

La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*

Antibacterial activity of *Camellia sinensis* versus propolis against *Streptococcus mutans*

César Félix Cayo Rojas^{1 2 3 *}

 <http://orcid.org/0000-0002-5560-7841>

Luis Adolfo Cervantes Ganoza²

 <http://orcid.org/0000-0001-6090-6750>

¹ Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Instituto de Investigación. Lima, Perú.

² Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Estomatología. Lima, Perú.

³ Universidad Nacional Federico Villarreal, Escuela Universitaria de Posgrado. Lima, Perú.

RESUMEN

Introducción: El té verde (*Camellia sinensis*) y el propóleo presentan flavonoides, que inhiben el crecimiento, metabolismo y la coagregación del *Streptococcus mutans*, principal agente causal de la caries dental.

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 % comparado con extracto etanólico de propóleo al 10 % y 20 %, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Métodos: Estudio experimental *in vitro*, longitudinal, prospectivo y comparativo. El universo estuvo constituido por 90 discos de difusión y la muestra por 15 discos embebidos en té verde (*Camellia sinensis*) o propóleo a diferentes concentraciones, clorhexidina acuosa al 0,12 % y agua destilada. El tamaño de muestra se calculó por fórmula de comparación de medias, después de realizar un estudio piloto. Se colocaron los discos de difusión embebidos en las sustancias sobre agar Mueller Hinton, sembrado con *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), haciendo medición del ancho de los halos inhibitorios a las 24 y 48 h. Se aplicaron pruebas de comparación no paramétricas de Kruskal Wallis y la prueba rangos de Wilcoxon.

Resultados: El máximo ancho de halo inhibitorio logrado por clorhexidina acuosa al 0,12 %, extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 % y extracto etanólico de propóleo al 20 % fue a las 24 h con valores de 10,64 mm ± 0,924 mm, 6,82 mm ± 0,982 mm y 8,36 mm ± 1,286 mm, respectivamente. El extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 %, presentó diferencias estadísticamente significativas respecto al extracto etanólico de propóleo al 20 %, tanto a las 24 h ($p= 0,013$), como a las 48 h ($p= 0,011$).

Conclusiones: Frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), el extracto etanólico de propóleo al 20 % presenta mayor actividad antibacteriana respecto al extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 %, actividad que disminuye con el paso del tiempo.

Palabras clave: *Camellia sinensis* (té verde); propóleo; clorhexidina

ABSTRACT

Introduction: Green tea (*Camellia sinensis*) and propolis contain flavonoids which inhibit the growth, metabolism and co-aggregation of *Streptococcus mutans*, the main causative agent of dental caries.

Objective: Evaluate the antibacterial activity *in vitro* of 10% and 20% green tea (*Camellia sinensis*) ethanolic extract versus 10% and 20% propolis ethanolic extract against the growth of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) strains.

Methods: An *in vitro* experimental prospective longitudinal comparative study was conducted. The study universe was 90 diffusion disks and the sample was 15 disks soaked up in green tea (*Camellia sinensis*) or propolis at various concentrations, 0.12% aqueous chlorhexidine and distilled water. Sample size was estimated by the comparison of means formula after conducting a pilot study. The diffusion disks soaked up in the substances were placed on Mueller Hinton agar planted with *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) and the width of the inhibition haloes was measured at 24 h and 48 h. Nonparametric Kruskal-Wallis comparison tests and the Wilcoxon rank test were performed.

Results: The maximum width of the inhibition halo achieved by 0.12% aqueous chlorhexidine, 20% green tea (*Camellia sinensis*) ethanolic extract, and 20% propolis ethanolic extract at 24 h was 10.64 mm \pm 0.924 mm, 6.82 mm \pm 0.982 mm and 8.36 mm \pm 1.286 mm, respectively. The 20% green tea (*Camellia sinensis*) ethanolic extract showed statistically significant differences with respect to the 20% propolis ethanolic extract, both at 24 h ($p= 0.013$) and at 48 h ($p= 0.011$).

