Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Odontología
Escuela Profesional de Odontología

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

José Antonio CALDERÓN MORENO

ASESOR

Mg. Rocío del Pilar BOCANEGRA ARISTA

Lima, Perú

2025



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Calderón J. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Escuela Profesional de Odontología; 2025.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	José Antonio Calderón Moreno
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77341296
URL de ORCID	https://orcid.org/0009-0000-3518-2703
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Mg. Esp. Rocío del Pilar Bocanegra Arista
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	40822470
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-6566-931X
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Dr. Donald Ramos Perfecto
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08435943
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Dr. Manuel Antonio Mattos Vela
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07463598
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	
Tipo de documento	
Número de documento de identidad	

Datos de investigación	
Línea de investigación	Terapia de las enfermedades y alteraciones estomatológicas
Grupo de investigación	BIOTECNOLOGÍA ESTOMATOLÓGICA
Agencia de financiamiento	Proyecto de investigación con financiamiento para grupos de investigación CON FIGI, esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – RR N° 005557-2022-R/UNMSM con código de proyecto A22050131.
Ubicación geográfica de la investigación	Universidad Nacional Mayor de San Marcos Edificio: Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Latitud: −12.0547 Longitud: −77.0855
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Enero 2024 – Diciembre 2025
URL de disciplinas OCDE	Odontología, Cirugía oral, Medicina oral https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.14

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ESCUELA PROFESIONAL

A C T A DE SUSTENTACIÓN PRESENCIAL N.º 031

Los Docentes que suscriben, reunidos el 12 de diciembre de 2025 en la ciudad de Lima, siendo las 13:00 horas, por encargo de la Señora Decana de la Facultad, con el objeto de constituir el Jurado de Sustentación para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista del Bachiller:

JOSÉ ANTONIO CALDERÓN MORENO

CERTIFICAN:

Que, luego de la Sustentación de la Tesis **«EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO DE ORIGEN PERUANO FRENTE A BACTERIAS ASOCIADAS A ENFERMEDAD PERIODONTAL»** y habiendo absuelto las preguntas formuladas, demostró un grado de aprovechamiento:

.....Bueno.....

(escala)

Siendo calificado con un promedio de: ...diecisiete... ...17...
(en letras) (en números)

En tal virtud, firmamos en la Ciudad Universitaria, a los doce días del mes de diciembre del año dos mil veinticinco.

PRESIDENTE DEL JURADO

Dr. Donald Ramos Perfecto

MIEMBRO SECRETARIO

Dr. Manuel Antonio Mattos Vela

MIEMBRO VOCAL (ASESORA)

Mg. Rocío del Pilar Bocanegra Arista

Escala de calificación: Grado de Aprovechamiento:
Sobresaliente (18-20), Bueno (15-17), Regular (12-14), Desaprobado (11 o menos)
Criterios: Originalidad, Exposición, Dominio del Tema, Respuestas.

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

Anexo 1
CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **Dra. Rocío Del Pilar Bocanegra Arista** en mi condición de asesor(a) acreditado(a) con el Dictamen de la EPO **N.º 0090-FO-EPO-2025** de la tesis, cuyo título es "**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO DE ORIGEN PERUANO FRENTE A BACTERIAS ASOCIADAS A ENFERMEDAD PERIODONTAL",**

presentado por el bachiller **CALDERÓN MORENO JOSÉ ANTONIO** para optar el título profesional de Cirujano Dentista.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el **13 %** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título profesional correspondiente.

Lima, 23 de noviembre de 2025



Firma de la Asesor(a)

Nombres y Apellidos del asesor(a): **ROCÍO DEL PILAR BOCANEGRA ARISTA**

DNI: 40822470

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor incondicional, su esfuerzo y por enseñarme que todo logro nace de la disciplina y la perseverancia. Gracias por ser mi mayor ejemplo y mi fortaleza en cada paso de mi vida.

A mis hermanos, por su compañía, apoyo y por recordarme siempre que los sueños se alcanzan con humildad y trabajo.

A mi pareja, por caminar a mi lado con paciencia, comprensión y aliento constante. Gracias por creer en mí incluso en los momentos más difíciles.

A cada uno de ustedes, dedico este logro que también es suyo.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi más profundo agradecimiento a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la Facultad de Odontología, por brindarme la formación académica y los valores que han guiado mi desarrollo profesional.

Mi especial gratitud a mi asesora, Dra. Rocío Bocanegra, por su dedicación, orientación constante y por acompañarme con paciencia y exigencia en cada etapa de esta investigación.

Agradezco también a las doctoras Margarita Requena y Tania Rosales, quienes me brindaron su apoyo, conocimientos y consejo oportuno, siendo un pilar fundamental durante el desarrollo de este proyecto.

Extiendo igualmente mi sincero reconocimiento a mi jurado, Dr. Donald Ramos y Dr. Manuel Mattos, por su guía académica, sus observaciones precisas y por exigirme siempre dar lo mejor de mí, contribuyendo significativamente a la calidad final de este trabajo.

Finalmente, a mi familia, por su apoyo incondicional, por su aliento diario y por ser mi mayor motivación para culminar con éxito este camino académico.

RESUMEN

Introducción: La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica relacionada con bacterias periodontopatógenas como *Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis)* y *Fusobacterium nucleatum (F. nucleatum)*. El tratamiento convencional con clorhexidina presenta limitaciones por sus efectos adversos y el riesgo de resistencia bacteriana, lo que impulsa la búsqueda de alternativas naturales como el propóleo peruano. **Objetivo:** Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo peruano frente a *P. gingivalis* y *F. nucleatum*. **Metodología:** Se realizó un estudio experimental *in vitro*. Se prepararon extractos en concentraciones de 12,5%, 25% y 50%. La actividad antibacteriana se evaluó mediante difusión en agar y dilución en caldo, empleando clorhexidina al 0,12% como control positivo y agua destilada como control negativo. **Resultados:** El extracto al 25% produjo halos de inhibición de 13 mm y 13,2 mm frente a *P. gingivalis* y *F. nucleatum* respectivamente. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 0,39 mg/mL para *P. gingivalis* y 1,56 mg/mL para *F. nucleatum*, lo que nos indica que *P. gingivalis* fue más susceptible al extracto. **Conclusión:** El extracto etanólico de propóleo peruano evidencia una actividad antibacteriana relevante, equiparable a la obtenida con la clorhexidina, lo que respalda su potencial como una alternativa terapéutica natural para el abordaje de la periodontitis.

Palabras clave: Própolis; Actividad antibacteriana; *Porphyromonas gingivalis*; *Fusobacterium nucleatum*; Enfermedades periodontales.

ABSTRACT

Introduction: Periodontitis is a chronic inflammatory disease associated with periodontopathogenic bacteria such as *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. Conventional treatment with chlorhexidine has limitations due to side effects and bacterial resistance, which encourages the search for natural alternatives such as Peruvian propolis. **Objective:** To evaluate the antibacterial effect of the ethanolic extract of Peruvian propolis against *P. gingivalis* and *F. nucleatum*. **Methodology:** An *in vitro* experimental study was carried out. Extracts at concentrations of 12.5%, 25%, and 50% were prepared. Antibacterial activity was assessed using agar diffusion and broth dilution methods, with 0.12% chlorhexidine as a positive control and distilled water as a negative control. **Results:** The extract at 25% produced inhibition zones of 13 mm and 13.2 mm against *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, respectively. The minimum inhibitory concentration was 0.39 mg/mL for *P. gingivalis* and 1.56 mg/mL for *F. nucleatum*, confirming greater susceptibility of the former. **Conclusion:** The Peruvian ethanolic propolis extract shows significant antibacterial activity, comparable to that obtained with chlorhexidine, which supports its potential as a natural therapeutic alternative for the management of periodontitis.

Keywords: Propolis; Antibacterial activity; *Porphyromonas gingivalis*; *Fusobacterium nucleatum*; Periodontal diseases.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN 10
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 12
2.1 Área del problema 12
2.2 Delimitación del problema 13
2.3 Formulación del problema 14
2.4 Objetivos de la investigación 14
2.4.1 Objetivo general 14
2.4.2 Objetivos específicos 14
2.5 Justificación de la investigación 15
2.6 Limitaciones 15
III. MARCO TEÓRICO 17
3.1 Antecedentes 17
3.2 BASES TEÓRICAS 21
3.2.1 La enfermedad periodontal 21
3.2.2 Clasificación de las enfermedades periodontales 22
3.2.3 MICROORGANISMO 23
3.2.4 Principales microorganismos 24
3.2.5. PROPÓLEO 27
3.2.6 CLORHEXIDINA 33
3.3 DEFINICION DE TÉRMINOS 35
3.4 HIPÓTESIS 36
3.4.1 HIPÓTESIS GENERAL 36
3.4.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICA 36
IV. METODOLOGÍA 39
4.1 Tipo y diseño de la investigación 39
4.2 Población y muestra 39
Población 39

Muestra 39
4.3 Técnica, procedimiento e instrumento de recolección de datos 39
4.3.1 Procesamiento de la muestra 39
4.3.2 Análisis microbiológico 40
4.3.3 Aspectos éticos 40
4.3.4 Recolección de propóleos 41
4.3.5 Preparación del extracto etanólico de propóleos 41
4.3.6 Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos 41
4.3.7 Determinación de concentración mínima inhibitoria (MIC) 43
4.4 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS 44
V. RESULTADOS 45
VI. DISCUSIÓN 51
VII. CONCLUSIONES 55
VIII. RECOMENDACIONES 56
IX. BIBLIOGRAFÍA 57
X. ANEXOS 65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo y controles sobre cepas de *Fusobacterium nucleatum*

Tabla 02. Comparación del halo inhibitorio para *Fusobacterium nucleatum* generado por el extracto etanólico de propóleo entre grupos experimentales y control positivo

Tabla 03. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de propoleo y controles sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*

Tabla 04. Comparación del halo inhibitorio para *Porphyromonas gingivalis* generado por el extracto etanólico de propóleo entre grupos experimentales y control positivo

Tabla 05. CMI Extracto etanólico de Oxapampa

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 01. Distribución de los valores de halos de inhibición del extracto etanólico de propóleo frente a *Fusobacterium nucleatum*

Figura 02. Distribución de los valores de halos de inhibición del extracto etanólico de propóleo frente a *Porphyromonas gingivalis*

Figura 03. Medición de halos de inhibición *F. nucleatum*

Figura 04. Medición de halos de inhibición *P. gingivalis*

Figura 05. Diseño de la microplaca post incubación

I. INTRODUCCIÓN

La salud bucal es un componente esencial del bienestar general del ser humano y se relaciona estrechamente con la salud sistémica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce a las enfermedades bucodentales como un importante problema de salud pública, afectando a más del 45% de la población mundial. Entre estas enfermedades, la periodontitis ocupa un lugar destacado debido a su alta prevalencia, su carácter crónico y su asociación con enfermedades sistémicas como diabetes, enfermedades cardiovasculares e incluso complicaciones en el embarazo.

A nivel microbiológico, la cavidad oral constituye un ecosistema complejo en el que habitan más de 700 especies bacterianas. Estas bacterias forman estructuras organizadas conocidas como biopelículas o biofilms, las cuales se adhieren a las superficies dentales y gingivales. La interacción entre diversos factores como la flora bacteriana, el sistema inmunológico del huésped y los hábitos de higiene determina la progresión de enfermedades periodontales. Particularmente, especies como *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* han sido ampliamente asociadas con la destrucción del periodonto y la pérdida de soporte dental.

El abordaje convencional de estas patologías incluye el control mecánico del biofilm, combinado con terapias antimicrobianas locales o sistémicas. Sin embargo, el uso prolongado de antibióticos ha generado efectos adversos, como desequilibrios en la microbiota, hipersensibilidad y, sobre todo, el desarrollo de resistencia bacteriana. Ante este escenario, la búsqueda de alternativas terapéuticas más seguras y sostenibles ha cobrado gran relevancia, especialmente aquellas basadas en productos naturales con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias.

En este contexto, el propóleo “una resina producida por abejas a partir de exudados vegetales” ha demostrado poseer una notable actividad biológica atribuida a su riqueza en compuestos fenólicos, flavonoides y ésteres aromáticos. El propóleo peruano, en particular, destaca por sus propiedades únicas derivadas de la diversidad botánica y condiciones ambientales del país.

Diferentes estudios han evidenciado que el extracto etanólico de propóleo tiene capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas, mostrando resultados prometedores en el ámbito odontológico.

Este estudio se enfoca en determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias periodontopatógenas, específicamente *P. gingivalis* y *F. nucleatum*. A través de un diseño experimental *in vitro*, se evaluó la capacidad inhibitoria mediante técnicas microbiológicas estandarizadas. La presente investigación no solo busca validar el potencial terapéutico de un recurso natural nacional, sino también contribuir a la generación de alternativas eficaces, accesibles y sostenibles para el tratamiento de la enfermedad periodontal.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1 Área del problema

La boca se percibe como un ecosistema que alberga una amplia variedad de más de 700 especies bacterianas. La presencia y colonización de estas bacterias desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de la salud bucal, siendo los causantes de formación de placa dental, microbiota, y más recientemente, biofilms o biopelículas, que afectan las encías y los tejidos periodontales. (1)

Los biofilms son agrupaciones microbianas diversas rodeadas por una matriz de polímeros intracelulares. Las bacterias en la cavidad oral más importantes en la adherencia inicial al esmalte dental son *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, que utilizan las proteínas de adhesión como la glucosiltransferasa (enzimas que ayudan a construir y modificar las cadenas de carbohidratos). Con la posterior degradación de la sacarosa, se genera la formación de la matriz extracelular, con la participación de bacterias como *Prevotella*, *Veillonella* y *Actinomyces*, las cuales se caracterizan por adherirse a la película adquirida mediante fuerzas electrostáticas. Estos colonizadores desempeñan un papel esencial en procesos como la adhesión inicial y el desarrollo de estructuras biofilmáticas (comunidades microbianas que se adhieren a superficies y están envueltas en una matriz de sustancias que ellas mismas producen) en la cavidad bucal. (2)

En el proceso de formación del biofilm, la adhesión inicial implica la participación fundamental de flagelos y fimbrias en bacterias Gram negativas, mientras que la motilidad no es esencial, permitiendo que bacterias Gram positivas como estafilococos y estreptococos desarrollen biofilms. Inicialmente, la película adquirida se localiza en áreas rugosas, como las zonas interdentales y oclusales del diente. Con el tiempo, se expande hacia el surco dental, influenciada por cambios en el entorno, como el pH, los iones y la temperatura. Estas condiciones propician la colonización de microorganismos anaerobios, especialmente *Prevotella* y *Porphyromonas*, alterando la patogenicidad del biofilm oral y generando modificaciones clínicas asociadas a las enfermedades periodontales. (3)

