pueblo Libre, 31 de Enero del 2019

Mg Blga CARMEN LUISA, AQUIJE DAPOZZO
Jefa del Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a la egresada CERVERA ROMERO, BARBARA LORENA, con código 2012116571, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud - Universidad Alas Peruanas, quien necesita recabar información en el área que usted dirige para el desarrollo del trabajo de investigación (tesis).

TÍTULO: "COMPARACION IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE APIS MELLIFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUES DE UNA PREPARACION BIOMECANICA ENDODONTICA".

A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde a la presente.

Atentamente,


Dra. MIRIAM DEL ROSARIO VASQUEZ SEGURA
DIRECTORA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA



Adjunto:
Protocolo de recolección de datos

ANEXO2

Constancia de desarrollo de la investigación



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

Pueblo libre, 13 de Agosto del 2019

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La que suscribe **Mg. Carmen Aquije Dapozzo**, Jefa del Laboratorio Central de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas, Certifica que la bachiller **Barbara Lorena Cervera Romero** de código 2012116571 de la carrera profesional de Estomatología, realizó la parte experimental de su trabajo de investigación titulado " **COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE ÁPIS MELLÍFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUÉS DE UNA PREPARACIÓN BIOMECANICA ENDODÓNTICA**" en las instalaciones de nuestro laboratorio desde el día 08 de Abril al 08 de Junio.

Se expide la presente constancia para fines pertinentes.

Atentamente.



MG. BLGO. CARMEN AQUJE DAPOZZO
JEFA DEL LABORATORIO CENTRAL
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIA DE LA SALUD

ANEXO 3

Instrumento de recolección de datos



FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE OBSERVACIÓN EXPERIMENTAL

Operador:

Investigador:

CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)						CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
CONCENTRACIÓN DE LA MUÑA AL 100%							
DIENTES	PLACAS						
	p ¹	p ²	p ³	p ⁴	p ⁵		
D1							
D2							
D3							
D4							
D5							
D6							
D7							
D8							
D9							
D10							

CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS (UFC)						CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
CONCENTRACIÓN DE PROPÓLEO AL 100%							
DIENTES	PLACAS						
	p ¹	p ²	p ³	p ⁴	p ⁵		
D1							
D2							
D3							
D4							
D5							
D6							
D7							
D8							
D9							
D10							

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)			
	Concentración de Propóleo (µg/ml)	Crecimiento de suspensión bacteriana de Enterococcus faecalis 0.5 Mc Farland (TURBIDEZ)	Absorbancia(0.5 Mc farland)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)			
	Concentración de la Muña (µg/ml)	Crecimiento de suspensión bacteriana de Enterococcus faecalis 0.5 Mc Farland (TURBIDEZ)	Absorbancia(0.5 Mc farland)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			

ANEXO 4

MATRIZ DE CONSISTENCIA				
COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE ÁPIS MELLÍFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUÉS DE UNA PREPARACIÓN BIOMECÁNICA ENDODÓNTICA				
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	METODOLOGIA
Principal	Principal	Principal	Dependiente	Tipo de estudio
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?	Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) y aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.	El extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.	Efecto antibacteriano del extracto etanólico Ápis mellífera (propóleo) y del aceite esencial Minthostachys mollis (muña)	Experimental in vitro Transversal Prospectivo Comparativo
Específico	Específico	Específico	Independiente	Población
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días?	Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.	El extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.	Crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212)	Cepas Enterococcus faecalis (ATCC29212)
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días?	Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.	El aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias en 7 días.		Muestra
¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?	Determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.	La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Ápis mellífera (propóleo) es a partir de 340 ug/ml sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.		N= 40 piezas dentarias
¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias?	Determinar concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.	La concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) es a partir de 450 ug/ml sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de Enterococcus faecalis (ATCC 29212) después de una preparación biomecánica manual endodóntica en piezas dentarias.		

