

# Efecto antibacteriano *In vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis*

## *In-vitro* antibacterial effect of hydro-alcoholic extract of propolis and sodium hypochlorite against *enterococcus faecalis*

Glenny P. Alvarado Castillo<sup>1</sup>, Miguel A. Otiniano Trujillo<sup>2</sup>, María E. Arteaga Cárdenas<sup>3</sup>, Carmen I. Ayala Jara<sup>4</sup>

Recibido: 5 de noviembre de 2014  
Aceptado: 27 de diciembre de 2014

### Resumen

El objetivo del presente trabajo de investigación fue comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente a la cepa *Enterococcus faecalis*. El presente estudio experimental determinó la CMI y CMB del extracto hidroalcohólico de propóleo y del hipoclorito de sodio frente al *Enterococcus faecalis* mediante la técnica de turbidez óptica. Posteriormente se trabajó con 55 dientes divididos en tres grupos, los cuáles fueron inoculados con *Enterococcus faecalis* y colocados en la estufa a 37° C por 24 horas. Luego, el G1 = 22 dientes, fueron irrigados con 2 ml. de extracto hidroalcohólico de propóleo a su CMB; el G2=22 dientes, irrigados con 2 ml. de hipoclorito de sodio a su CMB; y G3 (control) = 11 dientes, irrigados con 2 ml. de solución salina fisiológica. Luego, se obtuvo una muestra del interior de cada conducto con un cono de papel estéril, el cuál se colocó en tubos de ensayo que contenían BHI y fueron incubados en estufa a 37° por 4 días; pos-

teriormente se obtuvo una muestra de dichos tubos y se colocó en placas Petri con agar Mueller Hilton y se incubó en estufa a 37° C por 24 horas. Los hallazgos obtenidos muestran que la CMI y CMB del extracto hidroalcohólico de propóleo fue 10% y la CMI y CMB del hipoclorito de sodio fue 20%. No hubo crecimiento bacteriano en las muestras obtenidas del G1 y G2. El análisis estadístico, según la prueba de Mann Whitney, determinó que no hubo diferencia significativa ( $p=1.000$ ) entre el G1 y G2. Se concluyó que NO existe diferencia significativa entre el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente al *Enterococcus faecalis*.

**Palabras Claves:** Efecto antibacteriano, Extracto hidroalcohólico de propóleo, Hipoclorito de sodio, Concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida.

### Abstract

The objective of this research work was to compare the *in-vitro* antibacterial effect of hydro-alcoholic extract of propolis and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* strain. This experimental study was done in order to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of propolis hydro-

alcoholic extract and the sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*, using the optical turbidity technique. Later on, the work was done with 55 teeth which were divided into three groups (G1 = 22 teeth, G2 = 22 teeth and G3 = (Control Group) 11 teeth). The teeth were inoculated with *Enterococcus faecalis* and placed in the oven at 37 °C for

1 Cirujano Dentista. Maestra en Estomatología. Docente de la UPAO.

2 Microbiólogo. Personal Administrativo de la UPAO.

3 Bachiller en Estomatología. Egresada de la UPAO.

4 Químico Farmacéutico. Doctora en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo.

24 hours. Then, the G1 teeth were irrigated with 2 ml. of hydro-alcoholic extract of propolis – MBC. The G2 teeth were irrigated with 2 ml. of sodium hypochlorite – MBC, and the G3 (Control Group) teeth were irrigated with 2 ml. of physiological saline. After that, a sample was taken from the inside of each duct by using a sterile paper cone. The samples were placed in test tubes containing Brain Heart Infusion (BHI) and incubated in an oven at 37 ° for 4 days. Then a sample taken from those test tubes was placed in Petri dishes with agar Mueller Hilton and put to incubate in an oven at 37 ° C for 24 hours. The MIC and MBC of hydro-alcoholic extract of propolis was 10% and the MIC and MBC of sodium hypochlorite was 20%. There was no bacterial growth in the samples G1 and G2. Statistical analysis by the Mann Whitney test found no significant difference ( $p = 1.000$ ) between the G1 and G2. There is no difference between the antibacterial effects of hydro-alcoholic extract of propolis and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*.