El biofilm dental desempeña un papel crucial en la patogénesis de diversos problemas que afectan la cavidad bucal, tales como la halitosis, la formación de cálculos dentales, las enfermedades periodontales y la gingivitis. Además, tiene

una influencia significativa en la prevalencia y gravedad de la caries dental, una afección de gran importancia y frecuencia. (4)

El manejo eficaz de las enfermedades infecciosas originadas por el biofilm dental representa un desafío a nivel global. En lugar de buscar la eliminación directa del biofilm, los enfoques terapéuticos deben dirigirse hacia el control del comportamiento bacteriano. Se ha observado que el consumo de probióticos resulta efectivo en la prevención de caries y enfermedades periodontales al mejorar el pH salival y reducir el índice de placa. Tecnologías como la arginina debilitan las bacterias cariogénicas, gracias a su ayuda en la producción de óxido nítrico, e influyendo en el pH oral, así promueven la presencia de bacterias beneficiosas y contribuyen al mantenimiento de un entorno oral saludable. La combinación de limpiezas profesionales, educación sobre el control del biofilm y estrategias personalizadas basadas en el riesgo y la patología periodontal se revela como un enfoque preventivo eficaz. La clorhexidina ha demostrado resultados positivos en la prevención y control de enfermedades periodontales, mientras que otros estudios consideran experiencias anteriores y exploran las propiedades antibacterianas de los derivados de las plantas. (5)

El propóleo exhibe diversas propiedades, entre las que resalta su efecto antimicrobiano, especialmente notable contra bacterias Gram positivas. Se plantea que esta capacidad se debe a la acción de compuestos flavonoides como la pinocembrina y la galangina, junto con el fenil éster del ácido cafeico. Su mecanismo de acción involucra la inhibición de la RNA polimerasa bacteriana. La composición del propóleo es altamente compleja y varía según la región, influenciada por factores como temperatura, tipo de suelo, humedad y exposición solar. (5,6)

2.2 Delimitación del problema

Las enfermedades periodontales son problemas inflamatorios prolongados que se presentan mayormente como gingivitis, causada por la acumulación de placa dental, y periodontitis. Estas inflamaciones afectan los tejidos que sostienen y protegen los dientes, capaces de llevar, en etapas avanzadas, a la pérdida de dientes. Sin embargo, en sus fases tempranas, como la gingivitis, es posible revertirla mediante medidas preventivas y un tratamiento y control adecuados. (6)

La inclinación actual hacia productos naturales ha motivado la investigación de extractos etanólicos de propóleo de plantas medicinales en el ámbito odontológico, debido a que es un producto balsámico y resinoso de composición química compleja y variable, y se considera una matriz con alto potencial biotecnológico. Diversos estudios han demostrado diferentes propiedades biológicas de los extractos de propóleo, como antioxidante, antimicrobiano, antivírico, antiparasitario, antitumoral, inmunomodulador, antiinflamatorio,y propiedades hepato-protectoras.(6,7)

Estudios *in vitro* que evidencian la eficacia de estos extractos contra bacterias periodontopatógenas podrían respaldar el desarrollo de productos asequibles y naturales, como colutorios, para tratar las afecciones periodontales. El enfoque se centrará en un modelo *in vitro* para examinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo experimental, limitándose a condiciones controladas de laboratorio. (7)

2.3 Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal?

2.4 Objetivos de la investigación

2.4.1 Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal.

2.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (25%; 12,5%; 10%; 5%) de origen peruano sobre cepas de *Fusobacterium nucleatum (F. nucleatum)*.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo (25%; 12,5%; 10%; 5%) de origen peruano sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis (P. gingivalis).*
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal.

2.5 Justificación de la investigación

Las afecciones periodontales son una condición común en la práctica profesional, y aunque su tratamiento principal es mecánico, el uso de antimicrobianos se ha integrado como un enfoque complementario. Sin embargo, estudios han revelado efectos adversos asociados al uso indiscriminado de antimicrobianos.

El propóleo ha demostrado propiedades antimicrobianas en investigaciones anteriores. A pesar de esto, su aplicación específica como agente antibacteriano experimental para abordar el biofilm dental vinculado a enfermedades periodontales requiere una evaluación minuciosa. Comprender el impacto de un enjuague de propóleo podría llevar al desarrollo de terapias alternativas para el control del biofilm y la prevención de enfermedades periodontales.

2.6 Limitaciones

El presente trabajo presenta algunas limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. En primer lugar, al tratarse de un estudio *in vitro*, los hallazgos no pueden extrapolarse de manera directa a las condiciones clínicas, ya que en la cavidad oral intervienen factores biológicos como el flujo salival, la microbiota residente, el pH y la respuesta inmunológica, los cuales pueden modificar el efecto antimicrobiano observado. Asimismo, se emplearon cepas bacterianas de referencia (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586), lo que garantiza reproducibilidad, pero limita la generalización, dado que las cepas clínicas podrían presentar comportamientos diferentes o resistencia adquirida. Si bien se utilizó clorhexidina al 0,12% como control positivo, no se realizó un análisis estadístico comparativo directo con el extracto de propóleo, por lo que no se puede afirmar con certeza si su eficacia es equivalente o superior en términos clínicos. De igual modo, no se efectuó una caracterización fitoquímica detallada del extracto, lo cual impide identificar y cuantificar los compuestos bioactivos responsables del efecto observado; este aspecto es relevante, pues la composición del propóleo varía de acuerdo con el origen geográfico y botánico, lo que puede condicionar diferencias en los resultados.

Finalmente, el rango de concentraciones evaluadas fue limitado (6,25%, 12,5% y 25%) y las pruebas se restringieron a métodos de difusión en agar y dilución en caldo, por lo que no se pudo establecer una curva dosis–respuesta más amplia ni explorar metodologías complementarias, como microdilución en placa o ensayos en biofilm, que permitirían un análisis más integral.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedentes

Vargas Gonzales (2024) evaluó la capacidad antimicrobiana de un enjuague bucal formulado con extracto etanólico de propóleo frente a *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*. El trabajo se desarrolló bajo un diseño experimental *in vitro*, donde el extracto fue previamente caracterizado mediante análisis fitoquímico y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para determinar la sensibilidad bacteriana se aplicó el método de Kirby-Bauer, estableciéndose además la concentración mínima bactericida (CMB), que alcanzó un valor de 30,53 mg/mL. Los hallazgos evidenciaron que el enjuague elaborado con propóleo produjo halos de inhibición más amplios que los obtenidos con clorhexidina al 0,12%, registrando diámetros de 29,7 mm y 28,40 mm frente a las cepas evaluadas. En consecuencia, se concluyó que la formulación a base de propóleo presentó un efecto antibacteriano superior al agente convencional de referencia. (8)

Stigler Chuquipiondo (2021) exploró una alternativa terapéutica para la periodontitis y otras enfermedades periodontales. Se trabajó con un total de 36 placas Petri inoculadas con *P. gingivalis*, distribuidas en tres grupos: 12 tratadas con extracto etanólico de *E. giganteum*, 12 con clorhexidina al 0,12% como control positivo y 12 con agua destilada como control negativo. Se observó que el extracto al 25% no generó actividad inhibitoria, mientras que al 100% evidenció sensibilidad frente a la bacteria. A las 24 horas, el extracto puro alcanzó halos de 13,50 mm en comparación con los 12,50 mm de la clorhexidina, y a las 48 horas se registraron diámetros de 13,80 mm y 12,50 mm respectivamente, confirmando su eficacia. (9)

Isaza y Ocampo (2023) desarrollaron fibras naturales con propiedades antibacterianas, observando que el extracto de propóleo mostro una eficacia significativa frente a *Streptococcus mutans*, mediante un diseño experimental *in vitro*. Se elaboraron nanofibras electrohiladas incorporando propóleo y, como grupo control, se emplearon nanofibras de PCL sin modificar. Posteriormente, las fibras fueron caracterizadas mediante microscopía óptica y electrónica de

barrido (SEM), además de evaluarse su comportamiento biológico a través del método de difusión en disco de agar. Los resultados indicaron que las fibras de PCL presentaron un grosor promedio de 7,8 µm (±3,6), mientras que las fibras con propóleo registraron 7,9 µm (±4,0). Los extractos etanólicos de propóleo al 30% (experimental) y los extractos comerciales en concentraciones de 30%, 40%, 50% y 60% generaron halos de inhibición entre 1,4 y 3,5 mm. Se observó que las membranas de PCL impregnadas con propóleo comercial al 60% llegaron a disolverse, en tanto que a concentraciones menores no se evidenció actividad antimicrobiana significativa. En conclusión, tras 24 horas, las formulaciones de propóleo comercial por debajo del 60% no mostraron diferencias relevantes respecto a su acción antibacteriana. (10)

Lisbona-Gonzales *et al*. (2021) evaluaron el efecto del extracto de propóleo español (EEP) como complemento del raspado y alisado radicular en pacientes con periodontitis crónica bajo terapia de soporte. Cuarenta pacientes fueron divididos aleatoriamente en dos grupos: uno con tratamiento estándar y otro con EEP. Se evaluaron parámetros como el índice de placa, la profundidad de sondaje (PPD), el sangrado al sondaje (BOP), el nivel de inserción clínica (CAL) y la placa subgingival. Ambos grupos mostraron mejoras clínicas, pero el grupo con EEP tuvo reducciones más significativas en BOP y en las bacterias patógenas claves (*Tannerella forsythensis* y *P. gingivalis*). El EEP demostró potencial profiláctico y terapéutico en enfermedades periodontales, siendo una modalidad prometedora como adyuvante en la terapia periodontal. (11)

Checalla (2020) caracterizó químicamente un extracto etanólico de propóleo peruano y evaluó su acción antimicrobiana frente a *Streptococcus mutans*. Se trató de una investigación *in vitro*, de tipo analítica, prospectiva, transversal y experimental. Se emplearon 150 gramos de propóleo recolectado en la región de Tacna, el cual fue almacenado en frascos esterilizados y posteriormente procesado hasta obtener el extracto en polvo fino. A partir de este se prepararon soluciones al 25%, 50% y 75% mediante dilución en agua destilada. La actividad antibacteriana se determinó utilizando el método de difusión en disco en agar Brain Heart, previamente inoculado con *S. mutans*, registrándose los halos de inhibición con la ayuda de un compás Vernier. Los

resultados demostraron que los terpenos, diterpenos y terpenoides presentes en el propóleo mostraron efecto inhibitorio en todas las concentraciones analizadas. Como control positivo se utilizó clorhexidina al 0,12%, la cual alcanzó halos entre 21 y 29 mm, mientras que las concentraciones de propóleo lograron valores promedio de 14 a 19 mm. Se concluyó que el extracto presenta una actividad antimicrobiana significativa frente a *S. mutans*, aunque en menor grado que la clorhexidina. (12)

Nazeri *et al.* (2019) evaluaron las propiedades antimicrobianas del propóleo y analizaron su factibilidad como enjuague bucal con bajo riesgo de efectos adversos. Se trató de un estudio experimental *in vitro* en el que se estableció la CMI frente a cuatro especies bacterianas, entre ellas *Streptococcus mutans*, utilizando el método de dilución en agar triptosa. Se recolectaron muestras de saliva de ratas en tres momentos: a las 12 horas, una semana y dos semanas posteriores al uso del enjuague de propóleo, las cuales fueron analizadas mediante PCR en tiempo real. Los resultados mostraron que el nivel basal de *S. mutans* no presentó variaciones significativas ($p=0,843$); sin embargo, para *S. aureus*, *E. faecalis* y *L. acidophilus* se evidenciaron diferencias relevantes entre los grupos desde la medición inicial. El análisis estadístico confirmó una reducción significativa de colonias de *S. mutans* con el enjuague de propóleo ($p<0,05$) en comparación con clorhexidina ($p=0,024$) y Listerine ($p=0,001$). En conclusión, el enjuague bucal formulado con propóleo resultó más eficaz en la disminución de bacterias orales en comparación con los agentes convencionales evaluados. (13)

Becerra *et al.* (2019) compararon la acción antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleo recolectados en diferentes estaciones del año sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Para ello, se obtuvieron muestras de propóleo en verano y otoño, las cuales fueron codificadas como “A” y “B” por un tercero ajeno a la investigación. A partir de estas, se prepararon extractos etanólicos al 5% que fueron sometidos a pruebas de eficacia antimicrobiana mediante la siembra en placas de agar, distribuidas en cuatro grupos que incluyeron los extractos experimentales y los controles: clorhexidina al 0,12% (positivo) y etanol al 96% (negativo). Los resultados mostraron halos de inhibición de 26,4 ± 2,6 mm para el propóleo recolectado en otoño y de 18,2 ±

1,8 mm para el de verano, mientras que los controles presentaron 0 mm y 13 mm, respectivamente. Estos hallazgos evidencian que el propóleo de otoño ejerció una mayor actividad antibacteriana que el de verano, lo que refuerza la influencia de la estacionalidad en el perfil biológico del propóleo. (14)

Alvarez Quiroz (2014) determinó en condiciones de laboratorio la acción antibacteriana del extracto etanólico de propóleo de abejas (*Apis mellifera*) frente a *Enterococcus faecalis*. El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo, utilizando un total de 80 placas Petri, organizadas en cinco grupos de 16 placas más un grupo control, en la evaluación se midieron los halos de inhibición mediante un calibrador Vernier, obteniéndose valores promedio que oscilaron entre 10 mm y 18 mm, según la concentración del extracto. Los mayores halos se observaron en las concentraciones del 75% y 100%, mientras que en el grupo control negativo no se evidenció zona de inhibición. Cada grupo fue tratado con medio Müller Hinton combinado con el extracto y la cepa bacteriana correspondiente. Para la evaluación se aplicaron pruebas de concentración mínima bactericida (CMB) y ensayos de susceptibilidad bacteriana. Los resultados confirmaron que el extracto ejerció actividad antimicrobiana *in vitro* contra *E. faecalis*, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones del 25% y 75% (p=0,024), así como entre el 25% y el 100% (p=0,025), mientras que no se observaron diferencias con la concentración del 50%. En cuanto a la prueba de susceptibilidad, se identificó una diferencia significativa entre el 25% y las demás concentraciones, sin que existieran variaciones relevantes entre estas últimas. (15)