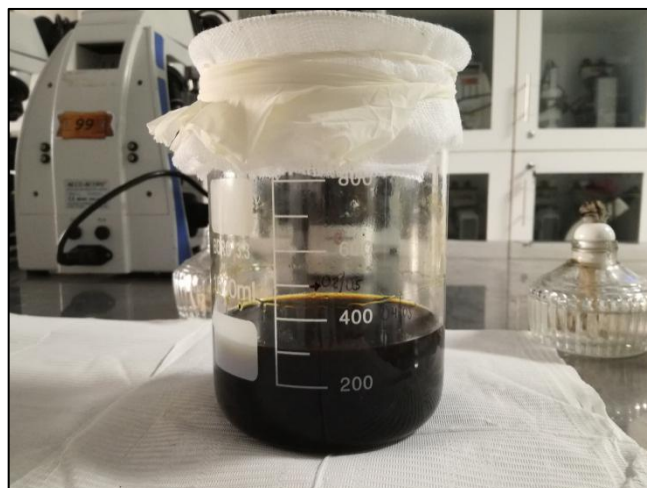
ANEXO 5
FOTOGRAFÍAS



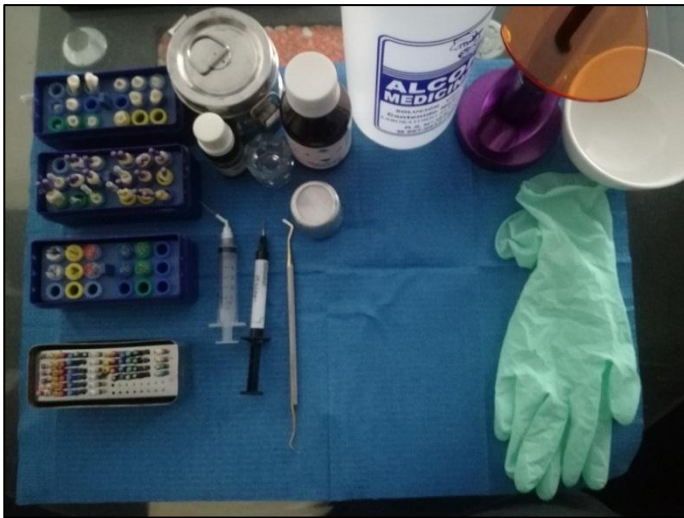
Preparación del Agar Sangre, esterilización en autoclave y sembrado en placas Petri de la cepa *Enterococcus faecalis* (ATCC29212).



Recolección de *Apis mellifera* (propóleo) en Oxapampa con la técnica de espatulado.



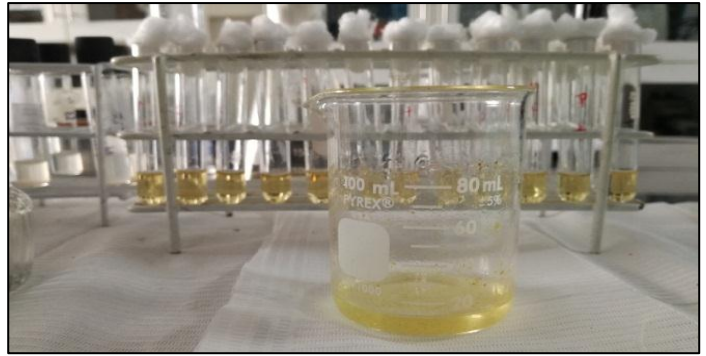
Proceso de filtrado e incubación del propóleo con alcohol al 97° para la obtención del extracto etanólico.



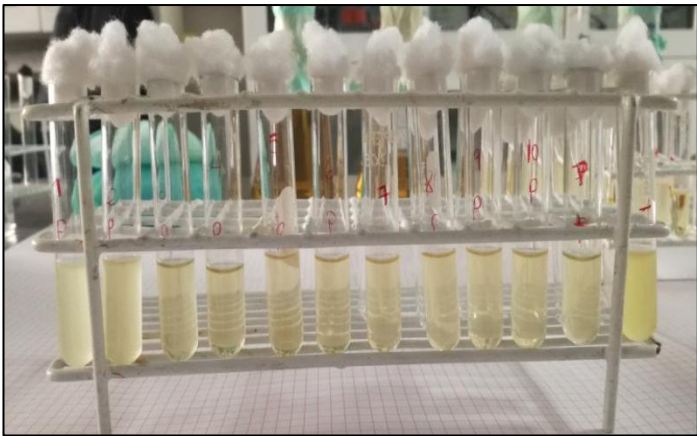
Proceso de apertura y preparación biomecánica endodóntica de las piezas radiculares con la técnica corono apical.