**Keywords:** antibacterial effect, propolis hydro-alcoholic extract, sodium hypochlorite, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration.

## INTRODUCCIÓN

La composición de la flora bacteriana en los conductos radiculares necróticos es afectada por varios factores locales: la cantidad de oxígeno en el canal radicular, acceso y disponibilidad de los nutrientes, sinergismo bacteriano y sistema de defensa del huésped. En la periodontitis apical, la ecología bacteriana puede ser puramente anaerobia, pero puede estar en muchos casos acompañada de bacterias facultativas. En dientes previamente endodonciados y con periodontitis apical, la ecología puede ser un poco diferente, y en muchos casos el medio ambiente no es sólo dominado por las bacterias anaerobias. La especie más comúnmente encontrada en dientes previamente endodonciados con periodontitis apical es *Enterococcus faecalis*.<sup>1, 2, 3</sup>

El *Enterococcus faecalis* está implicado en la persistencia de infecciones, incluyendo en el pronóstico del tratamiento de conductos radiculares.<sup>4,5</sup> De hecho, esta bacteria se ha aislado en periodontitis apicales crónicas y parece ser la responsable de muchos fracasos endodónticos.<sup>6,7,8</sup>

Sundqvist y col. encontraron numerosas especies de bacterias anaerobias en conductos radiculares donde el tratamiento de endodoncia había fallado. Algunas de estas bacterias eran *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus anginosus*, *Bacteroides fragilis* y *Fusobacterium nucleatum*. De todos estos casos, *Enterococcus faecalis* fue la bacteria más prevalente (38% de los casos), lo cual indica que esta bacteria es un agente causal importante de

las fallas del tratamiento endodóntico.<sup>9</sup>

Una vez que las bacterias se han establecido dentro del conducto radicular no pueden ser eliminadas por los mecanismos de defensa del huésped, así que las infecciones de origen pulpar son tratadas principalmente mediante procedimientos químico-mecánicos.<sup>4</sup>

La instrumentación por sí misma no es suficiente para conseguir dicho objetivo, por tanto, se utilizan agentes químicos para completar la limpieza del conducto.<sup>10, 11, 12</sup>

Para que estos irrigantes o agentes químicos sean eficaces deben cumplir una serie de condiciones como son la capacidad de disolver tejido orgánico tanto vital como necrótico, capacidad bactericida, proporcionar lubricación y hacer fluir hacia fuera del conducto radicular los detritus formados durante la instrumentación.<sup>10, 11, 12</sup>

Actualmente el irrigante de elección es el hipoclorito de sodio, propuesto a diferentes concentraciones debido a su capacidad bactericida y de disolución de tejido, tanto vital como necrótico.<sup>13,14</sup> Cunningham y col. en 1980 propusieron al hipoclorito de sodio como el irrigante más eficaz.<sup>15</sup>

Sin embargo, una de las características del irrigante ideal es que no sea tóxico y es en ese punto donde el hipoclorito de sodio tiene su mayor inconveniente, ya que se han descrito problemas como dolor severo inmediato, edema de los tejidos blandos y equimosis en caso de su extrusión a los tejidos periapicales.<sup>16, 17</sup>

Actualmente se considera al hipoclorito de sodio como la solución que tiene un gran poder bactericida contra el *Enterococcus faecalis*.<sup>18</sup>

En un estudio realizado por Pardina y col. observaron que un 83.3% de los dientes inoculados con el microorganismo *Enterococcus faecalis* y tratados con hipoclorito de sodio al 4% quedaron libres de bacterias.<sup>18</sup>

Gómez y col. obtuvieron un 100% de efectividad para todas las concentraciones de hipoclorito de sodio (desde 0.5% hasta 5.25%) a diferentes tiempos de contacto, en la eliminación de *Enterococcus faecalis*, observando también que el hipoclorito de sodio al 4% eliminaba al *Enterococcus faecalis* en 5 minutos.<sup>13</sup>

Spratt, obtuvo un 100% de efectividad del hipoclorito de sodio al 2.25% frente a *Enterococcus faecalis* con un modelo de estudio de biofilms aislados de los conductos radiculares.<sup>19</sup>