Díaz Suyo y Proaño de Casallno (2011) evaluaron la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa, Perú, en concentraciones del 1%, 5% y 10%, frente a *P.gingivalis* y *F. nucleatum*, utilizando gluconato de clorhexidina al 0,2% como referencia. La determinación de la actividad se efectuó mediante el método de difusión en agar, midiendo los halos de inhibición con un calibrador Vernier. Los resultados mostraron que el extracto al 10 % generó halos de inhibición promedio de 13 mm frente a *P. gingivalis* y de 12 mm frente a *F. nucleatum***,** mientras que las concentraciones del 1 % y 5 % produjeron halos menores, entre 8 y 10 mm. En

comparación, el control positivo (gluconato de clorhexidina al 0,2 %) presentó halos de 14 mm para ambas cepas, sin diferencias estadísticamente significativas respecto al extracto al 10 % ($p > 0,05$). Para el análisis de datos se aplicaron la prueba t de Student y la prueba U de Mann-Whitney, encontrándose que la concentración del 10% del extracto de propóleo presentó una mayor eficacia frente a ambas cepas periodontopatógenas en comparación con el gluconato de clorhexidina. (16)

Reyes Collahuacho (2010) evaluó la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo peruano (EEPP) frente a cultivos de bacterias anaerobias asociadas a periodontitis crónica, considerando como control positivo la clorhexidina al 0,12%. La muestra estuvo conformada por 15 pacientes diagnosticados clínica y radiográficamente con periodontitis crónica en la Clínica de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Para la recolección se emplearon conos de papel estériles #30, los cuales fueron introducidos en los sacos periodontales durante 30 segundos y posteriormente trasladados al laboratorio de microbiología para su análisis. La evaluación se realizó mediante el método de difusión en discos, incubando las placas a 37 °C bajo condiciones de anaerobiosis durante 24 y 48 horas. Tras la incubación, se midieron los diámetros de los halos de inhibición, registrándose valores promedio de 15 mm para el EEPP y de 13 mm para la clorhexidina al 0,12 %. Los hallazgos mostraron que el EEPP ejerció un efecto antibacteriano más potente que la clorhexidina al 0,12% sobre los cultivos de bacterias anaerobias aisladas de pacientes con periodontitis crónica. (17)

3.2 **BASES TEÓRICAS**

3.2.1 La enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal constituye un proceso inflamatorio que compromete los tejidos de soporte dentario y se considera una de las patologías bucales más comunes, con una prevalencia global estimada entre el 20% y el 50% de la población. Su desarrollo se caracteriza por la pérdida progresiva de las estructuras de inserción, originada por la acción de bacterias específicas, cuya presencia por sí sola no resulta suficiente para producir la enfermedad, ya que

se requiere además de un huésped con susceptibilidad biológica. A diferencia de la gingivitis, que se manifiesta únicamente con inflamación gingival, edema y sangrado durante el cepillado, la periodontitis presenta características histológicas como formación de bolsas periodontales, migración apical de la unión epitelial, disminución de fibras colágenas, elevada concentración de leucocitos polimorfonucleares y avance del infiltrado inflamatorio hacia el tejido conectivo. (18)

En América del Sur, se ha reportado que la mayoría de los países presentan una prevalencia superior al 15%. La higiene oral deficiente constituye el principal factor causal, aunque existen otros factores de riesgo que favorecen su aparición y progresión. A nivel global, la Organización Mundial de la Salud reconoce a las enfermedades periodontales como un problema de salud pública que afecta especialmente a poblaciones vulnerables y de bajos recursos, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Junto con otras afecciones orales como la caries, el edentulismo, el cáncer orofaríngeo, las lesiones de la mucosa, el trauma orofacial y las manifestaciones orales del VIH/SIDA, representan condiciones que impactan de manera significativa en la alimentación, la masticación, la comunicación, la estética y, en general, en la calidad de vida. (19)

La identificación de una enfermedad como problema de salud pública depende de criterios como su magnitud y distribución, el grado de afectación social, psicológica y económica, los elevados costos de tratamiento y la existencia de métodos preventivos o terapéuticos efectivos. Todos estos parámetros se cumplen en la enfermedad periodontal, lo que la sitúa como uno de los principales desafíos para los sistemas de salud, dado su peso en la morbilidad global, los elevados gastos asociados a su manejo (siendo la cuarta condición bucal más costosa de tratar) y la posibilidad de implementar medidas preventivas costo-efectivas. (20)

3.2.2 Clasificación de las enfermedades periodontales

La clasificación de las enfermedades periodontales constituye una herramienta fundamental para la práctica clínica, ya que permite organizar de manera sistemática las diferentes formas de presentación de estas patologías. La más

reciente propuesta, establecida en el año 2017, aporta un marco actualizado que incorpora criterios clínicos y biológicos más precisos. Este sistema reconoce la periodontitis en función de estadios y grados, la describe también como manifestación de enfermedades sistémicas y considera dentro de la clasificación a las formas necrosantes. Asimismo, introduce un apartado específico relacionado con las condiciones de salud y enfermedad periimplantaria. En este esquema, el estadio refleja la severidad del daño periodontal y la dificultad que implica su manejo terapéutico, mientras que el grado hace referencia a la velocidad de progresión y a la probabilidad de recurrencia de la enfermedad.

La nueva clasificación de la enfermedad periodontal abarca cuatro grandes grupos, los cuales se conforman de la siguiente manera:(21,22)

I. Salud Periodontal, enfermedades y condiciones gingivales	II.Formas de periodontitis	III. Manifestaciones periodontales de las enfermedades sistémicas y condiciones del desarrollo y adquiridas.	IV. Enfermedades y condiciones periimplantarias
- Salud periodontal y salud gingival - Gingivitis inducida por biopelícula dental - Enfermedades gingivales no inducidas por biopelícula dental	- Enfermedades periodontales necrosantes - Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas. - Periodontitis	- Enfermedades y condiciones sistémicas que afectan el aparato de inserción periodontal. - Abscesos periodontales y lesiones mucogingivales alrededor de los dientes. - Fuerzas oclusales traumáticas. - Factores relacionados al diente y prótesis.	- Salud periimplantaria - Mucositis periimplantaria - Periimplantitis - Deficiencias de los tejidos blando y duro periimplantarios.

Fuente. Classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions 2017.

3.2.3 MICROORGANISMO

3.2.3.1 MICROORGANISMO ASOCIADOS

Los mecanismos patogénicos exactos de la periodontitis no se comprenden completamente, pero la susceptibilidad del paciente a los patógenos periodontales es crucial para la destrucción del ligamento periodontal y el hueso alveolar, influyendo en la severidad y rapidez de la enfermedad. Los productos de secreción bacteriana también favorecen la destrucción periodontal. Aunque las bacterias asociadas a la periodontitis pueden estar presentes en el biofilm

dental, la aparición de la enfermedad depende de factores conductuales o inherentes del huésped. Se han identificado entre 800 y 1000 especies bacterianas en la cavidad oral, con aproximadamente 50 consideradas agentes etiológicos de la periodontitis. Entre las más patógenas están *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, y *F. nucleatum*. La diversidad de estas bacterias varía según la región geográfica. (23)

F. nucleatum, una especie del género *Fusobacterium* en la familia Bacteroidaceae, es un bacilo Gram negativo, anaerobio estricto con forma de huso. Se divide en cinco subespecies y es conocido por su capacidad para causar gingivitis y periodontitis a través de su principal factor de virulencia, FadA, que facilita la adhesión y colonización. Además, produce enzimas y lipopolisacáridos que fomentan la inflamación y el daño tisular. Actúa como un comensal puente en el biofilm dental y puede diseminarse a través de la sangre, afectando a diversas patologías, incluyendo cáncer colorrectal. El tratamiento incluye antibióticos como clindamicina y metronidazol, y se investigan nuevas alternativas dirigidas a los factores de virulencia del microorganismo (24)

3.2.4 Principales microorganismos

3.2.4.1 Fusobarterium nucleatum

Fusobacterium nucleatum cuenta con una amplia gama de factores de virulencia, los cuales emplea para adherirse e invadir el tejido infectado, así como para facilitar su unión con otros microorganismos presentes en la microbiota oral. Estos factores de virulencia no sólo contribuyen a la patogénesis de la periodontitis, sino también a otras enfermedades extraorales como el cáncer colorrectal. Entre estos factores se incluyen el lipopolisacárido (LPS), diversas adhesinas y una serie de enzimas conocidas como serina proteasas, que son utilizadas para degradar el tejido periodontal y obtener nutrientes.

F. nucleatum tiene un papel importante en la patogénesis de la periodontitis al adherirse e invadir células epiteliales gingivales (GECs), lo que desencadena la secreción de IL-8. Además, su lipopolisacárido (LPS) induce la expresión de IL-8 y TNF-α en estas células. En estudios con macrófagos, el LPS de *F. nucleatum* aumenta la secreción de citoquinas proinflamatorias sin afectar el proceso apoptótico, lo que puede provocar resorción ósea en el contexto de la

periodontitis. Las adhesinas de *F. nucleatum*, como FadA, Fap2 y RadD, facilitan su unión e invasión a varios tipos celulares, siendo RadD crucial para la interacción con organismos de la microbiota oral y actuar como puente para *F. nucleatum*. (25)

3.2.4.2 Interacción entre F. nucleatum y P. gingivalis.

Porphyromonas gingivalis y *Fusobacterium nucleatum* se localizan principalmente en la zona subgingival, formando parte de la biopelícula que se desarrolla en dicho entorno. En esta área, el pH neutro favorece la proliferación de *P. gingivalis*. No obstante, en el interior de las bolsas periodontales, la destrucción de los tejidos del periodonto libera compuestos nitrogenados que pueden acidificar el medio. En estas condiciones, *F. nucleatum* actúa como regulador, ya que produce sustancias de carácter básico que ayudan a restablecer un pH neutro. Además, se ha demostrado que *F. nucleatum* facilita la persistencia de *P. gingivalis* en ambientes con presencia de oxígeno, permitiéndole colonizar incluso la biopelícula supragingival. Esto convierte a la biopelícula supragingival en un reservorio desde el cual es posible la reinfección y la propagación continua de *P. gingivalis*. (25)

Las interacciones entre *P. gingivalis* y *F. nucleatum* también modifican el nivel de virulencia de *P. gingivalis*, ya que generan alteraciones en la expresión de diversas proteínas que incrementan su capacidad invasiva y su agresividad patogénica. Asimismo, la presencia conjunta de ambas bacterias intensifica la inflamación y la resorción ósea, lo cual se asocia con un mayor deterioro de los tejidos orales. Estudios realizados en modelos murinos indican que la coinfección puede elevar el riesgo de desarrollar cáncer oral mediante la activación de rutas oncogénicas, entre ellas la vía STAT3. En investigaciones *in vitro* con cultivos celulares, se ha observado que esta activación está vinculada a la estimulación del receptor TLR y del factor de transcripción NF-κB, desencadenando una producción aumentada de citocinas proinflamatorias como IL-6 y TNF-α. (25,26)

3.2.4.3 Porphyromonas gingivalis

La *Porphyromonas gingivalis* es un cocobacilo Gram negativo, anaerobio estricto, considerado uno de los principales patógenos asociados a la

periodontitis crónica. Sus colonias presentan pigmentación oscura (marrón a negro) producto de la acumulación de hemina en su membrana externa, lo que le otorga un aspecto característico en medios de cultivo. Morfológicamente mide entre 0,5–0,8 µm de diámetro y 1,0–3,5 µm de longitud, carece de motilidad y no fermenta azúcares, lo cual la diferencia de otras bacterias periodontopatógenas. (26)

La virulencia de *P. gingivalis* está relacionada con una amplia gama de factores, entre ellos las gingipaínas (proteasas dependientes de cisteína), la cápsula, las fimbrias y los lipopolisacáridos (LPS), que en conjunto favorecen la evasión de la respuesta inmune y la destrucción tisular. Estos mecanismos permiten a la bacteria inducir una disbiosis en la microbiota oral, transformando una placa bacteriana inicialmente comensal en un biofilm patogénico. Además, posee la capacidad de invadir células epiteliales y endoteliales, persistiendo intracelularmente y generando un estado inflamatorio sostenido.

En la periodontitis, *P. gingivalis* no solo actúa como un microorganismo oportunista, sino también como un “patobionte clave” o keystone pathogen, capaz de modular la respuesta inflamatoria del hospedero, amplificando el daño tisular más allá de su propia abundancia. Este papel ha sido ampliamente documentado y se asocia con la pérdida de inserción periodontal, reabsorción ósea alveolar y progresión de la enfermedad. De igual forma, estudios recientes han evidenciado que la presencia de *P. gingivalis* podría tener implicancias sistémicas, vinculándose con enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, artritis reumatoide e incluso alteraciones neurodegenerativas como el Alzheimer, lo que resalta su relevancia en la salud oral y general.

Recientemente se ha comprobado que *P. gingivalis* puede aprovechar el receptor de adenosina A2a, un receptor de membrana vinculado a la señalización de adenosina. A través de este mecanismo, este microorganismo puede multiplicarse y mantenerse vivo dentro de las células epiteliales de la mucosa oral, posiblemente al regular de manera negativa la respuesta proinflamatoria.

P. gingivalis no solo altera la respuesta inmunológica del hospedero, sino que también presenta importantes estructuras de virulencia como las fimbrias, que favorecen su adhesión al epitelio y al biofilm dental, y una cápsula polisacárida que le confiere resistencia frente a la fagocitosis. A ello se suma su capacidad de secretar un amplio repertorio de enzimas hidrolíticas y proteolíticas, entre las que se incluyen proteasas tipo tripsina (gingipaínas), colagenasas, gelatinasas, fosfolipasas, fosfatasas (alcalinas y ácidas), aminopeptidasas e hialuronidasas. Todas estas enzimas actúan de manera sinérgica en la degradación de proteínas estructurales y componentes de la matriz extracelular, facilitando la invasión bacteriana, el debilitamiento de los tejidos periodontales y la progresión del proceso inflamatorio crónico característico de la enfermedad periodontal. (27)

3.2.5. PROPÓLEO

El término *propóleo* proviene del griego *propolis*, donde *pro* se interpreta como “protección” o “defensa” y *polis* como “ciudad” o “comunidad”. Este producto es elaborado por las abejas a partir de resinas vegetales que son modificadas mediante sus secreciones enzimáticas, dando origen a una sustancia utilizada para proteger la colmena contra microorganismos patógenos, principalmente bacterias y hongos, además de servir para cubrir grietas y reforzar la estructura del panal. Diversos registros históricos indican que civilizaciones antiguas, como la egipcia, persa, griega y romana, incorporaron el propóleo dentro de su medicina tradicional, aplicándolo para promover la cicatrización, aliviar trastornos respiratorios y como ungüento terapéutico, especialmente durante el periodo barroco.