Conclusions: The 20% propolis ethanolic extract displays greater antibacterial activity against the growth of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) strains than the 10% and 20% green tea (*Camellia sinensis*) ethanolic extract. This activity decreases with the passing of time.

Keywords: *Camellia sinensis* (green tea); propolis; chlorhexidine

INTRODUCCIÓN

La importancia en la actualidad de la medicina natural se evidencia por el alto consumo de los productos recomendados por esta alternativa para el manejo de las enfermedades y por su efectividad a bajo costo. Se sabe que más de 100 millones de europeos utilizan actualmente la medicina tradicional complementaria (MTC), una quinta parte de ellos recurre regularmente a esta, y una proporción similar prefiere atención sanitaria que la incluya. El número de usuarios de MTC es mucho mayor en África, Asia, Australia y América del Norte. En estos últimos años, por ejemplo en Singapur y la República de Corea, en los que el sistema convencional de atención de

salud está bien establecido, el 76 % y el 86 % de las respectivas poblaciones sigue recurriendo a la medicina tradicional.¹

En el campo de la odontología existen diversos estudios acerca de diferentes medicinas complementarias que buscan el efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans*, como es el caso del té verde (*Camellia sinensis*) y el propóleo aplicados al campo de la caries dental y otras afecciones bucales.

Sin embargo, existen discrepancias sobre la concentración idónea similar al efecto de la clorhexidina acuosa al 0,12 %; pues existen estudios en los que se observa aplicación de extracto etanólico de diferentes productos naturales hasta al 100 %, "asumiendo" que es totalmente puro, sin embargo, es químicamente imposible obtener esto en concentraciones a partir de muestra seca de producto diluido en alcohol. Por ello es común que internacionalmente se trabaje como estándar a una concentración de 10 % como extracto etanólico de diferentes productos naturales, pudiéndose lograr una concentración de 20 % aplicando rotavapor al vacío, por ejemplo, en el caso del té verde y el propóleo, siendo a la vez difícil obtener más concentración pues solo se logra precipitar el solvente. Es por ello que el problema de investigación es: ¿cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 % comparado con el extracto etanólico de propóleo al 10 % y 20 % frente al crecimiento de cepas del *Streptococcus mutans* (ATCC 25175)?

Diversos autores como *Hegde* y *Kamath*, demostraron que la clorhexidina acuosa al 0,12 % disminuye significativamente el número de cepas de *Streptococcus mutans* en comparación a un enjuagatorio combinado Thermokind® y otro enjuagatorio de té verde.² *Mohan* y otros demostraron, en un estudio comparativo a simple ciego con grupos de 20 piezas dentarias, que tanto el diodo láser y el propóleo de Brasil presentan similar efectividad tanto como la clorhexidina acuosa al 2% en la desinfección de cavidades.³

Anita y otros evaluaron la efectividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) frente a *Streptococcus mutans* y demostraron que la concentración mínima inhibitoria (MIC) de este, respecto al *Streptococcus mutans* fue de 0,2 % y la concentración mínima bactericida (MBC) de 0,8 %. Estos mismo autores encontraron que la zona media de inhibición para 30 µL conteniendo 300 µg de extracto etanólico de té verde contra *Streptococcus mutans* fue de 18,33 mm, llegando a la conclusión de que presenta efectividad antimicrobiana frente a este microorganismo.⁴

Libério y otros analizaron los estudios *in vitro* e *in vivo* publicados entre 1978 y el año 2008 sobre el efecto bactericida del propóleo sobre el *Streptococcus mutans*, y concluyeron en relación con la adherencia bacteriana, que el propóleo reduce la actividad de la glucosiltransferasa de manera que disminuye los indicadores de caries dental.⁵ *Moreno* y otros demostraron que el propóleo brasileño libre de flavonoides (tipo 6) presentaba efectos bacteriostáticos contra el *Streptococcus mutans* e inhibió la actividad de las enzimas glucosiltransferasas.⁶ *Mayta* y *Sacsquispe* evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 10 % y 30 % y lo compararon con clorhexidina acuosa al 0,12 %, Listerine® y agua destilada. Como conclusión se obtuvo que el extracto etanólico de propóleo al 30 % fue más eficaz que el Listerine® contra el *Streptococcus mutans* ($p < 0,001$).⁷

Es por los antecedentes antes expuestos que se propone como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 % comparado con extracto etanólico de propóleo al 10 % y 20 %, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

MÉTODOS

El estudio fue experimental *in vitro*, longitudinal, prospectivo y comparativo.