La apicultura, como rama de la ciencia, se practica desde tiempos inmemoriales. En el Papiro de Ebers, ya se hacía referencia a las acciones del propóleo, cuyo nombre significa como un escudo o

muralla de la ciudad.<sup>20</sup>

El propóleo es una resina cerosa de composición compleja y consistencia viscosa que las abejas elaboran y utilizan en la construcción, reparación, aislamiento y protección de la colmena.<sup>22</sup>

La composición del propóleo es muy compleja y variada. En función de la diversidad fitogeográfica de las zonas de recolección, se han detectado más de 180 compuestos. Sus principales componentes son resinas y bálsamos que contienen flavonoides y ácidos fenólicos o sus ésteres (50%), contenidos muy variables de ceras (7.5-35%) que afectarán a los correspondientes restantes componentes; aceites volátiles (10%), polen (5%) e impurezas (4.4-19.5%).<sup>21-29</sup>

El propóleo es un producto de importante interés para la medicina por sus efectos antiinflamatorios, inmunoestimulantes, hepatoprotectores, carcinoestáticos, antimicrobianos, antivirales, antifúngicos, antiprotzoarios, anestésicos y de regeneración tisular.<sup>30-33</sup>

El secreto del uso del propóleo, radica en sus propiedades antimicrobianas, bacteriostático y bactericida, proporcionadas por los ácidos benzoicos, oxibenzoico, metoxibenzoico, caféico, ferúlico, los sesquiterpenos y las flavononas (principalmente la galangina). La actividad antibacteriana del propóleo es mucho más notable sobre las bacterias grampositivas que sobre las gramnegativas, pero con ambos tipos de bacterias tiene una acción superior que los antibióticos cloranfenicol, eritromicina, estreptomycin, penicilina, ceforán, terramicina, kanamicina, ampicilina y los antisépticos cetavión al 1%, tintura de timerosal al 0.1%, cloruro de benzalconio a 1: 1000.<sup>31, 32, 33</sup>

El propóleo es relativamente atóxico; dosis diarias de 1400 mg/Kg no causa ningún efecto negativo en ratones.<sup>26, 27</sup>

En odontología, desde la antigüedad, el propóleo se ha utilizado en Europa y norte de África para el tratamiento de las infecciones de boca y garganta, así como de la caries.

Actualmente, el propóleo se usa en odontología como barniz, en caso de alveolitis, como sedante, como irrigante de conductos (diluido en agua destilada), para tratar fístulas (extracto al 5%), después del destarraje, como control de placa, en estomatitis subplaca, gingivitis, aftas recubrimiento pulpar.<sup>34,35</sup>

En un estudio en el cual se evaluó la actividad antimicrobiana de cuatro diferentes tipos de propóleo de Turquía en diferentes microorganismos, la concentración mínima inhibitoria (CMI) determinada para el propóleo contra *Enterococcus faecalis* fue de 2 µg/mL.<sup>36</sup>

Debido a que el *Enterococcus faecalis* es considerado el principal microorganismo de los fracasos endodónticos, es que se han realizado varios estudios con la finalidad de encontrar una sustancia que sea capaz de eliminarlo. El hipoclorito de sodio es considerado el irrigante de elección actualmente por poseer gran poder bactericida contra este germen, pero tiene efectos tóxicos indeseables, y teniendo en cuenta el gran efecto antibacteriano y escasa o nula toxicidad que posee el propóleo, es que nace la inquietud de realizar el presente estudio, que pretende comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo y del hipoclorito de sodio en piezas dentarias contaminadas con *Enterococcus faecalis*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo siguió un diseño de investigación básica, de acuerdo al fin que persigue, y experimental de acuerdo a la interferencia del investigador.

Se trabajó con 55 dientes los cuales fueron previamente desinfectados con hipoclorito de sodio y conservados en alcohol etílico de 90° y glicerina (1:1). Éstos dientes fueron descoronados con disco de diamante y se determinó la LRT con una lima N° 10 a 0.5 mm del punto donde se observó la lima salir del ápice. Se trabajaron con la técnica Crown down, utilizando fresas gates glidden (Maillefer) N° 1,2 y 3 y limas K- Flexofile (Maillefer) del N° 40 al 25, teniendo como LAM a la 35. Durante la PBM todos los dientes fueron irrigados con agua destilada y como irrigación final ácido etilendiaminotetracético (EDTA 17%) por 1 minuto seguido de hipoclorito de sodio al 5% por 1 minuto. Los conductos fueron secados con conos de papel N° 35, sellado su ápice con ionómero de restauración (Vitremmer 3M) y colocados en frascos de penicilina esterilizados para ser esterilizados posteriormente en autoclave a 121° por 20 minutos.