El propóleo es una sustancia resinosa cuyo color puede oscilar desde tonalidades castañas hasta negras, variando según la flora de origen. Su composición química es compleja, ya que resulta de la mezcla de múltiples compuestos naturales procedentes de exudados de hojas, flores, cortezas y brotes que las abejas recolectan en las inmediaciones de la colmena. Posee un sabor ligeramente amargo y un aroma dulce característico, desprendiendo una fragancia particular cuando se calienta. En el caso del propóleo peruano, destaca su elevada calidad y potencia biológica; además, su extracto etanólico mantiene una gran parte de las propiedades bioactivas tradicionalmente atribuidas a este producto. (28)

El extracto etanólico de propóleo es una formulación obtenida a partir de la resina que las abejas recolectan de las yemas y otras partes de los árboles, la cual posteriormente es sometida a un proceso de extracción para su uso en aplicaciones terapéuticas y cosméticas. Este producto natural posee una composición química diversa, integrada por flavonoides, compuestos fenólicos, ácidos fenólicos, ésteres y otros metabolitos bioactivos que le confieren sus propiedades funcionales.

Características:

- Estructura: Presenta una composición heterogénea y compacta, cuya apariencia puede variar según la forma en que haya sido recolectado.
- Color: Puede exhibir una amplia gama cromática que va desde tonos amarillos y verde claro hasta verde oscuro, marrón, marrón rojizo e incluso negro.
- Consistencia: A temperaturas superiores a 15 °C suele volverse más maleable o pegajoso, mientras que entre 60 y 70 °C adquiere una textura completamente líquida.
- Olor: Posee un aroma característico, generalmente dulce y con notas similares a la miel o a aceites esenciales, aunque existen variedades prácticamente inodoras.
- Sabor: Predomina un gusto amargo, aunque en algunos casos puede presentar matices picantes o ser relativamente neutro.

Propiedades terapéuticas:

- Anestésicas: Presenta capacidad para disminuir el dolor, favorecer la hemostasia y contribuir al proceso de cicatrización de los tejidos.
- Actividad antibacteriana y bacteriostática: Posee acción inhibidora y destructiva frente a diversos microorganismos, mostrando eficacia comparable a la de algunos antibióticos, especialmente contra bacterias Gram positivas, además de ciertas levaduras y hongos.

- Tratamiento de enfermedades respiratorias: Ha demostrado utilidad en el abordaje de diversos trastornos del sistema respiratorio, contribuyendo a aliviar síntomas y favorecer la recuperación.
- Acción dermatológica: Se utiliza para tratar múltiples alteraciones cutáneas, tales como fisuras, lesiones supurativas, verrugas y otras afecciones de la piel.

Mecanismo de acción

1. Antioxidante: Los flavonoides y los ácidos fenólicos presentes en el propóleo actúan como agentes neutralizadores de radicales libres, contribuyendo a prevenir el daño oxidativo en las células.

2. Antiinflamatorio: Diversos terpenos y compuestos fenólicos del propóleo intervienen en la inhibición de la síntesis de mediadores inflamatorios como prostaglandinas y leucotrienos, lo que genera una disminución de la respuesta inflamatoria.

3. Antimicrobiano: Este producto natural muestra efectos inhibitorios frente a bacterias, virus y hongos, gracias a la acción combinada de sus componentes fenólicos y terpenoides.

4. Inmunomodulador: El propóleo es capaz de modular la actividad del sistema inmunitario, pudiendo intensificar o atenuar la respuesta inmune según las condiciones fisiológicas.

5. Anti-cáncer: Algunas investigaciones han evidenciado que ciertos compuestos del propóleo pueden limitar el crecimiento celular descontrolado e inducir procesos de apoptosis, lo que le confiere un posible efecto protector frente al desarrollo de neoplasias.

Vías de acción

1. Inhibición de la vía de señalización NF-κB: El propóleo es capaz de bloquear la activación del factor de transcripción NF-κB, lo cual disminuye la producción de mediadores inflamatorios y limita la expresión de genes asociados a procesos proinflamatorios.

2. Activación de la vía de señalización Nrf2: Este compuesto natural puede promover la activación del factor Nrf2, un regulador clave en la inducción de genes relacionados con mecanismos antioxidantes y de detoxificación celular.

3. Inhibición de la síntesis de prostaglandinas: El propóleo puede reducir la formación de prostaglandinas al inhibir las rutas bioquímicas que las generan, contribuyendo así a disminuir la respuesta inflamatoria. (12,13,17)

3.2.5.1 Usos del propóleo en odontología:

En el campo odontológico, el propóleo ha sido empleado por sus propiedades que permiten inhibir la proliferación bacteriana, combatir infecciones fúngicas, proporcionar alivio analgésico y favorecer la reparación de los tejidos. Diversas investigaciones han evidenciado que su aplicación contribuye a disminuir la aparición de caries y la formación de placa bacteriana tanto en estudios in vitro como en evaluaciones clínicas. Además, se ha observado que el extracto etanólico es la forma más eficaz. Entre sus principales usos se encuentran:

Prevención de Caries

- Propiedades Anticariogénicas: La evidencia científica señala que el propóleo contribuye a disminuir la formación de caries y la acumulación de placa bacteriana, tanto en estudios de laboratorio como en investigaciones realizadas en humanos.
- Efectividad Antimicrobiana: Los extractos etanólicos de propóleo (EEP) han demostrado ser los más eficaces contra *Streptococcus mutans*, ya que inhiben la actividad de las glucosiltransferasas y ejercen efectos bactericidas directos.

Eguizábal M. (2007), evaluó la acción del propóleo sobre *Streptococcus mutans*, demostrando *in vitro* su capacidad para inhibir la enzima glucosiltransferasa, considerada un importante factor de virulencia en el desarrollo de la caries dental. (29)

Endodoncia

- Biocompatibilidad: El propóleo ha demostrado presentar una actividad antimicrobiana comparable a la del hidróxido de calcio cuando se utiliza como agente en procedimientos endodónticos.
- Eficacia Contra *E. faecalis*: Diversos estudios señalan que el propóleo puede ser incluso más eficaz que la mezcla triantibiótica en el control de infecciones producidas por *Enterococcus faecalis* dentro de los conductos radiculares.

  Rodríguez (2007) llevó a cabo un estudio comparativo sobre la actividad antibacteriana del propóleo al 5% frente al paramonoclorofenol alcanforado, evaluando su acción contra cuatro bacterias comúnmente asociadas a la necrosis pulpar. Los resultados evidenciaron que ambos agentes presentaron una eficacia antimicrobiana similar. (30)

Periodoncia

- Cicatrización de Tejidos: El propóleo ha demostrado ser un agente eficaz para favorecer la reparación tisular en casos de gingivitis y lesiones ulcerativas orales. Diversos estudios evidencian que contribuye a reducir la inflamación y a acelerar el proceso de regeneración de los tejidos comprometidos.
- Inhibición de Biopelículas: El uso de enjuagues bucales formulados con propóleo ha mostrado una disminución notable en la formación y desarrollo de biopelículas supragingivales, lo que refuerza su utilidad como complemento en la higiene bucal y en la terapia periodontal.

  Del Rio (2006), evaluó la actividad biocida del propóleo frente a *Porphyromonas gingivalis*, un microorganismo aislado de interés clínico, demostrando que el extracto resultó efectivo contra bacterias presentes en bolsas periodontales. (31)

Cirugía Oral

- Aplicaciones Postquirúrgicas: Tras procedimientos como las extracciones dentarias, el uso tópico de propóleo puede favorecer una disminución más rápida de los síntomas y contribuir a un proceso de cicatrización más corto en comparación con la evolución habitual de las heridas.
- Efecto Anti-Inflamatorio: En estudios comparativos, el propóleo ha demostrado una mayor capacidad para reducir la inflamación postquirúrgica y acelerar la recuperación de los tejidos en relación con la dexametasona, mostrando un desempeño superior en la fase de curación.

Prótesis Dentales

- Propiedades Antifúngicas: Los productos a base de propóleo son efectivos contra *Candida albicans*, ayudando a prevenir estomatitis subprotésica en pacientes con dentaduras removibles. (31,32)

  Rodríguez V y col. (2008), llevaron a cabo una investigación en pacientes con estomatitis subprotésica, donde compararon la acción terapéutica del propóleo frente al miconazol. Los resultados evidenciaron que el propóleo presentó una eficacia significativa, constituyéndose en una alternativa viable de tratamiento para esta patología. (33)

3.2.5.2 Reacciones adversas

Las reacciones adversas derivadas del uso tópico del propóleo son poco comunes; no obstante, cuando se presentan, suelen estar asociadas a procesos de hipersensibilidad de tipo alérgico, manifestándose principalmente como dermatitis de contacto. La literatura científica reporta aproximadamente 250 casos documentados de alergia vinculados a este producto natural. Estas manifestaciones se observan con mayor frecuencia en las manos y los dedos, posiblemente debido al contacto directo con materiales apícolas que contienen

propóleo. Asimismo, se han descrito reacciones alérgicas en la mucosa oral, como mucositis aguda con presencia de ulceraciones, en personas que consumen productos a base de propóleo en presentaciones como grageas, gotas o enjuagues bucales. (34)

Entre los componentes del propóleo identificados como principales desencadenantes de reacciones alérgicas destacan el 3-metil-2-butenil cafeato y el feniletil cafeato; sin embargo, se reconoce que podrían existir otras moléculas sensibilizantes que aún no han sido completamente determinadas. Además de estas manifestaciones, también se han reportado episodios de edema perioral, prurito, enrojecimiento cutáneo y formación de vesículas, especialmente en individuos con antecedentes de alergia a resinas o bálsamos. En situaciones menos comunes, la ingesta excesiva de propóleo ha sido asociada a malestares gastrointestinales leves, como náuseas y dolor abdominal. Por ello, aunque el propóleo se considera generalmente seguro, su uso debe ser cuidadoso en personas con historial de alergias o sensibilidad a productos apícolas, recomendándose realizar pruebas previas de tolerancia en contextos clínicos. (35)

3.2.6 CLORHEXIDINA

La clorhexidina es un antiséptico de amplio espectro y de acción no selectiva, ampliamente empleado en odontología y medicina. Su estructura química corresponde a una bisguadina de carácter catiónico, característica que determina gran parte de su actividad y perfil de seguridad. Esta molécula posee dos cargas positivas ubicadas en los extremos del puente hexametileno, lo que le permite interactuar eficazmente con las membranas celulares bacterianas. (36)

Características

Diversos estudios confirman que la clorhexidina presenta una actividad antimicrobiana de amplio alcance, mostrando efectividad contra microorganismos como *Prevotella intermedia*, *Staphylococcus aureus* y *Porphyromonas gingivalis*. Su mecanismo de acción se dirige principalmente a

la membrana citoplasmática de las bacterias, donde su carácter dicatiónico y su estabilidad en pH superiores a 3.5 le permiten alterar la integridad y la permeabilidad celular. Además de su efecto bactericida, la clorhexidina inhibe la formación de biopelículas y disminuye la capacidad de *P. gingivalis* para adherirse a las células epiteliales. (36)

Su acción antimicrobiana abarca tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas, además de diversos hongos (incluyendo dermatofitos) y virus con envoltura lipídica. Se ha reportado que posee capacidad inhibitoria frente a agentes virales como el virus de la hepatitis B, el VIH y otros virus lipofílicos, así como frente a levaduras y hongos oportunistas. Un elemento clave de este compuesto es su elevada sustantividad en la cavidad oral, propiedad que incrementa su efectividad clínica y que se ve influida por factores como la concentración utilizada, el pH del entorno, la temperatura y el tiempo de contacto. (37)

Mecanismo de acción

La clorhexidina es un antiséptico de amplio espectro cuya acción antimicrobiana depende de su capacidad para desestabilizar la membrana citoplasmática de las bacterias. Su naturaleza dicatiónica facilita la interacción con los fosfolípidos de la membrana, provocando pérdida de su integridad, escape de componentes intracelulares y, en consecuencia, la muerte de la célula microbiana. A concentraciones bajas actúa inhibiendo el crecimiento bacteriano, mientras que en niveles más altos produce un efecto bactericida. Su acción inicial es rápida, puesto que puede unirse a la membrana en cuestión de segundos; sin embargo, su permanencia en los tejidos orales le confiere un efecto prolongado que puede mantenerse entre 24 y 29 horas.

Además de su efectividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, la clorhexidina ha demostrado actividad in vitro contra diversos virus con envoltura lipídica, entre ellos el VIH, el virus del herpes simple, el citomegalovirus y el virus de la influenza. Asimismo, interfiere en la formación y maduración del biofilm dental, prolongando su acción terapéutica y contribuyendo a limitar la colonización microbiana en la cavidad oral. (37)

3.3 DEFINICION DE TÉRMINOS

Extracto: Un extracto es una sustancia concentrada obtenida al extraer componentes de una materia prima, como plantas, hierbas, frutas, etc., utilizando solventes apropiados. Los extractos pueden tener diversas aplicaciones, desde la industria alimentaria hasta la farmacéutica y la cosmética.

Extracto de propóleo: El propóleo es una sustancia resinosa y pegajosa que las abejas recolectan de los brotes, cortezas y exudados de diversos árboles y plantas, la cual es posteriormente mezclada con cera y enzimas propias para recubrir y proteger la colmena de agentes externos. El extracto etanólico de propóleo corresponde a la forma concentrada y purificada de esta resina, ampliamente estudiada por sus propiedades biológicas. Entre sus principales efectos se describen la acción antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria y antioxidante, lo que justifica su uso en la medicina tradicional y en el desarrollo de productos odontológicos y farmacéuticos de interés terapéutico.

Clorhexidina: La clorhexidina es un agente antiséptico y desinfectante comúnmente utilizado en productos de higiene bucal y médica. Se utiliza para prevenir infecciones bacterianas en la piel y las membranas mucosas, así como en el tratamiento de enfermedades periodontales y gingivales.

Enfermedad periodontal: La enfermedad periodontal constituye un proceso inflamatorio crónico que compromete los tejidos de soporte del diente, incluyendo encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar. Su origen está asociado principalmente a la acumulación y maduración de la placa bacteriana, la cual al mineralizarse se transforma en cálculo dental o sarro, favoreciendo la proliferación de microorganismos patógenos. Clínicamente, se manifiesta en sus etapas iniciales con signos como inflamación gingival y sangrado al sondaje, y en fases más avanzadas puede ocasionar la reabsorción del hueso alveolar, movilidad dentaria y eventual pérdida de piezas dentarias.

Biofilm: Es una comunidad microbiana compleja que se forma sobre las superficies duras de los dientes y las encías. Está compuesto principalmente

por bacterias, pero también puede incluir otros microorganismos. Este biofilm es la principal causa de enfermedades dentales como la caries dental y la enfermedad periodontal. Su eliminación regular mediante la higiene bucal adecuada es esencial para mantener la salud oral y prevenir problemas dentales.