El universo estuvo constituido por 90 discos de difusión y la muestra por 15 discos embebidos en cada aplicación de la variable independiente. El tamaño de muestra se obtuvo después de hacer un estudio piloto comparativo, en el que se obtuvo desviación estándar $S1 = 0,71$ (grupo prueba) y $S2 = 0,89$ (grupo control), para luego reemplazar estos valores en la fórmula de muestreo para comparación de medias y una vez obtenido el resultado se hizo la selección por método aleatorio simple.

El experimento y registro de datos se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Estomatología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Las variables empleadas en el estudio fueron:

- Extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*): Se aplicó a concentraciones del 10 % y 20 %.
- Extracto etanólico de propóleo: Se aplicó a concentraciones del 10 % y 20 %.
- Clorhexidina acuosa al 0,12 % (control positivo).
- Actividad antibacteriana: se evaluó como indicador los anchos de los halos inhibitorios expresados en milímetros.

Técnica y procedimientos de obtención de la información

Obtención de principios activos

Preparación del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*): En un envase de vidrio estéril de 4 L de capacidad se colocó $\frac{1}{2}$ kg de hojas molidas de *Camellia sinensis*, para ser sometidas a secado en una estufa a 60 °C por 2 h. Seguidamente se agregó solución de alcohol etílico al 96 % hasta cubrir completamente el material vegetal seco, todo lo cual fue puesto en maceración por 7 días, con agitación del frasco de 3 a 4 veces en 24 h. Después de ello, se procedió al proceso de filtración con la ayuda de una membrana estéril. Para evaporar el alcohol del filtrado se utilizó un Buche de Rotavapor V-805 a 270 mbar de presión con una temperatura de 40 °C y a 100 r.p.m.; de esta manera se obtuvo el principio activo del producto natural. Luego se le agregó agua químicamente pura para obtener las concentraciones deseadas al 10 % (100 mg/mL) y 20 % (200 mg/mL) del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*).

Preparación del extracto etanólico de propóleo: Respecto a la obtención del propóleo se enfrió la muestra hasta 0 °C, luego se pesó 20 g, se transfirió a un matraz de 250 mL y se le añadió 200 mL de etanol de 80°, luego se sometió a reflujo en equipo Soxhlet durante 1 h. Al cabo de este tiempo se detuvo y se filtró a través de papel filtro Whatman N° 40, se separó el filtrado y el sólido residual se sometió nuevamente a

reflujo con 200 mL de etanol de 80°, el nuevo filtrado se unió al anterior, obteniendo así el extracto final. Luego se transfirió a un rotavapor tipo Büchi y se mantuvo en evaporación hasta desaparecer el solvente. El sólido que se obtuvo se sometió a secado en estufa a 70 °C durante 2 h, resultando así una concentración al 10 %, luego otra vez con la ayuda del rotavapor al vacío se obtuvo una concentración máxima sin precipitarse al 20 %.

Disolución del medio de cultivo deshidratado

Se adquirió el agar Müller Hinton ya preparado en estado gelificado y se procedió a poner en baño María hasta lograr la disolución coloidal a medio líquido.⁸⁾ Luego se procedió al vaciado en las placas Petri estériles y a esperar de nuevo su gelificado, al enfriarse en un periodo de 30 min. Acto seguido se hizo el sembrado de las cepas bacterianas.

Procedimiento microbiológico

Antes de realizar el cultivo de las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), estas fueron reactivadas debido a que se encontraban a -80 °C, para lo cual se sometieron a dos pasos de reactivación a las 24 y 48 h antes de su cultivo y fueron colocadas a 37 °C a una turbidez de 0,5 de la escala de McFarland. Posterior a esto estuvieron aptas para realizar el sembrado en las placas Petri mediante la técnica de hisopado de superficie,⁹⁾ después de lo cual se procedió a colocar las placas sembradas en la incubadora a 37 °C por 24 h.