El propóleo en estado bruto se enfrió hasta 0 oC, luego se pesó 20 gramos, el cual se transfirió a un matraz balón de 250 ml y se le añadió 200 ml de etanol al 80% sometiéndose a reflujo en equipo Soxhlet durante una hora, al cabo de este tiempo se detuvo y se filtró a través de papel filtro Whatman No.40, se separó el filtrado y el sólido residual se sometió nuevamente a reflujo con 200 ml del solvente correspondiente; el nuevo filtrado que se obtuvo se reunió con el anterior, siendo este el extracto total final.

Los extractos totales finales se transfirieron al matraz de un rotavapor tipo Büchi y se mantuvo en evaporación hasta la desaparición del solvente. El sólido que se obtuvo se sometió a secado en estufa a 70 oC durante 2 horas, para obtener el denominado extracto blando total.<sup>37</sup>

La CMI y CMB del extracto hidroalcohólico de propóleo se determinó preparando, en una serie de 10 tubos, 5 ml de caldo infusión cerebro corazón (BHI) y agregándoles diferentes concentraciones de propóleo al 1%,5%,10%,20%,30%,40%,50%,60%,70% y 80% de la solución madre. Después se inoculó 20 ul de la suspensión de *Enterococcus faecalis* equivalente al tubo N°1 del nefelómetro de Mac Farland y se incubaron a 37° por 24 horas. La CMI se determinó en el tubo que no se observó turbidez. Luego del tubo que contenía la CMI, se procedió a sembrar en placas petri con agar Muller Hilton, para determinar la CMB, y se incubó a 37°C por 24 horas. El mismo procedimiento se siguió para determinar la CMI y CMB del hipoclorito de sodio.

Los conductos radiculares de los 55 dientes fueron inoculados con 10ul de suspensión de *Enterococcus faecalis* acorde al tubo N° 1 de Mac Farland, se usó una jeringa de tuberculina estéril y se introdujo una lima N°10 en el conducto realizando movimientos de bombeo para conseguir una completa colonización. Posteriormente los dientes fueron colocados en placas Petri y puestos en la estufa a 37° por 24 horas.

Los 55 dientes fueron divididos en 3 grupos: G1 (22 dientes), G2 (22 dientes) y G3 control (11 dientes), el G1 fue irrigado con 2 ml de extracto de propóleo al 10% (CMI) por 5 minutos con una jeringa estéril y aguja 25G de calibre y activado con una lima K N°10 por 1 minuto. Se tomó una muestra del interior de cada conducto con un cono de papel N°35 estéril y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 5 ml de caldo BHI. Posteriormente se incubaron en una estufa a 37° C por 4 días para observar si existe o no crecimiento bacteriano. Luego, del contenido de estos tubos, se sacó una muestra con el asa bacteriológica y se sembraron en placas Petri que contenían agar Mueller Hilton. Posteriormente se colocaron en estufa a 37° C por 24 horas para corroborar los resultados del medio líquido. El mismo procedimiento se siguió con el G2 (irrigados con 20% de hipoclorito de sodio) y G3 (irrigados con suero fisiológico).

## RESULTADOS

El efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente a la cepa *Enterococcus faecalis* se determinó a través del crecimiento e inhibición de la suspensión bacteriana de *Enterococcus faecalis*.

En la concentración de 10% de extracto hidroalcohólico de propóleo se inhibió el crecimiento bacteriano, no habiendo crecimiento en las siguientes concentraciones mayores, lo que indica que la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del extracto hidroalcohólico de propóleo frente a *Enterococcus faecalis* es 10%. (Tabla N°1)

En la concentración de 20% de hipoclorito de sodio se inhibió el crecimiento bacteriano, no habiendo crecimiento en las siguientes concentraciones mayores, lo que indica que la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis* es 20% (Tabla N°2).