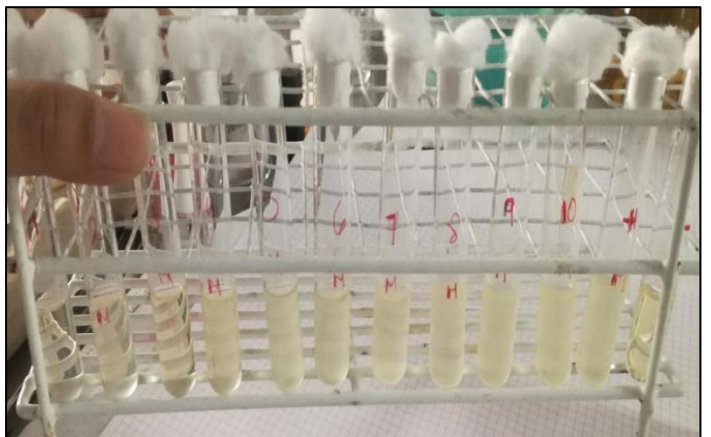
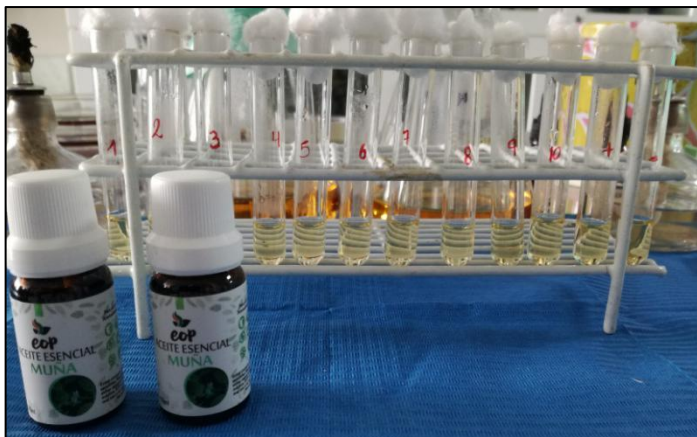
Se sumerge los dientes en medio de cultivo BHI con los especímenes *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ajustado a 0.5 de la escala de Mc Farland. Incubando a 37° por 21 días.



Se realiza el peso en microgramos del propóleo al 100% y su posterior dilución en alcohol.



Se realiza diluciones en serie en serie para hallar la concentración mínima inhibitoria del Propóleo.



Se realiza diluciones en serie en serie para hallar la concentración mínima inhibitoria de la Muña.



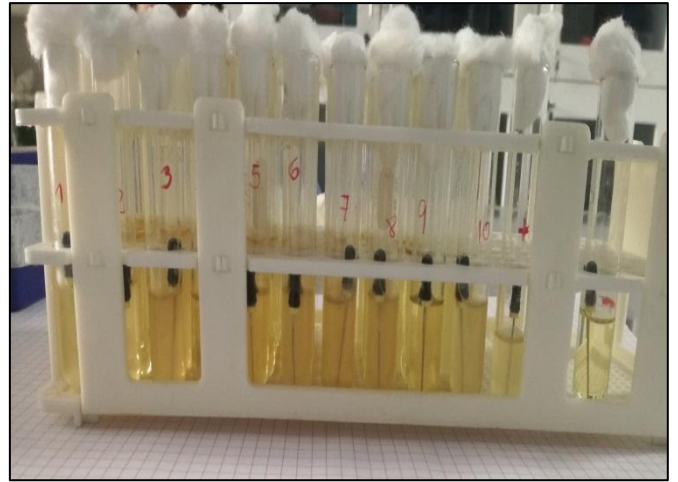
Se procede a la medicación intraconducto con propóleo al 100% y muña al 100% en la incubadora a 37° por 7 días.



Después de 7 días, se aperturaron los orificios y se enjuagaron con solución salina fisiológica para la eliminación completa del medicamento.