Se colocaron seis discos de difusión (papel filtro de 5 mm de diámetro) en cada una de las 15 placas Petri con agar Mueller Hinton, sembrada con *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). En cada placa hubo un disco embebido en: extracto etanólico de propóleos al 10 %, al 20 %, extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 %, al 20 %, clorhexidina acuosa al 0,12 % (control positivo) y agua destilada (control negativo).

Medición de los halos

La medición de los anchos de los halos formados alrededor de los discos de difusión fue realizada a las 24 y 48 h de su colocación, con un vernier digital calibrado 200 mm x 0,01 mm / 8" x 0,005" CE, marca Vogel Alemania® y se anotó en la ficha de recolección de datos. Se utilizó para la medición el método de Kirby - Bauer modificado (tomando como medida el ancho del halo sin considerar el disco de papel).

Se aplicó la técnica de doble ciego, porque tanto el investigador que midió los halos de inhibición como el que realizó el análisis estadístico, desconocía la asignación de las variables independientes aplicadas en los discos de difusión.

Los resultados fueron recogidos en una base de datos elaborada en Microsoft Excel 2016®, importada al paquete estadístico SPSS versión 24.0. Todas las pruebas estadísticas fueron contrastadas a un nivel de confianza del 95 % aceptando un error tipo 1 de 5 % y para el contraste de hipótesis de diferencia; se aplicó las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis para comparar tres grupos independientes y se utilizó la prueba de rangos de Wilcoxon para comparar dos muestras relacionadas (a las 24 y 48 h).

En la presente investigación, no intervinieron seres humanos, ni animales como sujetos de estudio.

RESULTADOS

El máximo ancho de halo inhibitorio logrado por la clorhexidina acuosa al 0,12 % fue a las 24 h, con valores de 10,64 mm \pm 0,924 mm. Con respecto al extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*), se obtuvo el máximo ancho de halo inhibitorio a las 24 h, para la concentración al 10 %, con valores de 5,64 mm \pm 0,505 mm y para la concentración del 20 %, presentó valores de 6,82 mm \pm 0,982 mm. De la misma forma con respecto al extracto etanólico de propóleo se obtuvo el máximo ancho de halo inhibitorio a las 24 h, al 10 % con valores de 6,18 mm \pm 0,982 mm y para la concentración del 20 %, se obtuvo 8,36 mm \pm 1,286 mm ([tabla 1](#)).

Tabla 1- Medidas de tendencia central, límites de ancho de halos inhibitorios (en mm), de acuerdo con grupo y tiempo

Grupo	Tiempo (h)	Media	IC95 %		Mediana (mm)	DE	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
			Li	Ls				
Clorhexidina acuosa al 0,12 %	24	10,64	10,02	11,26	10,00	0,924	10	12
	48	9,82	9,31	10,32	10,00	0,751	9	11
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 10 %	24	5,64	5,30	5,98	6,00	0,505	5	6
	48	5,09	4,53	5,65	5,00	0,831	4	6
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 20 %	24	6,82	6,16	7,48	7,00	0,982	5	8
	48	6,09	5,62	6,56	6,00	0,701	5	7
Extracto etanólico de propóleo al 10 %	24	6,18	5,52	6,84	6,00	0,982	5	8
	48	5,82	5,23	6,41	6,00	0,874	5	7
Extracto etanólico de propóleo al 20 %	24	8,36	7,50	9,23	9,00	1,286	6	10
	48	7,82	7,23	8,41	8,00	0,874	6	9

IC: índice de confiabilidad; Li: límite inferior; Ls: límite superior; DE: desviación estándar.

En la [tabla 2](#) se observa a las 24 h, que las diferencias de la actividad antibacteriana son muy significativas entre el extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y propóleo al 20 % ($p < 0,0001$). También se hallaron diferencias significativas entre extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 % y propóleo al 20 % ($p = 0,013$). No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre concentraciones del extracto etanólico del té verde (*Camellia sinensis*) ($p = 0,091$) y de igual manera entre concentraciones del extracto de propóleo ($p = 0,06$).