Se observó crecimiento bacteriano en concentraciones del 1% y 5% del extracto hidroalcohólico de propóleo, determinando la prueba de Kruskal Wallis, basada en rangos promedios, diferencia estadística significativa entre las concentraciones del extracto de propóleo ( $P=0.000<0.05$ ). Específicamente se encontró mediante la prueba de Mann Whitney, diferencias de crecimiento entre las concentraciones del 1% y 5% frente a las otras concentraciones. (Tabla N°1)

Asimismo, el análisis estadístico de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis*, según la prueba de Kruskal Wallis, determinó que existe diferencia significativa entre las concentraciones de hipoclorito de sodio ( $P=0.000<0.05$ ) encontrándose específicamente, mediante la prueba de Mann Whitney, diferencias de crecimiento entre las concentraciones del 1%, 5% y 10% frente a las otras concentraciones ( $P=0.000$ ). (Tabla N°2)

La prueba de Mann Whitney determinó que no hay diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones del 10% del extracto hidroalcohólico de propóleo y el 20% de hipoclorito de sodio ( $P=1.000$ ), pero si hay diferencia significativa entre estas concentraciones y la solución salina respecto al efecto antibacteriano de estas sustancias frente al *Enterococcus faecalis* ( $P=0.000$ ). (Tabla N°3)

**TABLA N° 1**  
**Determinación de la concentración mínima inhibitoria del extracto de propóleo frente a la bacteria *Enterococcus faecalis***

Muestra	Concentración propóleo (%)									
	1	5	10	20	30	40	50	60	70	80
1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Rango promedio	45.50	45.50	20.50	20.50	20.50	20.50	20.50	20.50	20.50	20.50
Chi-cuadrado	49.000									
P	0.000									
Mann-Whitney: p	B	B	A	a	a	a	a	a	a	a

**TABLA N° 2**  
**Determinación de la concentración mínima inhibitoria del hipoclorito de sodio frente a la bacteria *Enterococcus faecalis***

Muestra	Concentración hipoclorito (%)										
	1	5	10	20	30	40	50	60	70	80	
1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
4	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
5	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Rango promedio	43	43	43	18	18	18	18	18	18	18	
Chi-cuadrado	49.000										
P	0.000										
Mann-Whitney: p	B	B	b	a	a	a	a	a	a	a	

**TABLA N° 3**  
**Crecimiento de *Enterococcus faecalis* en conductos radiculares de dientes estériles irrigados con extracto de propóleo e hipoclorito de sodio.**

Muestra	Concentración de propóleo	Hipoclorito	Solución salina
	10%	20%	9%
1	-	-	+
2	-	-	+
3	-	-	+
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	-	+
7	-	-	+
8	-	-	+
9	-	-	+
10	-	-	+
11	-	-	+
12	-	-	
13	-	-	
14	-	-	
15	-	-	
16	-	-	
17	-	-	
18	-	-	
19	-	-	
20	-	-	
21	-	-	
22	-	-	
<b>Rango promedio</b>	<b>22.5</b>	<b>22.5</b>	
<b>Mann-Whitney</b>		<b>242</b>	
<b>Z</b>		<b>0.000</b>	
<b>P</b>		<b>1.000</b>	
<b>Mann-Whitney</b>	<b>0.000</b>		<b>0.000</b>
<b>Z</b>	<b>-5.657</b>		<b>-5.657</b>
<b>P</b>	<b>0.000</b>		<b>0.000</b>

## DISCUSIÓN

En dientes previamente endodonciados y con periodontitis apical, la ecología bacteriana puede ser puramente anaerobia, pero en muchos casos puede estar acompañada de bacterias facultativas como el *Enterococcus faecalis* que es la especie más comúnmente encontrada e implicada en la persistencia de infecciones, que provoca el fracaso del tratamiento endodóntico.<sup>1-5</sup>

Una vez que las bacterias se han establecido dentro del conducto radicular no pueden ser eliminadas por los mecanismos de defensa del huésped, así que las infecciones de origen pulpar son tratadas principalmente mediante procedimientos químico-mecánicos.<sup>4</sup>