Halo de inhibición: En microbiología, se denomina halo de inhibición al área clara que aparece alrededor de un disco impregnado con un agente antimicrobiano en un medio de cultivo inoculado con bacterias. Esta zona libre de crecimiento bacteriano refleja la eficacia del compuesto para limitar o detener la proliferación microbiana, constituyendo un criterio fundamental en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

Antibacteriano: Se refiere a cualquier sustancia o agente que tiene la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de bacterias. Los antibacterianos se utilizan en medicina, agricultura, cosmética y otros campos para prevenir o tratar infecciones bacterianas.

Anaerobio: Se refiere a organismos que pueden crecer y vivir en ausencia de oxígeno. Los organismos anaerobios utilizan procesos metabólicos alternativos para obtener energía en condiciones anaeróbicas. Algunas bacterias anaerobias son importantes en la descomposición de la materia orgánica y pueden causar enfermedades en humanos y otros animales.

3.4 HIPÓTESIS

3.4.1 HIPÓTESIS GENERAL

Existe efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo peruano (EEPP) sobre bacterias asociadas a enfermedad periodontal.

3.4.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICA

El extracto etanólico de propóleo peruano inhibe significativamente el crecimiento de *F. nucleatum* en condiciones *in vitro*.

El extracto etanólico de propóleo peruano inhibe significativamente el crecimiento de *P. gingivalis* en condiciones *in vitro*.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo peruano frente a *P. gingivalis* y *F. nucleatum* es menor o igual a 25 mg/mL, lo cual indica una actividad antimicrobiana comparable a la de la clorhexidina al 0,12%.

Operacionalización de variable

Variables	Conceptualización	Dimensión	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa
Propóleo (variable independiente)	Es una solución hidroalcohólica obtenida a partir de resinas naturales recolectadas por abejas (*Apis mellifera*), rica en compuestos fenólicos y flavonoides con propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes.	EPPP	Concentraciones experimentales del EEPP: 5%, 10%, 12.5%, 25%.	Cualitativa	Si o No
	Antiséptico catiónico de amplio espectro, utilizado como control positivo por su eficacia comprobada frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.	Clorhexidina	Solución al 0,12%	Cualitativa	Si o No
Efecto antibacteriano (Variable dependiente)	Capacidad del extracto etanólico de propóleo para inhibir el crecimiento bacteriano, observada a través de la formación de halos de inhibición en cultivos microbiológicos *in vitro*.	Actividad inhibitoria	Diámetro del halo de inhibición (mm).	Cuantitativa	ESCALA DE DURAFFOURD ● Sensibilidad Nula (-), para un diámetro inferior o igual a 8mm. ● Sensibilidad límite (+), para un diámetro comprendido entre 9 a 14 mm. ● Sensibilidad Medio (++), para un diámetro entre 15 y 19 mm. ● Sumamente sensible (+++), para un diámetro superior o igual a 20 mm
Cepas bacterianas periodontopatógenas (variable de control)	Son microorganismos anaerobios estrictos Gram negativos asociados a periodontitis crónica. En este estudio se utilizaron *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586).	Especie bacteriana	Crecimiento bacteriano en medio de cultivo.	Cualitativa	*F. nucleatum / P. gingivalis*

IV. METODOLOGÍA

4.1 Tipo y diseño de la investigación

Se realizó un estudio *in vitro* de tipo experimental y prospectivo según su direccionalidad. La unidad de análisis será las cepas conformadas por *P. gingivalis* y *F. nucleatum*.

4.2 Población y muestra

Población

(***P. gingivalis* ATCC 33277** y ***F. nucleatum* ATCC 25586**)

Muestra

El tamaño de muestra se determinó de manera referencial, considerando estudios previos con diseño experimental similar. Millones Gómez et al. (2021)[38] y Stigler Chuquipiondo (2021)[9] emplearon entre 3 y 5 repeticiones por concentración en pruebas *in vitro* de actividad antibacteriana de propóleos peruanos. En concordancia, el presente estudio utilizó cinco muestras por cepa bacteriana, número suficiente para garantizar la reproducibilidad experimental y el tratamiento estadístico de los datos. (Cepas bacterianas *P. gingivalis* ATCC 33277 y *F. nucleatum* ATCC 25586)

Unidad de análisis

Las placas petri, donde se realizó la observación y medición del halo de inhibición.

4.3 Técnica, procedimiento e instrumento de recolección de datos

Técnica: Experimental

Instrumento: Ficha de recolección de datos (Anexo 01)

4.3.1 Procesamiento de la muestra

- Recopilación de datos: Se recopilan los datos de las placas con cepa bacteriana *P. gingivalis* y *F. nucleatum*, incluyendo:

- Concentración de bacterias (CFU/mL)

- Tipo de cepa bacteriana

- Condiciones de incubación (temperatura, tiempo, anaerobiosis)

- Resultados de la evaluación de viabilidad (resazurina)

4.3.2 Análisis microbiológico

- Identificación de cepas bacterianas: Las cepas bacterianas *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) fueron obtenidas de un cepario certificado, garantizando su pureza y autenticidad.
- Evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana: Se evaluó la susceptibilidad de las cepas bacterianas a diferentes antimicrobianos.

4.3.3 Aspectos éticos

La investigación se presentó al comité de ética de la Facultad de Odontología de la UNMSM, el cual aprobado con numero de registro N°003-CEI-FO-2025, incluso si no involucra seres humanos o animales, para garantizar que se sigan los principios éticos, estos aspectos ayudan a garantizar que la investigación se realice de manera ética y responsable, promoviendo la integridad científica. (Anexo 03)

- **Bioseguridad y Biocontención:** Es esencial garantizar que las cepas bacterianas, especialmente aquellas patógenas o genéticamente modificadas, se manejan en condiciones que prevengan su escape al medio ambiente. Esto incluye trabajar en laboratorios con niveles adecuados de contención y cumplir con las normativas de bioseguridad.
- **Consentimiento Informado y Propiedad de las Cepas:** En investigaciones que involucran cepas bacterianas aisladas de humanos o animales, es importante obtener el consentimiento informado de los donantes. Además, se deben respetar los derechos de propiedad y las legislaciones internacionales, especialmente si las cepas provienen de comunidades o países específicos.
- **Regulación y Cumplimiento de Normas:** Es vital cumplir con todas las normativas locales e internacionales que regulan la investigación con bacterias, incluyendo las directrices de la OMS,

los comités de ética locales y las leyes sobre biodiversidad y recursos genéticos.

4.3.4 Recolección de propóleos

La obtención del propóleo se llevó a cabo en la provincia de Oxapampa, ubicada en el departamento de Cerro de Pasco, siguiendo el protocolo propuesto por Becerra et al. (14). Este procedimiento se realizó bajo condiciones de asepsia, utilizando una espátula de plástico para la recolección. Posteriormente, el propóleo se almacenó en un frasco de vidrio estéril y se resguardará en bolsas oscuras, manteniéndolo refrigerado hasta su procesamiento.

4.3.5 Preparación del extracto etanólico de propóleos

La preparación del extracto de propóleo se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET) de la Universidad Nacional de Ingeniería, siguiendo el protocolo desarrollado por Markiewicz-Żukowska *et al*. (27). El propóleo, retirado de la refrigeración, se dejó reposar durante dos horas para alcanzar la temperatura ambiente. Posteriormente, se cortó en láminas delgadas y se maceró en etanol absoluto, utilizando un volumen de 100 mL por cada 10 gramos de propóleos. Este proceso se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 24 horas. Luego, el macerado se filtró mediante un embudo de vidrio de 20 cm de diámetro y algodón estéril, recogiéndose en un plato de vidrio para su posterior transferencia a una campana de extracción. Allí, se procedió a evaporar el etanol hasta obtener una consistencia de pasta.

4.3.6 Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos

La evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana se llevó a cabo mediante el método de difusión con discos. (39)

- Tras la recolección, las muestras fueron trasladadas al laboratorio en frascos con medio tioglicolato y posteriormente incubadas durante 24 horas a 37 °C en condiciones de anaerobiosis.

- Como medio de cultivo se empleó agar Schaedler, específico para bacterias anaerobias. En la base de cada placa se señalaron, mediante marcas y códigos, las posiciones de los discos y la solución correspondiente, además de numerar las placas del 1 al 5 según el orden de las muestras. (Anexo 4,5)
- La muestra se diluyó en solución salina estéril y su turbidez se ajustó al estándar 0,5 de McFarland.
- Con un hisopo impregnado en la suspensión se realizó la siembra por extensión sobre la superficie del agar, asegurando una distribución homogénea del inóculo.
- Posteriormente, se colocaron con pinzas estériles los discos previamente impregnados en las soluciones de prueba.
- Antes de introducir las placas en la jarra de anaerobiosis, estas se dejaron reposar unos minutos y finalmente se incubaron durante 48 horas, tras lo cual se efectuó la lectura de los resultados.
- La lectura de los resultados se realizó:

Con la medida del diámetro de los halos de inhibición, siendo medido utilizando un calibrador milimetrado Vernier, colocado cuidadosamente en la base de cada placa. Los valores obtenidos fueron registrados de manera sistemática en una ficha de recolección de datos previamente diseñada para tal fin. (Anexo 6,7)

Para realizar la interpretación de los resultados se usó como referencia las pautas por Duraffourd y Lapraz en 1983, que establecen los criterios de eficacia antibacteriana según la medición del diámetro de los halos de inhibición. Estos criterios permiten identificar el grado de sensibilidad bacteriana a partir de los halos formados alrededor de los discos impregnados con el extracto antimicrobiano. Según estos parámetros, la sensibilidad se clasifica en los siguientes niveles:

- Sensibilidad Nula (-), para un diámetro inferior o igual a 8mm.
- Sensibilidad límite (+), para un diámetro comprendido entre

9 a 14 mm.

- Sensibilidad Medio (++), para un diámetro entre 15 y 19 mm.
- Sumamente sensible (+++), para un diámetro superior o igual a 20 mm

4.3.7 Determinación de concentración mínima inhibitoria (MIC)

Se analizó la capacidad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo frente a cepas de referencia de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586).

Reactivación de cepas

Las bacterias fueron sembradas en TSB (Caldo Tripticasa Soja) durante 18-24 horas en un ambiente correspondiente a 5% de CO2 y 37°C propicios para el crecimiento de las siguientes bacterias: *P. gingivalis*, *F. nucleatum*.

Preparación del inóculo:

Posterior al periodo de incubación las suspensiones microbianas obtenidas fueron ajustadas a un OD (Densidad Óptica) de 0,8 a 600 nm, luego se diluyó la solución obtenida con una proporción de 1/100 con el fin de obtener una carga microbiana aproximada de 10^6 UFC/mL, la solución utilizada para la dilución y resuspensión microbiana fue TSB estéril. Finalmente se habrá obtenido el inóculo para los siguientes ensayos.

Preparación de extractos:

El extracto se retiró de la zona de refrigeración, esperando que esté atemperado a condiciones ambientales para un mejor control al extraer las porciones en mg/mL del extracto etanólico de propóleo - Oxapampa. Se preparó una dilución madre de 25 mg/mL la cual fue disuelta en 1 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) y se diluyó hasta conseguir las siguientes diluciones: 12,5 mg/mL, 6,25 mg/mL, 3,125 mg/mL, 1,562 mg/mL, 0,781 mg/mL, 0,390 mg/mL, 0,195 mg/mL y 0,097. Dichas concentraciones fueron diluidas una vez en cada pocillo obteniendo la dilución siguiente a ellas como concentración final.

Diseño de microplaca para Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):

Siguiendo la metodología presentada por Navarro et al. (2021), se dispensó en cada pocillo 100 µL del inóculo bacteriano ajustado a una concentración aproximada de 10^6 UFC/mL en caldo TSB estéril. Posteriormente, se añadieron 100 µL del extracto etanólico de propóleo en cada pocillo, alcanzando concentraciones finales de 12,5; 6,25; 3,125; 1,562; 0,781; 0,390; 0,195; 0;098 mg/mL. Además, se realizó una serie de estas diluciones, pero adicionadas con TSB estéril. Finalmente se utilizaron también pocillos destinados a un control positivo, control negativo, control del crecimiento bacteriano y control de esterilidad del medio y la microplaca. (Anexo 8,9)

4.4 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos recolectados fueron organizados en una hoja de cálculo para su análisis y posteriormente procesados en el programa estadístico SPSS versión 27. Se aplicó estadística descriptiva (media, mediana, desviación estándar y rangos) para resumir los halos de inhibición obtenidos. Posteriormente, se verificó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk, debido al tamaño reducido de la muestra ($n < 50$). Dado que las variables no siguieron una distribución normal, se emplearon pruebas no paramétricas para la comparación entre grupos experimentales.

- Kruskal-Wallis para comparar más de dos grupos independientes.
- Cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicó la prueba de Dunn-Bonferroni.

El nivel de significancia estadística se fue fijado en 5% ($p< 00,5$).

V. RESULTADOS

Se evaluó la actividad antibacteriana del EEPP frente a las bacterias como *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, que están asociadas a las enfermedades periodontales, se evaluaron cinco réplicas para cada grupo experimental como los controles, se midieron los diámetros de los halos de inhibición (mm) en diferentes concentraciones del extracto y del control positivo "clorhexidina".

Tabla 1. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo y controles sobre cepas de *Fusobacterium nucleatum.*

Microorganismos	Grupos	$\overline{x}$ ± DE	Mediana	Susceptibilidad ±	valor p
Extracto etanólico de Propóleo	25 mg/mL	13,2±1,1	13	+	<0,001 *
	12,5 mg/mL	12,2±0,8	12	+	
	10 mg/mL	11,6±0,9	11	+	
	5 mg/mL	10,0±1,6	10	+	
Controles	Control positivo	15,8±04	16	++	

- Los valores representan los diámetros de halos de inhibición en mm
- $\overline{x}$ ± DE (Media aritmética y desviación estándar)
- *Sensibilidad de acuerdo con la escala de Duraffourd: nula (-) < 8 mm, sensibilidad límite (+) de 8- 14,9 mm, sensibilidad media (++) de 15 -20 mm, and alta sensibilidad (+++) > 20,1 mm.
- *Prueba de Kruskal Wallis

La Tabla 1 muestra el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo frente a *Fusobacterium nucleatum*. Se observó que la concentración de 25 mg/mL presentó el mayor diámetro promedio de halo inhibitorio (13,2 ± 1,1 mm), seguida de la concentración de 12,5 mg/mL (12,2 ± 0,8 mm), ambas clasificadas con sensibilidad positiva (+) según la escala de Duraffourd.

El control positivo (clorhexidina 0,12%) registró el mayor valor promedio (15,8 ± 0,4 mm), correspondiente a una sensibilidad media (++).