Tabla 2- Ancho de halos inhibitorios (en mm), que logra cada grupo a las 24 h

Grupo	Media	Mediana	p-valor ^a	1 vs. 2	1 vs. 3	1 vs. 4	2 vs. 3	2 vs. 4	3 vs. 4
				p-valor ^a					
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 10 % (1)	5,64	6,00	0,000**	0,091	0,437	0,000**	1,000	0,013*	0,06
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 20 % (2)	6,82	7,00							
Extracto etanólico de propóleo al 10 % (3)	6,18	6,00							
Extracto etanólico de propóleo al 20 % (4)	8,36	9,00							

^aBasado en la prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes; **muy significativo $p < 0,0001$; *significativo $p < 0,05$.

En la [tabla 3](#) se observa a las 48 h, que las diferencias de la actividad antibacteriana es muy significativa entre el extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y propóleo al 20 % ($p < 0,0001$). Asimismo, se hallaron diferencias significativas entre los extractos etanólicos al 20 % de té verde (*Camellia sinensis*) y de propóleo ($p = 0,011$) y entre las concentraciones del extracto de propóleo ($p = 0,042$).

Tabla 3- Ancho de halos inhibitorios (en mm), que logra cada grupo a las 48 h

Grupo	Media	Mediana	p-valor ^a	1 vs. 2	1 vs. 3	1 vs. 4	2 vs. 3	2 vs. 4	3 vs. 4
				p-valor ^a					
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 10 % (1)	5,09	5,00	0,000**	0,926	1,000	0,000**	1,000	0,011*	0,042*
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 20% (2)	6,09	6,00							
Extracto etanólico de propóleo al 10% (3)	5,82	6,00							
Extracto etanólico de propóleo al 20% (4)	7,82	8,00							

^aBasado en la prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes; **muy significativo ($p < 0,0001$); *significativo $p < 0,05$.

En la [tabla 4](#) se observa, que la actividad antibacteriana a las 24 h de los extractos etanólicos al 10 % de propóleo y de té verde (*Camellia sinensis*), cada uno comparado con la clorhexidina acuosa al 0,12 %, presentaron diferencias estadísticas muy significativas (ambos $p < 0,0001$). En este mismo sentido al comparar los extractos etanólicos al 20 % de propóleo y de té verde (*Camellia sinensis*) con la clorhexidina acuosa al 0,12 %, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p = 0,023$ y $p = 0,009$, respectivamente).

Tabla 4- Ancho de halos inhibitorios (en mm), de extractos etanólicos de propóleo y *Camellia sinensis* respecto a la clorhexidina acuosa, a las 24 h

Grupo	Media	Mediana	DE	p-valor ^a	1 vs. 5	2 vs. 5	3 vs. 5	4 vs. 5
					p-valor ^a			
Extracto etanólico de propóleo al 10 % (1)	6,18	6,00	0,982	0,000**	0,000**	0,023*	0,000**	0,009*
Extracto etanólico de propóleo 20 % (2)	8,36	9,00	1,286					
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 10 % (3)	5,64	6,00	0,505					
Extracto etanólico de Té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 20 % (4)	6,82	7,00	0,982					
Clorhexidina acuosa al 0,12 % (5)	10,64	10,00	0,924					

^aBasado en la prueba de Kruskal Wallis para muestras independientes; DE: desviación estándar; **muy significativo ($p < 0,0001$); *significativo ($p < 0,05$).

En la [tabla 5](#), entre las 24 y 48 h, se observa que en la actividad antibacteriana del extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 %, no se hallaron diferencias significativas ($p = 0,063$). Para el extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 20 % se halló diferencias significativas ($p = 0,011$), de la misma manera que para el propóleo al 10 % y 20 % ($p = 0,046$ y $p = 0,014$, respectivamente).