Actualmente la sustancia química o irrigante de elección es el hipoclorito de sodio debido a su

gran capacidad bactericida; tienen un gran poder sobre el *Enterococcus faecalis*.<sup>13,14,18</sup>

Sin embargo, una de las características del irrigante ideal es que no sea tóxico y es en ese punto donde el hipoclorito de sodio tiene su mayor inconveniente, ya que se han descrito problemas como dolor severo inmediato, edema de los tejidos blandos y equimosis en caso de su extrusión a los tejidos periapicales.<sup>16, 17</sup>

La apicultura es una rama de la farmacognosia que se aplica desde tiempos inmemoriales<sup>20</sup>, pero actualmente el estudio y uso de sustancias naturales para el tratamiento de patologías está tomando más interés en los científicos a nivel mundial.

El secreto del uso del propóleo, radica en sus propiedades antimicrobianas, bacteriostático y bac-

tericida, proporcionadas por los ácidos benzoicos, oxibenzoico, metoxibenzoico, caféico, ferúlico, los sesquiterpenos y las flavononas (principalmente la galangina). La actividad antibacteriana del propóleo es mucho más notable sobre las bacterias grampositivas que sobre las gramnegativas, pero con ambos tipos de bacterias tiene una acción superior que los antibióticos cloranfenicol, eritromicina, estreptomycin, penicilina, ceforán, terramicina, kanamicina, ampicilina y los antisépticos cetavión al 1%, tintura de timerosal al 0.1%, cloruro de benzalconio a 1: 1000.<sup>31, 32, 33</sup>

En el presente estudio se determinó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de propóleo y del hipoclorito de sodio frente a la bacteria *Enterococcus faecalis* mediante el crecimiento o inhibición de la cepa utilizando el método de turbidez óptica.

En primer lugar se determinó la CMI del extracto hidroalcohólico de propóleo y del hipoclorito de sodio en tubos de ensayo mediante la presencia de turbidez óptica, y ello luego fue corroborado en placas Petri para determinar la CMB.

En segundo lugar se formaron 3 grupos experimentales, en el grupo 1, conformado por 22 dientes, se les agregó el extracto hidroalcohólico de propóleo al 10% (CMB determinada) y una suspensión de *Enterococcus faecalis* acorde al tubo n°1 de la escala de Mac Farland. No hubo crecimiento bacteriano en los 22 dientes. Al grupo 2, conformado también por 22 dientes, se les agregó hipoclorito de sodio al 20% (CMB determinada) y una suspensión de *Enterococcus faecalis*, acorde al tubo n°1 de la escala de Mac Farland, y tampoco se observó crecimiento bacteriano en los 22 dientes. El grupo 3 (control) estuvo conformado por 11 dientes a los cuáles se les agregó suero fisiológico y suspensión de *Enterococcus faecalis* acorde al tubo n° 1 de la escala de Mac Farland, observándose crecimiento bacteriano en todos los dientes. Esto puede deberse a que el suero es considerado nutriente para la bacteria.

Respecto a los resultados obtenidos con el extracto hidroalcohólico de propóleo, los nuestros concuerdan con los de Jahromi y col., quienes demostraron que los diferentes tipos de propóleo que estudiaron tuvieron efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis*.<sup>39</sup>

Nuestros resultados concuerdan también con los obtenidos por Kandaswamy y col., quienes concluyeron que el propóleo tiene efecto antibacteriano contra el *E. faecalis*, pero, a diferencia nuestra, ellos estudiaron el efecto en modelos de dentina infectada observadas con microscopio electrónico, considerado actualmente un método más exacto, y no mediante turbidez óptica como el presente trabajo.<sup>40</sup>

En nuestro estudio encontramos que la CMI del

extracto de propóleo fue 10%, lo que difiere del estudio de Moroni y col., quienes encontraron el 0.8%. El método que ellos utilizaron fue el de halos de inhibición y nosotros el de turbidez, pero, a pesar de los diferentes métodos empleados y las diferentes CMI encontradas, nuestros resultados concuerdan con los de ellos respecto a que el propóleo presenta efecto antibacteriano frente a la cepa estudiada.<sup>41</sup>