Tabla 2. Comparación del halo inhibitorio para *Fusobacterium nucleatum* generado por el extracto etanólico de propóleo entre grupos experimentales y control positivo.

Comparaciones	EEP 25 mg/mL	EEP 12.5 mg/mL	EEP 10 mg/mL	EEP 5 mg/mL
EEP 12,5 mg/	0,1911			
EEP 10 mg/mL	0,0604	0,2491		
EEP 5 mg/mL	0,0056*	0,0484*	0,1628	
Control positivo	0,0716	0,0097	0,0013*	<0,001*

- EPP: Extracto etanólico de propóleo
- Los valores de las celdas representan el p valor de cada comparación entre grupos.
- Diferencia significativa ($p<0,05$) basada en la prueba de Dunn-Bonferroni

En estos resultados se realizó la comparación del halo inhibitorio generado por el extracto etanólico de propóleo (EEP) frente a *Fusobacterium nucleatum*. El grupo tratado con EEP a 25 mg/mL no presentó diferencias significativas con el control positivo ($p = 0,0716$), indicando una actividad antibacteriana comparable. Sin embargo, esta concentración fue significativamente más efectiva que la de 5 mg/mL ($p = 0,0056$), lo que evidencia una relación directa entre la concentración y la potencia antimicrobiana.

Por su parte, el grupo de 5 mg/mL mostró la menor eficacia, con una diferencia altamente significativa respecto al control positivo ($p < 0,001$). (Tabla 2 y Figura 1)

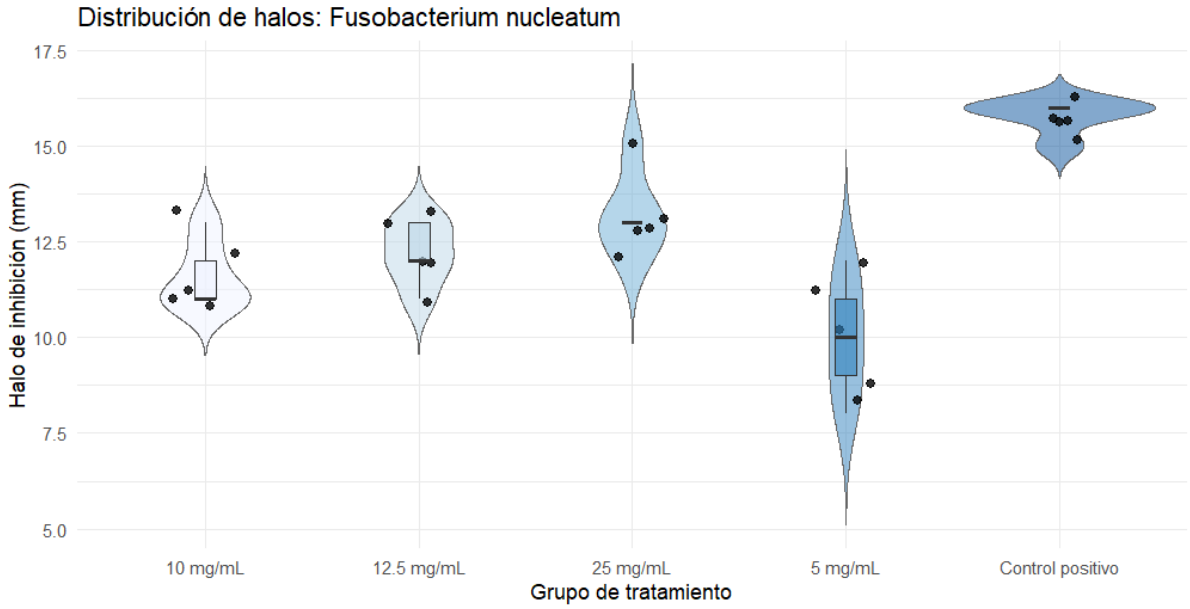

Figura 1. Distribución de los valores de halos de inhibición del extracto etanólico de Propóleo frente a *Fusobacterium nucelatum*

Tabla 3. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de Propoleo y controles sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis.*

Microorganismos	Grupos	$\overline{x}$ ± DE	Mediana	Susceptibilidad±	valor p
Extracto etanólico de Propóleo	25 mg/mL	13,0 ±2,8	14	+	0,01*
	12,5 mg/mL	11,0 ±2,3	12	+	
	10 mg/mL	10,2 ±2,2	11	+	
	5 mg/mL	8,4 ±1,5	8	+	
Controles	Control positivo	16,0 ±3,7	18	++	

- Los valores representan los diámetros de halos de inhibición en mm
- $\overline{x}$ ± DE (Media aritmética y desviación estándar)
- *Sensibilidad de acuerdo con la escala de Duraffourd: nula (-) < 8 mm, sensibilidad límite (+) de 8- 14.9 mm, sensibilidad media (++) de 15 -20 mm, and alta sensibilidad (+++) > 20.1 mm.
- *Diferencias significativas ($p<0.05$) basada en la prueba de Kruskal Wallis

La tabla 3 mostró un efecto inhibitorio dependiente de la concentración. La dosis más alta ensayada (25 mg/mL) alcanzó un halo medio de 13,0 ± 2,8 mm (mediana = 14 mm), mientras que la más baja (5 mg/mL) registró 8,4 ± 1,5 mm (mediana = 8 mm). El control positivo presentó el mayor efecto (16,0 ± 3,7 mm; mediana = 18 mm). El análisis no paramétrico evidenció diferencias globales

significativas entre grupos (Kruskal–Wallis, *p* = 0,01), coherentes con un gradiente concentración–respuesta del EEPP y con una actividad inferior a la clorhexidina usada como referencia.

Tabla 4. Comparación del halo inhibitorio para *Porphyromonas gingivalis* generado por el extracto etanólico de propóleo entre grupos experimentales y control positivo.

Comparaciones	EEP 25 mg/mL	EEP 12.5 mg/	EEP 10 mg/mL	EEP 5 mg/mL
EEP 12.5 mg/	0,194			
EEP 10 mg/mL	0,09	0,317		
EEP 5 mg/mL	0,009*	0,068	0,155	
Control positivo	0,188	0,04*	0,013*	p<0,001*

- EPP: Extracto etanólico de propóleo
- Los valores de las celdas representan el p-valor de cada comparación entre grupos.
- Diferencia significativa (p<0.05) basada en la prueba de Dunn-Bonferroni.

La *P. gingivalis* en extracto etanólico de propóleo (EEPP) evidenció un efecto dosis–respuesta. Las comparaciones múltiples mostraron diferencia significativa únicamente entre 25 y 5 mg/mL (*p* = 0,009), lo que delimita el punto de mayor separación entre tratamientos. Al contrastarlo con el control positivo**,** 25 mg/mL no difirió (*p* = 0,188), mientras que 12,5; 10 y 5 mg/mL resultaron inferiores (*p* = 0,040; 0,013; < 0,001). En conjunto, los datos confirman actividad antibacteriana relevante del EEPP a concentraciones altas, con pérdida de eficacia al reducir la dosis.

Se a ilustrado la distribución de los valores promedio de halo inhibitorio obtenidos para cada grupo experimental y el control positivo. (Tabla 4 y Figura 2)

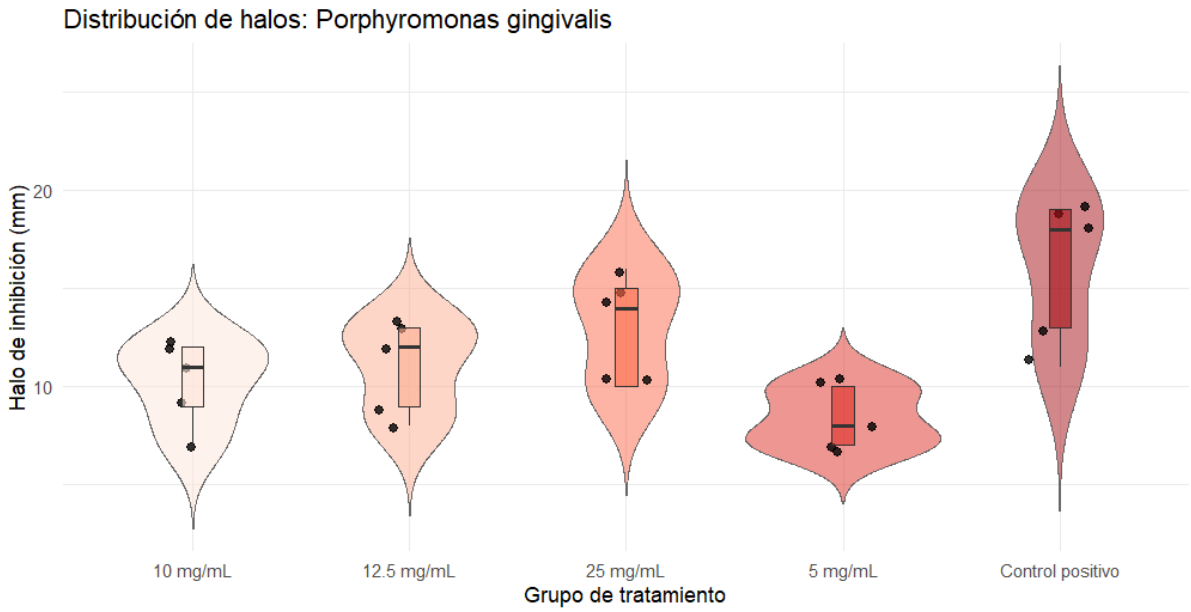

Figura 2. Distribución de los valores de halos de inhibición del extracto etanólico de Propóleo frente a *Porphyromonas gingivalis*

Concentración mínima inhibitoria – propóleo

Tabla 5: Extracto Etanólico de Oxapampa

Extracto Etanólico de Oxapampa								
Concentración	12,50	6.25	3.12	1.56	0.78	0.39	0.19	0.09
F. nucleatum	-0,184	-0,277	-0,217	0,030	0,047	0,009	-0,005	0,010
P. gingivalis	-0,124	-0,308	-0,163	-0,055	0,094	0,023	0,026	0,034

Los resultados evidenciaron actividad antimicrobiana en determinadas concentraciones de los extractos evaluados frente a las cepas ensayadas. Se estableció como criterio de inhibición del crecimiento bacteriano una OD ≤ 0,09 respecto del control de crecimiento, y este umbral se aplicó de manera consistente en todas las corridas experimentales. Bajo dicho criterio, el extracto etanólico procedente de Oxapampa alcanzó una CMI para *F. nucleatum* de 1,56

mg/mL, mientras que para *P. gingivalis* la CMI fue de 0,39 mg/mL. En términos comparativos, estos valores sugirieron una mayor sensibilidad de *P. gingivalis* al extracto en relación con *F. nucleatum.*

VI. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presenten investigación permitieron confirmar que el extracto etanólico de propóleo peruano ejerció un efecto antibacteriano significativo frente a *P. gingivalis* y *F. nucleatum*, microorganismos anaerobias Gram negativas estrechamente vinculadas con la patogénesis de la periodontitis. A la concentración del 25%, se observaron halos de inhibición de 13 mm para *P. gingivalis* y 13,2 mm para *F. nucleatum*, mientras que la CMI fue de 0,39 mg/mL y 1,56 mg/mL, respectivamente. Estos hallazgos evidenciarón una mayor susceptibilidad de *P. gingivalis* frente al propóleo y demuestran que, incluso en bacterias de alta resistencia clínica, el extracto natural logro ejercer un efecto antimicrobiano comparable al de la clorhexidina al 0,12%, control positivo utilizado en este estudio.

La diferencia en la susceptibilidad entre ambas especies puede explicarse por las características estructurales de su pared celular, ya que *P. gingivalis* presenta una membrana externa menos compleja que *F. nucleatum*, lo que facilita la penetración de los compuestos fenólicos y flavonoides del propóleo. Este comportamiento coincide con lo descrito por Stähli et al. (2021), quienes evidenciaron que el extracto etanólico de propóleo redujo significativamente la formación de biofilms mixtos con *F. nucleatum*, aunque a concentraciones más elevadas, lo que sugiere que el entorno microbiano puede modular la respuesta antibacteriana. (40)

Al contrastar estos hallazgos con los antecedentes, se observa una concordancia con Vargas Gonzales (2024), quien reportó halos de inhibición superiores a los de la clorhexidina frente a *S. mutans* y *P. gingivalis*, confirmando la eficacia del propóleo como agente antimicrobiano natural. De forma semejante, Checalla (2020) obtuvo halos entre 14 y 19 mm frente a S. mutans, y Checalla y Sánchez-Tito (2021) registraron halos de hasta 18,3 mm frente a la misma especie, valores comparables a los del presente estudio. Sin embargo, debe considerarse que S. mutans es una bacteria Gram positiva, más susceptible a los agentes antimicrobianos, mientras que *P. gingivalis* y *F. nucleatum* son anaerobias Gram negativas, naturalmente más resistentes, lo que resalta la relevancia de los resultados alcanzados en esta investigación. (8, 12,43)

De igual modo, los resultados concuerdan con Stigler Chuquipiondo (2021), quien observó halos promedio de 13,5 mm frente a *P. gingivalis* utilizando extractos naturales, valores prácticamente equivalentes a los aquí encontrados. Asimismo, Isaza y Ocampo (2023) demostraron actividad antibacteriana del propóleo incorporado en nanofibras, aunque con halos menores (1,4–3,5 mm), lo que sugiere que la concentración y la forma de aplicación del extracto influyen directamente en su eficacia. (9,10)

En el ámbito clínico, Lisbona-Gonzales et al. (2021) reportaron mejoras significativas en pacientes con periodontitis tratados con propóleo, observando reducción en el sangrado al sondaje y en la carga bacteriana de *P. gingivalis*, resultados que respaldan el efecto inhibitorio evidenciado en esta investigación desde un enfoque *in vitro*. De manera similar, Nazeri et al. (2019) demostraron que un enjuague bucal a base de propóleo redujo en mayor proporción la flora bacteriana oral en comparación con la clorhexidina, coincidiendo con la eficacia observada en este estudio, aunque bajo condiciones experimentales controladas. (11,13)

Por su parte, Becerra et al. (2019) encontraron que la actividad antimicrobiana del propóleo varía según la época del año, con halos de 18 a 26 mm; las diferencias respecto a los valores del presente estudio pueden atribuirse a la variabilidad fitoquímica del propóleo, determinada por su origen botánico y geográfico. Igualmente, Alvarez Quiroz (2014) reportó halos de 10 a 18 mm frente a Enterococcus faecalis, lo que demuestra la amplitud del espectro antibacteriano del propóleo frente a distintos tipos de bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas. (14,15)

