

Artículo original

Actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*

Antibacterial activity of a Peruvian propolis ethanolic extract against *Streptococcus mutans*

Jackeline Luciana Checalla Collatupa¹ <https://orcid.org/0000-0002-6064-8437>

Marco Antonio Sánchez-Tito^{2*} <https://orcid.org/0000-0001-5886-9372>

¹Práctica Privada. Tacna, Perú.

²Universidad Privada de Tacna, Escuela Profesional de Odontología. Tacna, Perú.

*Autor para la correspondencia: marcosanchez2183@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Los derivados del propóleo poseen propiedades antimicrobianas importantes y presentan un potencial uso para la prevención y tratamiento de la caries dental.

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*.

Métodos: Se obtuvo el extracto etanólico de propóleo por maceración en alcohol al 70 % durante 15 días. El extracto etanólico de propóleo fue diluido con agua destilada para obtener concentraciones de 75 %, 50 % y 25 %. La actividad antibacteriana se evaluó mediante la prueba de difusión en disco sobre medio agar cerebro-corazón inoculado con *S. mutans* ATCC[®] 25175[™], se empleó clorhexidina (CHX) al 0,12 % como control. Las placas de Petri fueron incubadas por 48 horas a 37 °C en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se realizó la medición de los halos de inhibición con un compás Vernier.

Resultados: Todas las concentraciones del extracto etanólico de propóleo presentaron actividad antibacteriana frente al *S. mutans* (25 % = 17,582 ± 2,578 mm; 50 % = 16,906 ± 1,892 mm; 75 % = 16,881 ± 2,013 mm; 100 % = 17,201 ± 1,305 mm). Sin embargo,

fueron menores que la CHX al 0,12 % ($24,543 \pm 2,486$ mm) ($p < 0,05$). Según la escala de Duraffourd, *S. mutans* fue sensible (+) y muy sensible (++) para todas las concentraciones del extracto etanólico de propóleo, mientras que para CHX al 0,12 % fue sumamente sensible (+++) ($p < 0,05$).

Conclusiones: El extracto etanólico de propóleo peruano presenta actividad antibacteriana significativa considerada como sensible y muy sensible frente a *S. mutans*.

Palabras clave: agente antibacteriano; propóleo; *Streptococcus mutans*; terpenos.

ABSTRACT

Introduction: Due to their important antimicrobial properties, propolis by-products are potentially useful for the prevention and treatment of dental caries.

Objective: Evaluate the antibacterial activity of a Peruvian propolis ethanolic extract against *Streptococcus mutans*.

Methods: The propolis ethanolic extract was obtained by maceration in 70% alcohol for 15 days. The extract was diluted in distilled water to obtain concentrations of 75%, 50% and 25%. Antibacterial activity was evaluated by the disk diffusion test in brain heart agar medium inoculated with *S. mutans* ATCC® 25175™. Chlorhexidine (CHX) 0.12% was used as control. The Petri plates were incubated for 48 hours at 37°C in microaerophilic conditions. The inhibition haloes were then measured with a Vernier caliper.

Results: All the concentrations of the propolis ethanolic extract displayed antibacterial activity against *S. mutans*: 25% = 17.582 ± 2.578 mm; 50% = 16.906 ± 1.892 mm; 75% = 16.881 ± 2.013 mm; 100% = 17.201 ± 1.305 mm. However, values were lower than those of 0.12% CHX: 24.543 ± 2.486 mm ($p < 0.05$). According to the Duraffourd scale, *S. mutans* was sensitive (+) and very sensitive (++) to all propolis ethanolic extract concentrations, and highly sensitive to 0.12% chlorhexidine (+++) ($p < 0.05$).

Conclusions: The Peruvian propolis ethanolic extract displays significant antibacterial activity against *S. mutans*. Such activity was evaluated as sensitive and very sensitive.

Key words: antibacterial agent; propolis; *Streptococcus mutans*; terpenes.