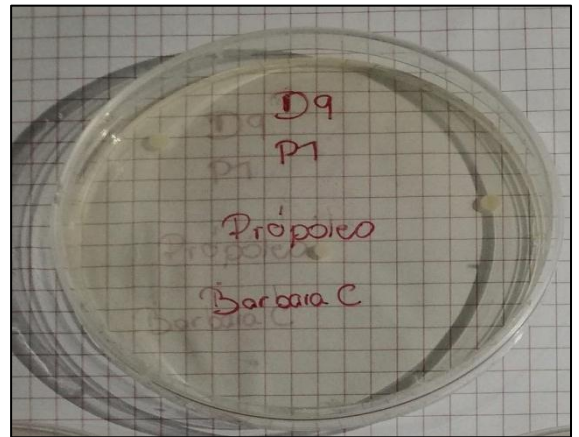
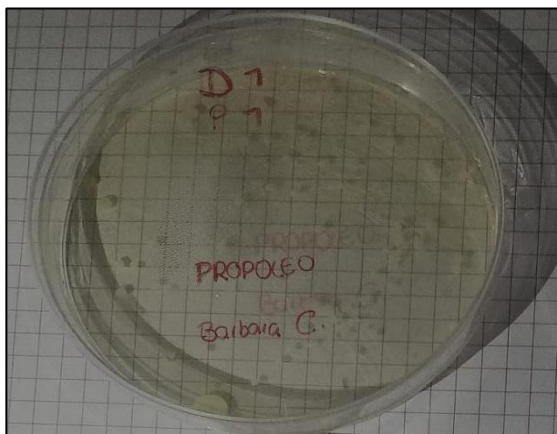
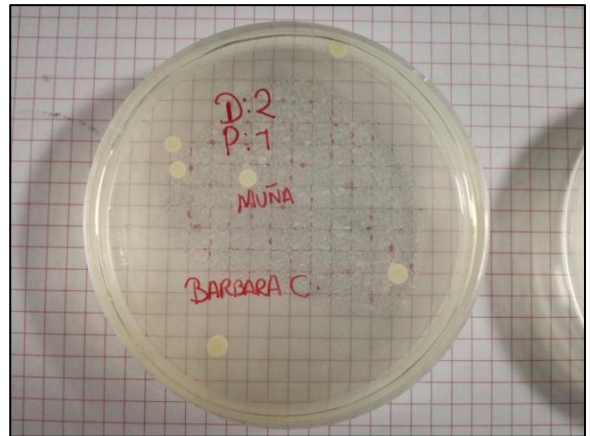
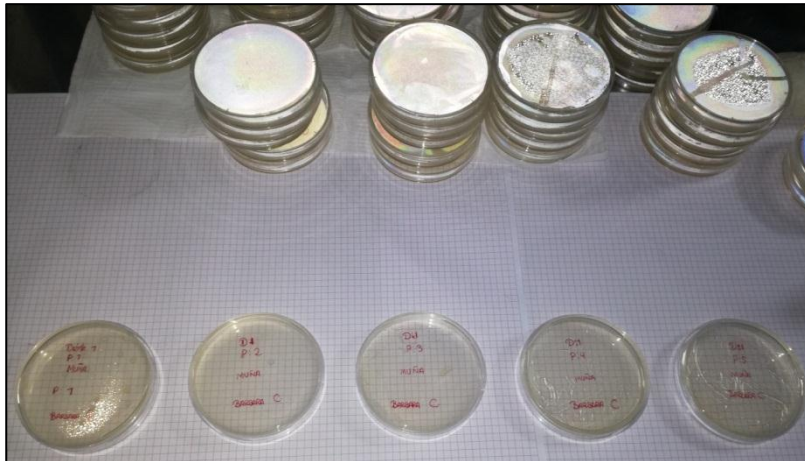
Se utilizó una lima tipo H con el fin de eliminar virutas dentinarias.



Se realizaron diluciones en serie en caldo BHI por 24 Horas.



De cada dilución se extrajo 0.1 ml y se plaquearon en agar Mueller- Hinton.



Después de una semana de incubación a 37°, se contabilizaron las unidades formadoras de colonias (UFC) del propóleo y la muña.

ANEXO 6 CERTIFICADOS

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: Enterococcus faecalis Catalog Number: 0366 Lot Number: 366-317** Reference Number: ATCC® 29212™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2018/5/14
Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, gray/white, translucent, smooth, circular with entire edge Microscopic Features: Gram positive ovoid cells, mostly in pairs or short chains	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative (1) Bile Esculin Agar: positive (1) Streptomycin (300 mcg - Disk Susceptibility): 14 - 20 mm (1) Gentamicin (120 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 23 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): >= 20 mm BHIA w/Vancomycin (6 mcg/ml): Sensitive
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
 <small>ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small>	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <small>ATCC Licensed Derivative</small>	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>
 <small>ACCREDITED TESTING CERT #2655.01</small>	
<small>© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.286</small>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Enterococcus faecalis
 Sample Description: 0366
 Sample ID: 366-317
 Sample Creation Date/Time: 2018-05-08T11:34:48.710 cs
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D1 (+++)(A)	366-317	Enterococcus faecalis	2.41