Los resultados del presente trabajo también guardan una notable similitud con los reportados por Díaz Suyo y Proaño de Casallno (2011), quienes emplearon propóleo de Oxapampa —de igual procedencia que el de esta investigación— y obtuvieron halos de 13 mm para *P. gingivalis* y 12 mm para *F. nucleatum*, prácticamente idénticos a los aquí observados. De igual modo, Reyes Collahuacho (2010) reportó halos de 15 mm frente a bacterias anaerobias periodontales, confirmando la consistencia del efecto antibacteriano del propóleo peruano frente a microorganismos asociados a la periodontitis. (16,17)

Asimismo, los resultados coinciden con lo planteado por Huaytalla (2018), quien encontró que el propóleo al 30 % presentó halos superiores a los de la clorhexidina frente a Lactobacillus acidophilus, y con Mayta Tovalino (2014), quien observó una eficacia comparable frente a S. mutans y S. aureus. Estos estudios refuerzan la hipótesis de que el extracto etanólico de propóleo puede igualar o incluso superar la acción de la clorhexidina frente a bacterias de interés odontológico, lo cual coincide con el comportamiento observado en las concentraciones probadas en la presente investigación. (44,45)

Un aspecto importante evidenciado es la relación dosis-respuesta: a mayores concentraciones del extracto, se incrementó la potencia antimicrobiana, lo que concuerda con lo descrito por Checalla (2020) y Huaytalla (2018), quienes también observaron que el aumento de concentración se traduce en halos de inhibición más amplios. Este comportamiento reafirma la necesidad de continuar evaluando diferentes concentraciones del propóleo con el fin de determinar dosis óptimas que sean clínicamente efectivas y económicamente viables. (12,44)

En el plano clínico, los resultados de esta investigación adquieren relevancia por el contexto epidemiológico de la periodontitis en el Perú, donde su alta prevalencia genera impacto en la salud pública y en la calidad de vida de la población. El uso de un recurso natural, accesible y de bajo costo como el propóleo peruano representa una alternativa prometedora frente a antimicrobianos convencionales, los cuales no solo presentan efectos adversos como la pigmentación dental y la alteración del gusto, sino que también pueden favorecer la aparición de resistencia bacteriana. A diferencia de ellos, el propóleo contiene compuestos polifenólicos que no solo ejercen acción antimicrobiana, sino que además poseen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, lo que amplía sus posibles beneficios clínicos.

Finalmente, aunque los resultados de este estudio son consistentes con la literatura, también ponen en evidencia la necesidad de futuras investigaciones que incluyan ensayos *in vivo* y estudios clínicos controlados que permitan validar su eficacia en condiciones orales reales, así como la caracterización fitoquímica detallada del propóleo peruano para identificar con precisión los compuestos responsables de su acción antibacteriana. En este sentido, el presente estudio

constituye un primer paso relevante en la validación científica del propóleo como alternativa fitoterapéutica en odontología, consolidando su papel como un recurso de valor en el manejo de la periodontitis y otras enfermedades infecciosas de la cavidad oral.

VII. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de propóleo peruano evidenció un efecto antibacteriano significativo frente a *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*, bacterias periodontopatógenas implicadas en la etiología de la periodontitis.
- A la concentración del 25%, el extracto produjo halos de inhibición de 13 mm frente a *P. gingivalis* y de 13,2 mm frente a *F. nucleatum*, mostrando un efecto comparable al de la clorhexidina al 0,12%.
- Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) determinadas fueron de 0,39 mg/mL para *P. gingivalis* y de 1,56 mg/mL para *F. nucleatum*, lo que evidenció una mayor susceptibilidad de *P. gingivalis* al extracto.
- La actividad antibacteriana del propóleo aumentó conforme se incrementó la concentración del extracto, confirmando una relación dosis–respuesta favorable.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios complementarios in vivo y ensayos clínicos controlados que permitan validar la eficacia del propóleo peruano en condiciones reales de cavidad oral.
- Ampliar la investigación a cepas clínicas de *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y otros periodontopatógenos, con el fin de corroborar la efectividad frente a variantes bacterianas de mayor resistencia.
- Efectuar análisis fitoquímicos detallados para identificar los compuestos bioactivos responsables de la acción antimicrobiana, lo que facilitará su estandarización y aplicación clínica.
- Explorar formulaciones odontológicas a base de propóleo peruano (enjuagues, geles, dentífricos) para evaluar su viabilidad como alternativa a los antimicrobianos convencionales.
- Promover la investigación interdisciplinaria y el aprovechamiento sostenible del propóleo peruano, fortaleciendo su potencial como recurso natural de valor terapéutico y económico.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Sarduy Bermúdez L, González Díaz ME. La biopelícula: una nueva concepción de la placa dentobacteriana. *Medicent Electrón* [Internet]. 2016 [citado el 11 de octubre de 2025];20(3):167–175. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432016000300002
2. Harris-Ricardo J, Fang L, Herrera-Herrera A, Fortich-Mesa N, Olier-Castillo D, Cavanzo-Rojas D, et al. Perfil bacteriano del biofilm dental supragingival en niños con dentición temporal y mixta temprana utilizando la técnica de secuenciación de próxima generación (HOMINGS). *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2019 [citado el 11 de octubre de 2025];37(7):448–453. Disponible en: https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-189361
3. Lasa I, del Pozo JL, Penadés JR, Leiva J. Biofilms bacterianos e infección. *An Sist Sanit Navar* [Internet]. 2005 [citado el 11 de octubre de 2025];28(2):163–175. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272005000300002&script=sci_abstract
4. Moron M. Los biofilms orales y sus consecuencias en la caries dental y enfermedad periodontal. *Cienc Innov Salud* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];3(2):1–9. Disponible en: https://odontologos.com.co/assets/doc/news/2021-08-30_115546biofilm_moron.pdf
5. Sánchez-Tito M, Salgado AT. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*. *Rev Cubana Invest Bioméd* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];40(4):1–10. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000500005
6. Huachaca E, Ramos-Perfecto D, Moromi-Nakata H. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum giganteum* L. “Cola de Caballo” frente al *Fusobacterium nucleatum*, microorganismo asociado a la enfermedad periodontal. *Int J Odontostomat* [Internet]. 2023 [citado el 11 de octubre

de 2025];17(4):414–419. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2023000400414

7. Apolin A, Garay V. Efectividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre gingivitis crónica [tesis de pregrado en Internet]. Huánuco (PE): Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Facultad de Ciencias Médicas; 2017 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/09/912235/efectividad-antiinflamatoria-del-extracto-etanolico-de-caesalpi_xFuGYDx.pdf
8. Vargas Gonzales YD. Actividad antibacteriana de un enjuague bucal elaborado a base de extracto etanólico de propóleo frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Estudio *in vitro* [tesis de pregrado en Internet]. Tacna (PE): Universidad Privada de Tacna; 2024 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: http://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/3472
9. Stigler Chuquipiondo PF. Estudio *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Equisetum giganteum* L. "Cola de Caballo" frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad Alas Peruanas, Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud; 2021 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/9411
10. Isaza L, Ocampo G. Efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* de fibras de policaprolactona con extracto hidroalcohólico de propóleo *in vitro* [tesis de pregrado en Internet]. Bogotá (CO): Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de la Salud, Especialización en Periodoncia; 2023 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repository.ucc.edu.co/entities/publication/85fdcde8-fa6f-4bd5-b379-774e39048cf8
11. Lisbona-González MJ, Muñoz-Soto E, Reyes-Botella C, Olmedo-Gaya MV, Diaz-Castro J, Moreno-Fernandez J. Study of the antimicrobial effect of an ethanolic extract of propolis in periodontal disease. *Appl Sci (Basel)* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];11(16):7463. Disponible en: https://digibug.ugr.es/handle/10481/70316

12. Checalla Collatupa JL. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) *in vitro*, Tacna 2020 [tesis de pregrado en Internet]. Tacna (PE): Universidad Privada de Tacna; 2020 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: http://repositorio.upt.edu.pe/handle/20.500.12969/1418
13. Nazeri R, Ghaiour M, Abbasi S. Evaluation of antibacterial effect of propolis and its application in mouthwash production. *Front Dent* [Internet]. 2019 [citado el 11 de octubre de 2025];16(1):1–12. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31608331/
14. Becerra TB, Calla-Poma RD, Requena-Mendizabal MF, Millones-Gómez PA. Antibacterial effect of Peruvian propolis collected during different seasons on the growth of *Streptococcus mutans*. *Open Access J Dent Sci* [Internet]. 2019 [citado el 11 de octubre de 2025];13(1):327–331. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S1874210619000309
15. Álvarez Quiroz MP. Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de propolis de *Apis mellifera* (propóleo) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 [tesis de pregrado en Internet]. Trujillo (PE): Universidad Privada Antenor Orrego; 2014 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.upao.edu.pe/handle/20.500.12759/1130
16. Suyo JAD, Proaño de Casalino DP. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Perú, sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*. *Rev Estomatol Hered* [Internet]. 2011 [citado el 11 de octubre de 2025];21(3):125–130. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=421539365002
17. Reyes C. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2010 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/9e255ef5-203b-498c-a6d5-f774d60393e9

18. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. Int J Health Sci (Qassim). 2017 [citado el 11 de octubre de 2025].;11(2):72-80. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5426403

19. World Health Organization. Oral health. Fact sheet. 17 Mar 2025[citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/oral-health

20. Vargas-Casillas AP, Yáñez-Ocampo BR. Clasificación de enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias 2018. Primera parte. *Rev Odont Mex* [Internet]. 2022 [citado el 11 de octubre de 2025];25(1):1–10. Disponible en: https://revistas.unam.mx/index.php/rom/article/view/82268

21. Camarena AH, Anaya YB. Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. *Rev Oral* [Internet]. 2016 [citado el 11 de octubre de 2025];17(54):1374–1378. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654f.pdf

22. Ramos-Perfecto D, Maita-Veliz L, Piscoche-Botello C. *Fusobacterium nucleatum*: un comensal puente con otros microorganismos patógenos de la periodontitis. *KIRU* [Internet]. 2020 [citado el 11 de octubre de 2025];17(4):230–236. Disponible en: https://portalrevistas.aulavirtualusmp.pe/index.php/Rev-Kiru0/article/view/2022/2188

23. Yáñez G. El cocultivo de *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* aumenta sinérgicamente la expresión de mediadores inflamatorios vía TLR4 [tesis de pregrado en Internet]. Santiago (CL): Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2023 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/195143

24. Wang B, Deng J, Donati V, Merali N, Frampton AE, Giovannetti E, et al. The roles and interactions of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* in oral and gastrointestinal carcinogenesis: a narrative review. *Pathogens* [Internet]. 2024 [citado el 11 de octubre de 2025];13(1):93. Disponible en: https://www.mdpi.com/2076-0817/13/1/93

25. Britos MR, Sin CS, Ortega SM. *Porphyromonas gingivalis*, patógeno de relevancia en la enfermedad periodontal. *Rev Fund Juan José Carraro* [Internet]. 2020 [citado el 11 de octubre de 2025];5(2):1–10. Disponible en: https://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/1601
26. Fuentes L, Lisboa G. Uso de clorhexidina en periodoncia en las clínicas 509 de la Universidad Finis Terrae en el año 2018 [tesis de pregrado en Internet]. Santiago (CL): Universidad Finis Terrae, Facultad de Odontología; 2018 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.uft.cl/server/api/core/bitstreams/46bc42b0-d335-4abd-b9ea-7a56811d5c3f/content
27. Markiewicz-Żukowska R, Car H, Naliwajko SK, Sawicka D, Szajda SD, Waszkiel D, et al. Ethanolic extract of propolis and chrysin, CAPE inhibit human astroglia cells. *Adv Med Sci* [Internet]. 2012 [citado el 11 de octubre de 2025];57(2):208–216. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23183767/
28. Del Río P. Actividad biocida de un propolis chileno frente a *Porphyromonas gingivalis*: estudio *in vitro* [tesis de pregrado en Internet]. Santiago (CL): Universidad de Chile, Facultad de Odontología; 2006 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/xmlui/bitstream/handle/2250/110751/Actividad-biocida-de-un-propolis-chileno.pdf?sequence=6&isAllowed=y
29. Eguizábal M. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei* [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2007 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9384473
30. Rodríguez M. Actividad antibacteriana de cuatro soluciones del extracto de propóleo en bacterias anaerobias frecuentes en necrosis pulpar con reacción periapical [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2007 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://gestionrepo.unmsm.edu.pe/items/e1b3c1fd-6d4d-4d97-bc08-4604137fa29c

31. Del Río P. Actividad biocida de un propolis chileno frente a *Porphyromonas gingivalis*: estudio *in vitro* [tesis de pregrado en Internet]. Santiago (CL): Universidad de Chile, Facultad de Odontología; 2006 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.uchile.cl/xmlui/bitstream/handle/2250/110751/Actividad-biocida-de-un-propolis-chileno.pdf?sequence=6&isAllowed=y
32. Durán-Merino D, Cruz-Ávila J, Castañeda-Castañeira E, Robles-Pinto G, Molina-Frechero N. Propiedades y usos del propóleo en odontología: una revisión. *Odontoestomatología* [Internet]. 2022 [citado el 11 de octubre de 2025];24(40):1–10. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1688-93392022000201321
33. Rodríguez V, Pereira AL, Arruda C. Efficacy of Brazilian propolis gel for the management of denture stomatitis: a pilot study. *Phytother Res* [Internet]. 2008 [citado el 11 de octubre de 2025];22(12):1544–1547. Disponible en: https://doi.org/10.1002/ptr.2541
34. Oršolić N. Allergic inflammation: effect of propolis and its flavonoids. *Mol.* [Internet]. 2022 [citado el 11 de octubre de 2025];27(19):6694. Disponible en: https://doi.org/10.3390/molecules27196694
35. Hossain R, Quispe C, Khan RA, Saikat ASM, Ray P, Ongalbek D, et al. Propolis: an update on its chemistry and pharmacological applications. *Chin Med* [Internet]. 2022 [citado el 11 de octubre de 2025];17:100. Disponible en: https://doi.org/10.1186/s13020-022-00651-2
36. Thangavelu A, Kaspar SS, Kathirvelu RP, Srinivasan B, Srinivasan S, Sundram R. Chlorhexidine: an elixir for periodontics. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2020 [citado el 11 de octubre de 2025];12(Suppl 1):S57–S59. Disponible en: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_162_20
37. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in dentistry: pharmacology, uses, and adverse effects. *Int Dent J* [Internet]. 2022 [citado el 11 de octubre de 2025];72(3):269-277. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.identj.2022.02.001
38. Millones-Gómez PA, Tay-Chu-Jon LY, Maurtua-Torres DJ, Bacilio-Amaranto RE, Collantes-Díaz IE, Minchón-Medina CA, et al. Antibacterial,

antibiofilm, and cytotoxic activities and chemical compositions of Peruvian propolis in an *in vitro* oral biofilm. *F1000Res* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];10:1093. Disponible en: https://doi.org/10.12688/f1000research.73602.2