Sin embargo, Lima y col. encontraron que el propóleo, aún a una concentración del 50%, no tenía efecto antibacteriano frente al *Enterococcus faecalis*. La diferencia de estos resultados con los nuestros pueden deberse a que las propiedades del propóleo difieren según su origen geográfico.<sup>42</sup>

Respecto a los resultados obtenidos con el hipoclorito de sodio, los nuestros concuerdan con los de Gómes y col. y Spratt, quienes obtuvieron un 100% de efectividad en todas las concentraciones utilizadas de hipoclorito de sodio frente al *Enterococcus faecalis*.<sup>13,19</sup>

El hipoclorito de sodio es la sustancia por excelencia utilizada en los tratamientos de conducto debido a su gran efecto antibacteriano, incluyendo el *Enterococcus faecalis*, pero es tóxico e irritante en los tejidos periapicales. Debido a ello es que en este estudio se comparó su efecto antibacteriano con el del propóleo, sustancia con un alto poder bactericida y que es biocompatible. Los resultados estadísticos, según la prueba de Mann Whitney, demuestran que no existe una diferencia entre el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de propóleo y el hipoclorito de sodio frente al *Enterococcus faecalis* ( $p=1.000$ ).

## CONCLUSIONES

1. La concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del extracto hidroalcohólico de propóleo frente a *Enterococcus faecalis* fue 10%.
2. La concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis* fue 20%.
3. El extracto hidroalcohólico de propóleo y el hipoclorito de sodio tienen efecto antibacteriano *in vitro* frente al *Enterococcus faecalis*.
4. No existe diferencia significativa entre el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto hidroalcohólico de propóleo e hipoclorito de sodio frente a *Enterococcus faecalis* ( $p=1.000$ ).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil J. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. *Endodontic Topics*. 2005; 10: 77-102.
2. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN. Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases selected for microbiological investigation. *Int. Endod. J.* 1997; 30: 91-95.
3. Rocas IN, Jung IY, Lee CY, Siqueira JF Jr. Polymerase chain reaction identification of microorganisms in previously root-filled teeth in a South Korean population. *J. Endod.* 2004; 30: 504-508.
4. Siqueira JF, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, De Uzeda M. Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal in vitro. *Int. Endod. J.* 1997; 30: 279-282.
5. Gomes BPFA, Lilley JD, Drucker DB. Variations in the susceptibilities of components of the endodontic microflora to biomechanical procedures. *Int. Endod. J.* 1996; 29: 235-241.
6. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical periodontitis. *Int. Endod. J.* 1998; 31: 1-7.
7. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G. Influence of infection at the time of root filling on the outcome endodontic treatment of teeth with periapical periodontitis. *Int Endod J.* 1997; 30: 297-306.
8. Lin LM, Skribner JE, Gaengler P. Factors associated with endodontic treatment failures. *J. Endod.* 1998; 18: 625-627.
9. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 86-93.
10. Ingle JI; Bakland LK. *Endodoncia*. 4ta Ed. Mexico: McGraw Hill Interamericana; 1996.
11. Weine F. *Tratamiento Endodóntico*. 5ta Ed. Madrid: Harcourt Brace; 1997.
12. Cohen S. *Vias de la Pulpa*. 7ma Ed. Madrid: Harcourt Brace; 1999.
13. Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int. Endod. J.* 2001; 34: 124-128.
14. Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the antimicrobial effectiveness of regular and fresh scent clirox. *J. Endod.* 1990; 16(7): 328-330.
15. Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. *Oral Surg*. 1980; 175-177.
16. Hales JJ, Russell CJ, Everett AP, Moore SH. Treatment of sodium hypochlorite accident during endodontic therapy. *General Dentistry*. May-June 2001; 278-281.
17. Hulsmana M, Nahn W. Complications during root canal irrigation: literature review. *Int Endod J.* 2000; 33: 186-193.
18. Pardina S, Soto C, Duran F, Roig M, Durany N. Efectividad de la clorhexidina y del hipoclorito de sodio en la eliminación de *Enterococcus faecalis in vitro*. *Endodoncia*. Abril-Junio 2004; 2(2): 109-115.
19. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K. A *in vitro* of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. *Int Endod J.* 2001; 34: 300-307.
20. García B. La apicultura cubana actual y sus perspectivas de desarrollo. Cuba: Economía planificada. Junta Central de Planificación. Enero-marzo. 1990; 10.
21. Barberán F, García V, Oliver P, Ferreres F. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela. *Phytochemistry*. 1993; 34:191-6.
22. Farré R y col. El Propólis y la Salud. *Ars. Farmacéutica*. 2004; 45(1): 21-43. Disponible en: <http://pharmacologia.ugr.es/ars/pdf/277.pdf>
23. Propóleo el antibiótico natural. Disponible en: <http://www.propoleo.cl/>