Comments:

n/a

CERTIFICADO

ORGÁNICO PARA EL PERÚ



SAUL WALTER EXPINOZA AYALA - OXAMIEL
Jr. Lima 852
Oxapampa, Pasco
PERÚ

Número del certificado: PER-OXAMIEL-0165/02.09/0674

Este certificado de cumplimiento comprueba que la entidad inspeccionada se encuentra en conformidad con el Reglamento Técnico para los Productos Orgánicos en el Perú, según el Decreto Supremo N° 044-2006-AG en los campos de:

- Producción Agrícola
- Producción Apícola
- Procesamiento y actividades relacionadas
- Comercialización

VER ANEXO CON PRODUCTOS CERTIFICADOS

Kiwa BCS ÖKO GARANTIE PERÚ S.A.C. es una certificadora orgánica Peruana, con registro vigente ante SENASA como organismo Certificador de productos orgánicos de acuerdo al requerimiento establecido en la ley # 29196, D.S. No 061-2006-AG


El presente certificado no es una garantía de calidad de productos, solamente confirma el cumplimiento con el Reglamento Técnico Peruano para los Productos Orgánicos. No representa un certificado de comercialización, y es válido solamente como original. Las copias deberán estar marcadas como tales.

Este Certificado tiene una vigencia de 12 meses a partir de la decisión de certificación, pero su renovación deberá darse antes de que se cumpla 12 meses desde la fecha de Inspección. El Certificado está vigente hasta nuevo aviso, siempre que el operador continúe cumpliendo las condiciones establecidas en el contrato del cliente con Kiwa BCS Öko Garantie Perú S.A.C.

Fecha de Inspección: 21.02.2019

Certificado válido hasta: 09.04.2020

Lima, 10 de Abril del 2019


José Manuel Correa Lorzundi
Gerente General

Kiwa BCS Öko Garantie Perú S.A.C

Dirección: Plaza 27 de Noviembre 430 Of. 2B San Isidro, Lima - Perú • Telefax: 0051 (1) 221 5633 - 4220667
email: info@bcsp Peru.com • Web: www.kiwa.es / www.kiwabcs.com



Anexo del Certificado N°

PER-OXAMIEL-0165/02.19/0674

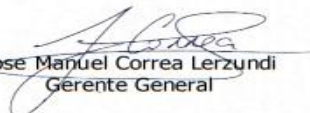
• **Producción agrícola:**

Producto	ha	ton	Estatus
Café pergamino	1.72	2.50	T3 hasta 04.2018

• **Producción apícola:**

Apiario	Cantidad	Estatus
Colmenas	93	Orgánico

Producto	ton	Estatus
Miel de abeja	3.00	Orgánico
Polen de flores silvestre	0.50	Orgánico
Propóleos	0.05	Orgánico
Jalea Real	0.002	Orgánico
Necktapol	xxx	Orgánico


Jose Manuel Correa Lerzundi
Gerente General

Kiwa BCS Öko Garantie Perú S.A.C

Dirección: Plaza 27 de Noviembre 430 Of. 2B San Isidro, Lima - Perú • Telefax: 0051 (1) 221 5633 - 4220667
email: info@bcsp Peru.com • Web: www.kiwa.es / www.kiwabcs.com



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - La Molina, Lima
Telf: (051) 736 9840
ventas@eopperu.com
www.EopPeru.com

Mg. C.D.Esp. Helder Myriam Ocampo Guabloche

Directora de la escuela de Estomatología
Universidad Alas Peruanas

Presente.-

De nuestra consideración, reciba los saludos cordiales a nombre de Essential Oils Perú.

Por medio de la presente tenemos a bien certificar que el producto ACEITE ESENCIAL DE MUÑA EOP (*Minthostachys mollis*) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de BARBARA LORENA CERVERA ROMERO con DNI N° 70988327 y código de alumno N° 2012116571 para su utilización en la investigación "COMPARACION IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE APIS MELLIFERA Y MINTHOSTACHYS MOLLIS SOBRE CEPAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS (ATCC 29212) DESPUÉS DE UNA PREPARACIÓN BIOMECÁNICA ENDODONTICA".

Atentamente,

Ing. Armando Noriega Chicco
Gerente General
Essential Oils Perú