Tabla 5- Variación de ancho de halos inhibitorios, según grupo, entre las 24 h y 48 h

Grupo	Tiempo	Media	Mediana	DE	p-valor ^a
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 10%	24	5,64	6,00	0,505	0,063
	48	5,09	5,00	0,831	
Extracto etanólico de té verde (<i>Camellia sinensis</i>) al 20 %	24	6,82	7,00	0,982	0,011*
	48	6,09	6,00	0,701	
Extracto etanólico de propóleo al 10 %	24	6,18	6,00	0,982	0,046*
	48	5,82	6,00	0,874	
Extracto etanólico de propóleo al 20 %	24	8,36	9,00	1,286	0,014*
	48	9,82	10,00	0,751	
Clorhexidina acuosa al 0,12 %	24	10,64	10,00	0,924	0,007**
	48	9,82	10,00	0,751	

^aBasado en la prueba de rangos de Wilcoxon, **muy significativo ($p < 0,01$), *significativo $p < 0,05$; DE: desviación estándar.

DISCUSIÓN

Este estudio se limitó a evaluar concentraciones de extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) y de propóleo, ambas al 10 % y 20 %, porque es la máxima concentración que se pudo obtener a partir de dilución del solvente en seco, sin que este se precipite. No se utilizó el método de Kirby-Bauer tradicional, pues se tomó como medida el ancho del halo de inhibición alrededor del disco de difusión.

Hegde y Kamath,² demostraron mayor efectividad del enjuagatorio con clorhexidina al 0,12 % en comparación al extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) al 0,5 % para reducir el recuento de *Streptococcus mutans*, de manera que se comportó similar a lo obtenido en esta investigación, pues a pesar de aplicar mayor concentración no se logró igualar al efecto de la clorhexidina acuosa al 0,12 %.

Anita y otros⁴ concluyeron que, el extracto etanólico de té verde (*Camellia sinensis*) presenta efecto bactericida contra el *Streptococcus mutans* al lograr halos de inhibición en promedio de 18,33 mm, muy similar a lo obtenido en el presente estudio para el mismo producto al 20 %, pues al ser el promedio del ancho del halo de inhibición 6,82 mm, el diámetro del halo de inhibición (incluido el diámetro del disco de papel de 5 mm) sería de 18,64 mm.

En el estudio realizado por Mayta y Sacsquispe,⁷ se obtuvo como resultado que el extracto etanólico de propóleo (EPP) al 30 % (con el método de Kirby - Bauer) presentó halos con una media de 11,77 mm, por lo que discrepamos con esta investigación, pues a las 24 h el EEP al 20 % formó un ancho de halo de 8,36 mm, lo que dio como resultado un diámetro de halo inhibitorio de 21,72 mm. Tal discrepancia se puede deber a que Mayta y Sacsquispe⁷ obtuvieron el propóleo de Oxapampa (Perú) mientras que en el actual estudio el propóleo fue originario de Chiclayo (Perú). Esta última teoría se corrobora con los resultados obtenidos por Libério y otros,⁵ quienes concluyeron que la zona geográfica influye en las propiedades bactericidas que presenta el propóleo; tal como también Moreno y otros⁶ demostraron que el propóleo al ser proveniente de Brasil, presenta diferentes tipos de flavonoides que modifican su efecto bactericida contra el *Streptococcus mutans*.

Entre las 24 y 48 h, Mayta y Sacsquispe,⁷ demostraron que el efecto bactericida del propóleo no cambia, lo cual resultan similar a lo observado en el presente trabajo.

Mohan y otros³) y Akca y otros¹⁰) demostraron a las 24 y 48 h, respectivamente, que el extracto etanólico de propóleo tiene similar efectividad antibacteriana que la clorhexidina acuosa al 2 %, lo cual se comportó diferente en la investigación aquí realizada, pues a las 24 h se demostró que la clorhexidina acuosa al 0,12 % presentó mayor efectividad antibacteriana con respecto al extracto etanólico de propóleo al 10 % y 20 %; sin embargo, hay que precisar que a las 48 h, la media de halos inhibitorios fue similar entre el extracto etanólico de propóleo al 20 % y clorhexidina acuosa al 0,12 %. Estos resultados se pueden deber a que la clorhexidina bloquea los grupos de ácidos libres (sulfatos, carboxilos y fosfatos) y esto trae como consecuencia la no adhesión y coagregación de las bacterias, además la clorhexidina se une a las cargas negativas que se hallan sobre la pared celular de la bacteria y de esta forma dificulta el mecanismo de adherencia entre ellas.¹¹