39. Martins ML, Leite KLF, Pacheco-Filho EF, Pereira AFM, Romanos MTV, Maia LC, et al. Efficacy of red propolis hydroalcoholic extract in controlling *Streptococcus mutans* biofilm build-up and dental enamel demineralization. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2018 [citado el 11 de octubre de 2025];93:56–65. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.05.017
40. Stähli A, Schröter H, Bullitta S, Heide D, Pury P, Salvi GE, et al. *In vitro* activity of propolis on oral microorganisms and biofilms. *Antibiotics (Basel)* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];10(9):1045. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34572627/
41. Almanza-Pérez J, Gutiérrez-Sulca D. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo procedente de Oxapampa sobre el *Enterococcus faecalis* [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad San Martín de Porres; 2025 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USMP_049e5b72fdbc74ddc8770e8a6050f55a/Description#tabnav
42. Lugo-Palmadera JC. Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 1.5% comparado con *Morinda citrifolia* y el hidróxido de calcio frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 [tesis de pregrado en Internet]. Lima (PE): Universidad Católica Sedes Sapientiae; 2022 [citado el 11 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.ucss.edu.pe/handle/20.500.14095/1210
43. Checalla JL, Sánchez-Tito MA. Caracterización química y actividad antibacteriana *in vitro* de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*. *Int J Odontostomat* [Internet]. 2021 [citado el 11 de octubre de 2025];15(1):145–151. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100145

44. Huaytalla-Alamán RM, Gálvez-Ramírez CM, Carhuapoma-Yance M, Alvarez-Paucar MA, López-Guerra S. Efecto inhibidor *in vitro* del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus*. *Rev Estomatol Hered* [Internet]. 2018 [citado el 11 de octubre de 2025];28(1):36–42. Disponible en: https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/3281

45. Mayta-Tovalino F, Sacsaquispe-Contreras S. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa, Perú, sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Rev Estomatol Hered* [Internet]. 2010 [citado el 11 de octubre de 2025];20(1):19–24. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=421539355004

X. ANEXOS

Anexo 01. Ficha de recolección

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Datos generales del experimento:

Investigador:	
Título del estudio:	
Lugar de ejecución:	
Fecha:	
Microorganismo evaluado:	
Método empleado:	

Registro de resultados:

N°	Extracto etanólico de propóleo (mg/mL)	Diámetro del halo (mm)	Sensibilidad (+/-)	Observaciones
1				
2				
3				
4				
5				

Nota: Los valores de halos fueron medidos con calibrador milimetrado según metodología del estudio.

Matriz de consistencia

MATRIZ DE CONSISTENCIA					
PROBLEMA DE INVESTIGACION	OBJETIVO GENERAL	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal (*Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum*)?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de origen peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal.	- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre cepas de *Fusobacterium nucleatum.* - Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. - Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de propóleo frente a las bacterias estudiadas.	Hipótesis general: Existe efecto antibacteriano significativo del extracto etanólico de propóleo peruano frente a bacterias asociadas a enfermedad periodontal. Hipótesis específicas: H1: El extracto etanólico de propóleo inhibe significativamente el crecimiento de *P. gingivalis in vitro*. H2: El extracto etanólico de propóleo inhibe significativamente el crecimiento de *F. nucleatum in vitro*.	Variable independiente: Extracto etanólico de propóleo peruano (EEP). Variable dependiente: Efecto antibacteriano frente a *P. gingivalis* y *F. nucleatum.* Indicadores: - Diámetro del halo de inhibición (mm). - Concentración mínima inhibitoria (CMI).	Tipo de estudio: Experimental. Diseño: *In vitro*, longitudinal. Enfoque: Cuantitativo. Población y muestra: Cepas bacterianas de referencia *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586); cinco placas de Petri por grupo experimental y controles. Instrumento de recolección de datos: Ficha de registro de halos de inhibición, medición con calibrador Vernier. Técnicas: Método de difusión en agar y microdilución en caldo.

Anexo 03. Comité de ética

Facultad de Odontología
Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Comité de Ética Institucional

"AÑO DE LA RECUPERACIÓN Y CONSOLIDACIÓN DE LA ECONOMIA PERUANA"

CONSTANCIA DE APROBACIÓN N°003-CEI-FO-2025

El Comité de Ética Institucional de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos ha **APROBADO** el proyecto de investigación: **"EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO DE ORIGEN PERUANO FRENTE A BACTERIAS ASOCIADAS A ENFERMEDAD PERIODONTAL"**, a cargo de la investigadora principal **JOSE ANTONIO CALDERON MORENO.**

La presente aprobación del Comité de Ética Institucional de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos tiene una vigencia de tres años, del 15 de enero de 2025 al 15 de enero de 2027 bajo los siguientes considerandos:

- El proyecto de investigación se encuentra registrado y almacenado en los archivos digitales del comité.
- Los datos obtenidos de la investigación deberán ser rigurosamente resguardados y almacenados por un periodo mínimo de tres años pudiendo ser solicitados por este comité en cualquier momento.
- El comité se reserva el derecho de solicitar en cualquier momento un informe del avance del proceso de ejecución del proyecto de investigación
- Cualquier modificación al proyecto presentado deberá ser informado al Comité.
- Al finalizar la ejecución el investigador responsable debe enviar una copia del informe final a este comité.
- El Comité de Ética está a disposición para posteriores esclarecimientos o dudas.

Ciudad Universitaria, 15 de enero de 2025

Dr. Fernando Alfonso Ortiz Culca
Presidente del Comité de Ética Institucional
Facultad de Odontología

Anexo 04.

Medición de halos de inhibición *F. nucleatum*



Figura 3. Halos de *F.nucleatum* medidos con regla Vernier.

Anexo 05.

Medición de halos de inhibición *P. gingivalis*

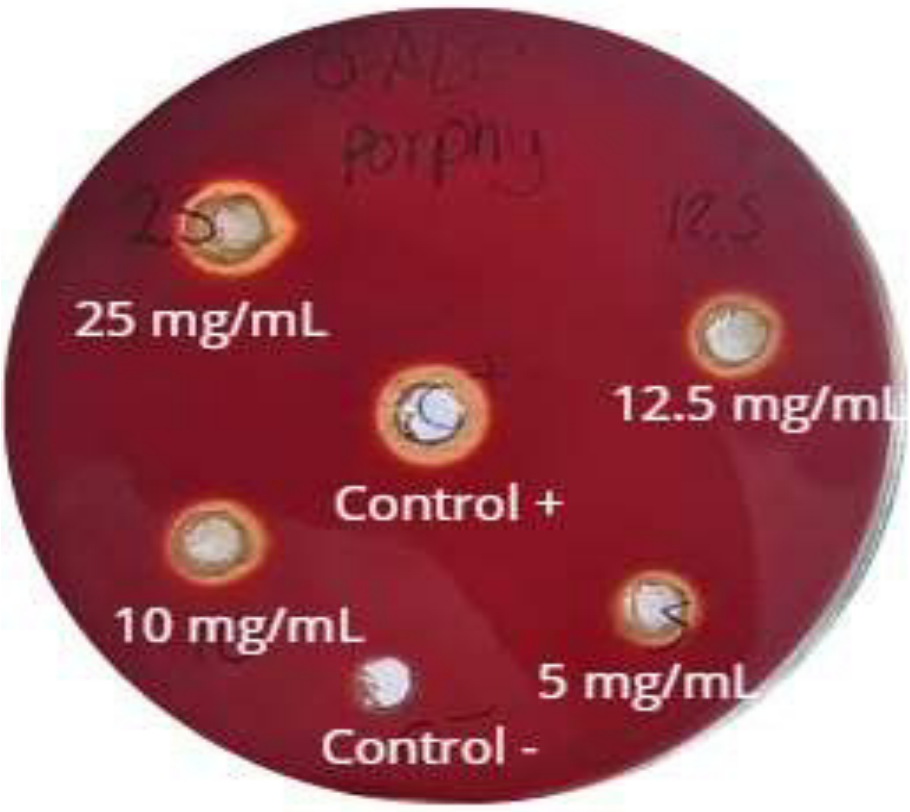

Figura 4. Halos de *P. gingivalis* medidos con regla Vernier.

Anexo 06. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos sobre *Fusobacterium nucleatum*

Cepas	Extracto etanólico de Oxapampa					
	25 mg/mL	12.5 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	Control negativo	Control positivo
Fusobacterium nucleatum	12 mm	12mm	11mm	8mm	-	16mm
Fusobacterium nucleatum	15	13	13	12	-	16
Fusobacterium nucleatum	13	13	12	10	-	15
Fusobacterium nucleatum	13	11	11	9	-	16
Fusobacterium nucleatum	13	12	11	11	-	16

Anexo 07. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos sobre *Porphyromonas gingivalis*

Cepas	Extracto etanólico de Oxapampa					
	25 mg/mL	12.5 mg/mL	10 mg/mL	5 mg/mL	Control negativo	Control positivo
Porphyromonas gingivalis	14mm	13mm	12mm	10mm	-	18mm
Porphyromonas gingivalis	10	8	7	7	-	13
Porphyromonas gingivalis	10	9	9	7	-	11
Porphyromonas gingivalis	16	13	12	8	-	19
Porphyromonas gingivalis	15	12	11	10	-	19

Anexo 08. Diseño de la microplaca aplicado a cada extracto y a cada microorganismo

Muestra	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
Concentración	12.5 mg/mL	6.25 mg/mL	3.125 mg/mL	1.562 mg/mL	0.781 mg/mL	0.390 mg/mL	0.195 mg/mL	0.098 mg/mL

Clor: Clorhexidina (Control positivo), DMSO: Dimetilsulfóxido, MO: Microorganismo, TSB: Caldo Tripticasa Soja

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	H2O Estéril											H2O Estéril
B		100 uL MO + 100 uL C1	100 uL MO + 100 uL C2	100 uL MO + 100 uL C3	100 uL MO + 100 uL C4	100 uL MO + 100 uL C5	100 uL MO + 100 uL C6	100 uL MO + 100 uL C7	100 uL MO + 100 uL C8		TSB Estéril	
C		100 uL MO + 100 uL C1	100 uL MO + 100 uL C2	100 uL MO + 100 uL C3	100 uL MO + 100 uL C4	100 uL MO + 100 uL C5	100 uL MO + 100 uL C6	100 uL MO + 100 uL C7	100 uL MO + 100 uL C8		TSB Estéril	
D		100 uL MO + 100 uL C1	100 uL MO + 100 uL C2	100 uL MO + 100 uL C3	100 uL MO + 100 uL C4	100 uL MO + 100 uL C5	100 uL MO + 100 uL C6	100 uL MO + 100 uL C7	100 uL MO + 100 uL C8		TSB Estéril	
E		100 uL TSB estéril + 100 uL C1	100 uL TSB estéril + 100 uL C2	100 uL TSB estéril + 100 uL C3	100 uL TSB estéril + 100 uL C4	100 uL TSB estéril + 100 uL C5	100 uL TSB estéril + 100 uL C6	100 uL TSB estéril + 100 uL C7	100 uL TSB estéril + 100 uL C8		TSB Estéril	
F		100 uL Clor + 100 uL MO	100 uL Clor + 100 uL MO	100 uL Clor + 100 uL MO	100 uL Clor + 100 uL MO	100 uL Clor + 100 uL MO	100 uL Clor + 100 uL MO				TSB Estéril	
G		100 uL DMSO + 100 uL MO	100 uL DMSO + 100 uL MO	100 uL DMSO + 100 uL MO	100 uL DMSO + 100 uL MO	100 uL DMSO + 100 uL MO	100 uL DMSO + 100 uL MO				TSB Estéril	
H		200 uL MO	200 uL MO	200 uL MO	200 uL MO	200 uL MO	200 uL MO				TSB Estéril	H2O Estéril

Anexo 09.

Diseño de la microplaca post incubación

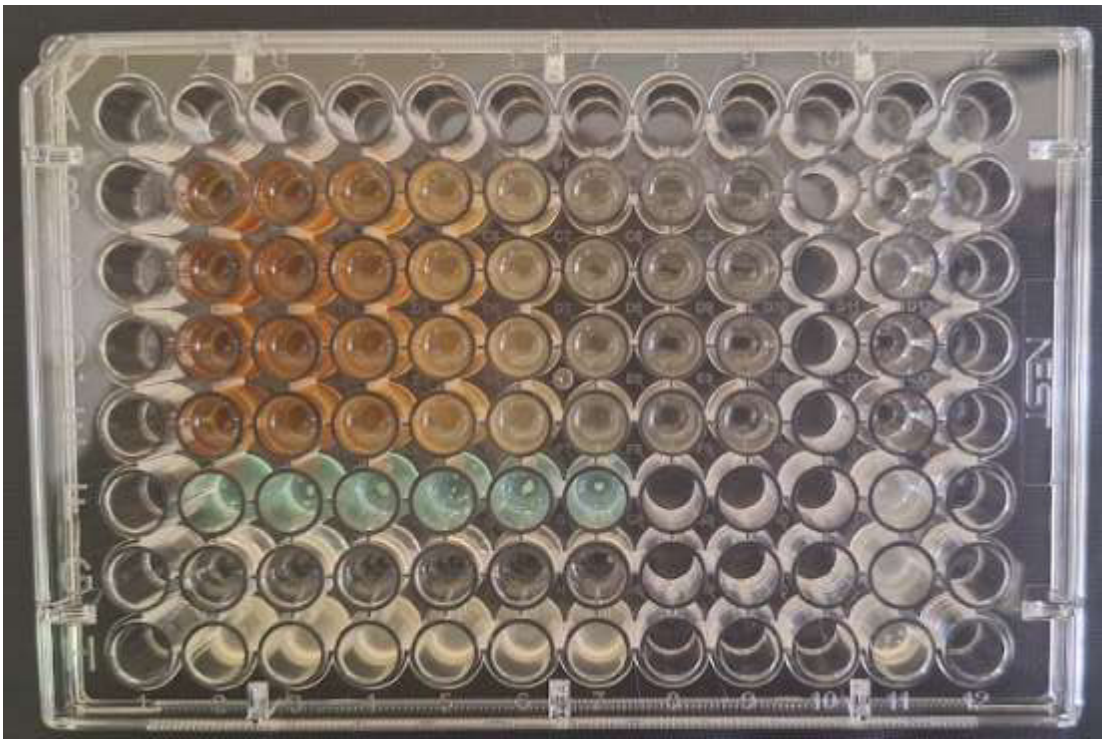

Figura 5. Diseño microplaca post incubaci