Recibido: 17/08/2020

Aceptado: 22/02/2021

Introducción

Se ha reconocido la caries dental como la principal enfermedad estomatológica. La caries supone la pérdida de los tejidos del diente ocasionada por un desequilibrio de algunas bacterias contenidas en la flora oral, las cuales, frente a dietas altas en carbohidratos, tienen el potencial de producir ácidos con la capacidad de desmineralizar la superficie de los dientes.⁽¹⁾ *Streptococcus mutans* es el principal agente bacteriano relacionado con la formación de la caries dental. Se trata de un coco gram-positivo y anaerobio facultativo que, como resultado del metabolismo del azúcar produce ácidos orgánicos que penetran la superficie del esmalte, donde se disocian y promueven la desmineralización de los tejidos.^(2,3)

Se han propuesto diversas estrategias para la prevención de la formación de la caries dental, como el consumo de agua fluorada, el uso de productos que contienen xilitol, el uso de colutorios antibacterianos como la clorhexidina, reducir el consumo de alimentos azucarados o con alto contenido de carbohidratos, aunque la principal estrategia siempre será una adecuada higiene oral.^(4,5)

Diversas investigaciones han propuesto el uso de agentes naturales con el objetivo de prevenir la formación de la caries dental, principalmente enfocados en el control del desarrollo de las bacterias precursoras de la caries.^(6,7)

El Perú es un país con una gran biodiversidad de recursos naturales, recientemente se ha incrementado el interés por el estudio de las propiedades del propóleo, que es una sustancia resinosa procesada por las abejas, principalmente por la especie *Apis mellifera*. El propóleo está formado por productos obtenidos de los brotes de plantas, flores y arbustos. Su función es la protección de las colmenas, ya que las abejas lo utilizan para reparar y proteger los accesos a aquella y prevenir el ingreso de insectos.^(8,9) Se caracteriza por ser una resina espesa y su color puede variar desde el amarillo, verde oscuro, pardo, rojo y hasta negro; es aromático, con un sabor amargo y su consistencia puede ser líquida a temperaturas entre 60-70 °C.^(10,11) Está constituido principalmente por resinas, ceras, polen, aceites esenciales y otros residuos orgánicos.^(10,12) Las propiedades que se le atribuyen al propóleo corresponden a sus principales constituyentes químicos, al respecto se han reportado más de 300 constituyentes en diversas muestras de distintos orígenes geográficos.^(11,13,14,15,16)

Debido a las propiedades de sus constituyentes, el propóleo ha sido empleado incluso en el área de la salud, utilizándolo como anestésico local, bactericida y bacteriostático.⁽⁹⁾ Este empleo no ha sido ajeno al campo de la odontología, donde el propóleo también ha sido utilizado como bacteriostático, antimicrobiano, antifúngico, anestésico y cicatrizante de los tejidos orales.⁽⁸⁾ Las investigaciones previas realizadas en el Perú para conocer el efecto del propóleo frente a *S. mutans* han utilizado el extracto etanólico derivado del propóleo puro o en diluciones proveniente de diversas

regiones. *Becerra* y otros⁽¹⁷⁾ evaluaron las propiedades antibacterianas del extracto etanólico de propóleo (EEP) procedente de Santiago de Chuco frente a *S. mutans*, sus resultados mostraron que este producto produjo halos de inhibición de entre $18,2 \pm 1,8$ mm a $26,4 \pm 2,6$ mm. *Mayta-Tovalino* y *Sacsquispe-Contreras*⁽¹⁸⁾ evaluaron un EEP proveniente de Oxapampa en concentraciones del 10 % y el 30%, ambas concentraciones fueron efectivas para inhibir el crecimiento de una cepa de *S. mutans*, mostrando resultados comparables con la clorhexidina al 0,12 % (CHX). *Eguizábal* y *Moroni*⁽¹⁹⁾ evaluaron la actividad antibacteriana de un EEP proveniente de la región de Oxapampa, en concentraciones del 0,8 %, 20 % y 30 % frente a *S. mutans*, sus resultados demostraron que todas las concentraciones fueron efectivas para inhibir el crecimiento de *S. mutans*.

A partir del examen de lo anterior, se estableció como objetivo del estudio evaluar la actividad antibacteriana de un extracto etanólico de propóleo peruano frente a *Streptococcus mutans*.

Métodos

Diseño del estudio y aspectos éticos

El presente estudio fue una investigación experimental *in vitro*, en la que se empleó una muestra de propóleo peruano. Este estudio fue inscrito en la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna y, al tratarse de una investigación *in vitro*, fue exonerado por el Comité de Ética de la Universidad. Para el cálculo de las repeticiones empleadas en el ensayo microbiológico se utilizó el programa Epidat 4.2 basado en los promedios obtenidos de estudios previos.