Por otro lado, el propóleo demostró mayor efectividad antibacteriana frente a los extractos de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 %, lo que puede ser debido a que se ha informado en diversos estudios^{3,5,6,11} que su acción antimicrobiana es mayor contra las bacterias grampositivas. El propóleo inhibe las glucosiltransferasas B, C¹⁰ y RNA polimerasa bacteriana gracias a los polifenoles que presenta,^{12,13,14} por ejemplo las catequinas (flavan-3-ols) también conocidas como taninos, que sirven como constituyentes astringentes,¹⁵ tales como: pinocembrina, galangina y quercetina.¹⁰ El mecanismo de acción de la galangina, es degradar la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que conduce a una pérdida de iones de potasio, provocando autólisis de la célula. La quercetina¹⁰ aumenta la permeabilidad de la membrana celular, y disipa su potencial de acción haciendo que las bacterias pierdan su capacidad de movimiento, transporte de membrana y síntesis de ATP, lo que sugiere no solo un efecto bacteriostático sino también bactericida. El fenil éster del ácido cafeico de su composición, contribuye también al efecto antimicrobiano.¹⁶

Con respecto al té verde (*Camellia sinensis*) se propone que su acción antibacteriana se basa en los fluoruros y en las catequinas galvanizadas¹⁷ que presenta, pues inhiben la enzima glucosiltransferasa B, C y D bacteriana, responsable de la síntesis de glucanos que permite la coagregación bacteriana.¹⁸

En conclusión, frente al crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), el extracto etanólico de propóleo al 20 % presenta mayor actividad antibacteriana respecto a los extractos etanólicos de propóleo al 10 % y de té verde (*Camellia sinensis*) al 10 % y 20 %, actividad que disminuye con el paso del tiempo. Además en este estudio se demuestra que a mayor concentración de extracto etanólico tanto para el té verde (*Camellia sinensis*) como para el propóleo, mayor su efecto antibacteriano, y así lograr un pico alto de este efecto en las primeras 24 h.

Se recomienda calcular la concentración de citotoxicidad del extracto etanólico de propóleo y de té verde (*Camellia sinensis*), usando líneas celulares con el método de LC₅₀, para no solo conocer la concentración idónea bactericida sino también saber si esa concentración no causaría daño celular (hepático o renal).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. 2013 [acceso 14/07/2019]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/95008>
2. Hegde RJ, Kamath S. Comparison of the *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* colony count changes in saliva following chlorhexidine (0.12%) mouth rinse, combination mouth rinse, and green tea extract (0.5%) mouth rinse in children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* [Internet]. 2017 [acceso 14/01/2019];35(2):150-5. Disponible en: https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_13_17
3. Mohan PU, Uloopi KS, Vinay C, Rao RC. In vivo comparison of cavity disinfection efficacy with APF gel, Propolis, Diode Laser and 2% chlorhexidine in primary teeth. *Contemp Clin Dent* [Internet] 2016 [acceso 14/01/2019];7(1):45-50. Disponible en: <https://doi.org/10.4103/0976-237X.177110>