24. Pascual C, González R, Torricella R. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J. Ethnopharmacol.* 1994; 41:9-13.
25. Álvarez J, Granadillo J, Tabio C. La cromatografía en capa delgada como método para la clasificación del propóleo cubano. *Ciencia Tecnología Agrícola. Apicultura* 1985; 5:51-60.
26. Chaillou LL. Estudio del Propóleos de Santiago del Estero. Argentina. *Cienc Tecnol Aliment Campiñas.* 2004; 24(1):11-15.
27. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* 1995; 26: 83-89.
28. Brushi ML, Franco SL, Gremiao MP. Application of an HPLC Method for Analysis of Propolis Extract. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2003; 26(14): 2399-2409.
29. Popova M, Silici S, Kaftanoglu O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine.* 2005; 12(3): 221-228.
30. Gebara E, Zardetto C, Mayer M. In Vitro" study of the antimicrobial activity of natural substances against *S. mutans* and *S. sobrinus*. *Rev Odontol Univ Sao Paulo.* 1996; 10: 251-256.
31. Quintana J, Rodríguez O, Díaz M, López M. Empleo de la tintura de propóleos al 5% en la cura de heridas sépticas faciales. *Rev Cubana Estomatol.* 1997; 34(1):25-27.
32. Drago L, Mombelli B, Vecchi E, Fascina M, Tocalli M, Gismondo M. In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *J Chemoterapy.* 2000; 12: 390-395.
33. Stepanovic S, Antic N, Dakic I, Svabic-Vlahovic S. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol Research.* 2003; 158: 353-357.
34. Martinez G, Alfonso G, Ortega DL. Efectos curativos de una solución hidroalcohólica de propóleo cubano al 1,5% en la terapéutica periodontal. *Revisat Cubana Estomatología.* 1992; 29(1): 14-19.
35. Bellón S, Aldama Y, Echarry O. Actualización terapéutica en la aplicación de la Medicina Natural y Tradicional en Estomatología. *Literatura para Estudiantes de Estomatología. Página Docencia.* 2005. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/pdvedado/actualiz\\_estomat.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/pdvedado/actualiz_estomat.pdf)
36. Uzel A, Sorkun K, Oncag O, Cogulu D, Gencay O, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Research.* 2005; 160(2): 189-195.
37. Álvarez J, Granadillo J, Tabio C. La cromatografía en capa delgada como método para la clasificación del propóleo cubano. *Ciencia Tecnología Agrícola. Apicultura.* 1985; 5:51-60.
38. Laboratorios Britania. Catálogo 2000. Buenos Aires. Pag: 85-92.
39. Jahromi MZ, Taubayani H, Rezaei M. Propolis: A new alternative for root canal disinfection. *Iran Endod J* 2012; 7(3): 127-33.
40. Kandaswamy D, Venkateshababu N, Gogulnath N, Kindo AJ. Dentinal tubule disinfection with 2% chlorhexidine gel, propolis, morindacitrifolia juice, 2% povidone iodine, and calcium hydroxide. *Int Endod J* 2010; 43: 419-23.
41. Moroni H, Martinez EC, Ramos DP. Antibacterianos naturales orales: antibacterianos naturales orales. *Rev. UNMSM* 2009; 12(1):25-8.
42. Lima Machado ME de, Di Spagna AS, Rezende EC de, Dos Santos EB. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana del Paramonoclorofenol alcanforado, clorhexidina al 2% y extracto de propópolis al 50% sobre tres bacterias encontradas en el interior del canal radicular. *Rev. SEC* 2007; 15: 16-9.