Obtención del extracto etanólico del propóleo

Se recolectaron 200 g de propóleo obtenido de apicultores de la localidad altoandina de Ticaco, perteneciente a la provincia de Tarata, de la región Tacna (Perú), en las coordenadas $7^{\circ}26'55''S$ $70^{\circ}02'47''O$. Inmediatamente, se retiraron restos de astillas de madera, partes de las abejas, hojas u otros componentes. La muestra final fue 150 g, los que fueron almacenados en frascos estériles bajo refrigeración hasta el momento de su uso.

Para la obtención del extracto etanólico, el propóleo recolectado se cortó en trozos pequeños que fueron procesados hasta obtener un polvo fino. Se colocaron 100 g del polvo de propóleo en un frasco de vidrio ámbar estéril y se le agregó 500 ml de alcohol al 70 %, el frasco se colocó en una estufa a $37^{\circ}C$ por 15 días, el frasco fue agitado tres veces por día. Con posterioridad, el sobrenadante se filtró con papel Wathman N° 42 y N° 4. El EEP fue colocado en un vaso de precipitado en una estufa a $50^{\circ}C$ por cuatro

días para eliminar el disolvente, con lo que se obtuvo un producto cristalino ámbar, que fue removido con una espátula metálica y homogenizado en un mortero de porcelana. Para la obtención del EEP puro, se disolvió 3,5 g del polvo fino de propóleo con 25 ml de alcohol al 70 %. Finalmente, se colocó 7,5 ml; 5 ml y 2,5 ml de agua destilada en distintos frascos ámbar donde se añadió 2,5 ml; 5 ml y 7,5 ml del EEP puro, para obtener las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, respectivamente.

Cultivo de la cepa bacteriana

Se empleó una cepa estandarizada de *S. mutans* ATCC® 25175™ que fue reactivada en agar cerebro-corazón (BHA) por 24 horas a 37 °C en una jarra de anaerobiosis, empleando el sistema Gaspak™ EZ Campy Container System, para generar un ambiente de microaerofilia. Luego, con un asa bacteriológica se transfirieron cinco colonias de *S. mutans* a un tubo que contenía 5 ml de caldo de cerebro-corazón (BHI) y fue incubado por cuatro horas hasta alcanzar el mayor crecimiento logarítmico bacteriano. Cumplido ese tiempo el tubo con BHI que contenía la suspensión bacteriana fue ajustado a un nivel de turbidez de 0,5 de la escala estándar de McFarland, lo que corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Prueba de sensibilidad bacteriana

Se empleó el método de difusión de disco en agar. Para ello se utilizaron 12 placas con BHA que fueron sembradas con un hisopo estéril, embebido con el inóculo de *S. mutans* contenido en el tubo con BHI ajustado a la escala 0,5 de McFarland. Ocho placas fueron utilizadas para colocar cuatro discos de papel Wathman N° 3 estériles de 5 mm de diámetro cargados con 10 µl de las concentraciones del EEP. En las cuatro placas restantes se colocaron discos embebidos con clorhexidina (CHX) al 0,12 % y agua destilada, que sirvieron como control positivo y negativo, respectivamente. Las placas fueron colocadas en una jarra de anaerobiosis con un sobre del sistema Gaspak™ EZ Campy Container System para generar un ambiente de microaerofilia y fueron incubadas por 48 horas a 37 °C. Para la medición de los halos de inhibición se usó un compás Vernier digital (Ubermann®, Chile) y los datos fueron anotados en una ficha de registro.

Análisis de los datos

Para el análisis estadístico se empleó el programa SPSS para Mac OS en su versión 23.0 (SPSS Inc., Chigago IL, EE. UU.). Los datos fueron analizados con la prueba de Shapiro-Wilk para verificar el comportamiento de la distribución. Para identificar la existencia de diferencias entre los grupos se eligió la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Además, los datos fueron interpretados bajo los criterios de *Duraffourd* y otros,⁽²⁰⁾

empleando la prueba de chi cuadrado de Pearson. Se adoptó un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas.