4. Anita P, Sivasamy S, Madan Kumar PD, Balan IN, Ethiraj S. In vitro antibacterial activity of *Camellia sinensis* extract against cariogenic microorganisms. *J Basic Clin Pharma* [Internet]. 2015 [acceso 14/01/2019];6(1):35-9. Disponible en: <https://www.jbclinpharm.org/articles/in-vitro-antibacterial-activity-of-camellia-sinensis-extract-against-cariogenic-microorganisms.html>
5. Libério SA, Pereira ALA, Araújo MJAM, Dutra RP, Nascimento FRF, Monteiro-Neto V, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology* [Internet]. 2009 [acceso 14/01/2019];125(1):1-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.047>
6. Moreno Z, Martínez P, Figueroa J. Efecto antimicrobiano in vitro de propóleos argentinos, colombianos y cubano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *NOVA 2007* [acceso 14/01/2019];5(7):70-5. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/411/41150710.pdf>
7. Mayta F, Sacsquispe 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 Herediana* [Internet]. 2010 [acceso 12/07/2019];20(1):19-24. Disponible en: <https://doi.org/10.20453/reh.v20i1.1777>
8. Sarkar P, Kumar S, Das S, Airen B. Anticariogenic potential of *Camellia sinensis* on *Streptococcus mutans* - An in vitro study. *J Evolution Med Dent Sci* [Internet]. 2019 [acceso 20/09/2019];8(16):1268-72. DOI: 10.14260/jemds/2019/283. Disponible en: https://www.jemds.com/data_pdf/pubali%20sarkar-apr-22-.pdf
9. Arévalo A, Gómez P. Efectividad antibacteriana de productos naturales frente a microorganismos patógenos de la flora oral. In *Crescendo Ciencias de la Salud*. 2016;2(2):530-7.
10. Akca AE, Akca G, Toksoy Topçu F, Macit E, Pıkdöken L, Serif I. The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *Biomed Res Int* [Internet]. 2016 [acceso 20/09/2019]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2016/3627463>
11. Lamont RJ, Hajjshengallis GN, Jenkinson HF. *Microbiología e Inmunología Oral*. México: El Manual Moderno; 2015.
12. Padilla K. Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. *Pueblo Continente*. 2015;24(2):349-356.
13. Fan D, Fan K, Yu C, Lu Y, Wang X. Tea polyphenols dominate the short-term tea (*Camellia sinensis*) leaf litter decomposition. *J Zhejiang Univ Sci B* [Internet]. 2017 [acceso 20/09/2019];18:(2):99-108. Disponible en: <https://doi.org/10.1631/jzus.B1600044>

14. Baladia E, Basulto J, Manera M, Martínez R, Calbet D. Efecto del consumo de té verde o extractos de té verde en el peso y en la composición corporal: revisión sistemática y metaanálisis. *Nutr Hosp* [Internet]. 2014 [acceso 20/09/2019];29(3):479-90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3305/NH.2014.29.3.7118>
15. Khurshid Z, Zafar MS, Zohaib S, Najeeb S, Naseem M. Green Tea (*Camellia Sinensis*): Chemistry and Oral Health. *Open Dent J Internet*. 2016 acceso 20/09/2019;10(Suppl.1):166-73. doi: 10.2174 / 1874210601610010166. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4911733/>
16. Veloz JJ, Saavedra N, Lillo A, Alvear M, Barrientos L, Salazar L. Antibiofilm Activity of Chilean Propolis on *Streptococcus mutans* Is Influenced by the Year of Collection. *Biomed Res Int Internet*. 2015 acceso 20/09/2019. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2015/291351>
17. Kawarai T, Narisawa N, Yoneda S, Tsutsumi Y, Ishikawa J, Hoshino Y, et al. Inhibition of biofilm formation of *Streptococcus mutans* using Assam tea extracts compared to green tea. *Arch Oral Biol Internet*. 2016 cited in 2019 Set 20;68:73-82. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.04.002>
18. Ren Z, Chen L, Li J, Li Y. Inhibition of *Streptococcus mutans* polysaccharide synthesis by molecules targeting glycosyltransferase activity. *J Microbiol Oral Internet*. 2016 cited in 2019 Set 20;8(1). DOI: 10.3402 / jom.v8.31095Recibido: 17 de Julio de 2019; Aprobado: 12 de Noviembre de 2019

*Autor para la correspondencia: cesarcayorojas@gmail.com

Los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de intereses.

César Félix Cayo Rojas: Concibió la idea de investigación y diseñó la metodología del trabajo de investigación, ejecutó la parte experimental, revisó el manuscrito y aprobó la versión final.

Luis Adolfo Cervantes Ganoza: Realizó la medición del ancho de los halos inhibitorios, desarrolló la parte estadística y confeccionó el manuscrito.