Resultados

En la tabla 1 se observan los valores promedios y sus desviaciones estándar de los halos de inhibición producidos por las concentraciones del EEP frente a *S. mutans*. El EEP al 25 % presentó una actividad antibacteriana con halos de inhibición de 17,582 mm ($\pm 2,578$), este resultado no representó una diferencia estadísticamente significativa en comparación a las otras concentraciones de EEP al 50 %, 75 % y 100 % ($p > 0,05$). Por otro lado, la CHX al 0,12 % fue más efectiva que todas las concentraciones de EEP ($p < 0,05$), generando halos de inhibición de 24,543 mm ($\pm 2,486$).

Tabla 1 - Actividad antibacteriana de las concentraciones de extracto etanólico de propóleo frente a *S. mutans* (valores en mm)

Grupos	n	Media*	DE	Valor mínimo	Valor máximo
EEP 25 %	08	17,582 ^a	2,578	11,62	19,76
EEP 50 %	08	16,906 ^a	1,892	14,34	20,41
EEP 75 %	08	16,881 ^a	2,013	14,49	20,42
EEP 100 %	08	17,201 ^a	1,305	15,48	19,55
CHX 0,12 %	08	24,543 ^b	2,486	21,25	28,18

*Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre ellos. | Prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). | DE: desviación estándar.

Para identificar el grado de sensibilidad de las distintas concentraciones del EEP frente a *S. mutans* se utilizó la escala de Duraffourd y otros.⁽²⁰⁾ Todas las concentraciones del EEP fueron sensibles (+) y muy sensibles (++); sin embargo, la CHX al 0,12 % fue sumamente sensible (+++). La diferencia de los grados de sensibilidad entre los grupos fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2 - Grado de sensibilidad del *S. mutans* a las diferentes concentraciones del EEP

Grupos	Sensibilidad				Valor p^*
	Nula (-)	Sensible (+)	Muy sensible (++)	Sumamente sensible (+++)	
EEP 25 %	0 (0,0 %)	1 (12,5 %)	7 (87,5 %)	0 (0,0 %)	0,000
EEP 50 %	0 (0,0 %)	2 (25,5 %)	5 (62,5 %)	1 (12,5 %)	
EEP 75 %	0 (0,0 %)	2 (25,5 %)	5 (62,5 %)	1 (12,5 %)	
EEP 100 %	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	8 (100,0 %)	0 (0,0 %)	
CHX 0,12 %	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	8 (100,0 %)	

*La comparación por medio de la prueba de chi cuadrado de Pearson mostró diferencias significativas entre los grupos.

Discusión

Los productos naturales, como los derivados de plantas medicinales o de sus constituyentes, han sido ampliamente empleados por sus importantes propiedades antibacterianas. Al respecto, en la literatura se reporta una gran variedad en la composición química de propóleos provenientes de diferentes regiones.^(10,15,16) Estas diferencias pueden estar relacionadas con factores como la región de donde proviene la cosecha del propóleo, las condiciones climáticas, la flora y el método de análisis.

Devequi-Nunes y otros⁽²¹⁾ identificaron que muestras de extractos etanólicos de diversos tipos de propóleos de diferentes regiones de Brasil presentan importantes propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se ha reportado una importante actividad antibacteriana del EEP frente a diversos microorganismos, incluidos aquellos de importancia en el campo de la odontología. Tomando en consideración estos antecedentes, en este estudio se investigó la actividad antibacteriana *in vitro* del EEP frente a *S. mutans*. Los resultados mostraron que el EEP fue efectivo para inhibir el crecimiento de *S. mutans* a través de un ensayo de difusión de disco en agar. Se emplearon discos de papel cargados con 10 µl del EEP que contenían 8,35 µg de propóleo. Todas las concentraciones estudiadas demostraron poseer actividad antibacteriana frente a esta cepa, mostrando halos de inhibición similares; sin embargo, la CHX al 0,12 % fue más efectiva para inhibir el crecimiento del *S. mutans*. *Barrientos* y otros⁽²²⁾ estudiaron la actividad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria del EEP chileno por el método de microdilución frente a una cepa de *S. mutans*, demostrando un espectro de acción amplio desde 0,9 a 8,22 µg/ml. Por otro lado, *Mayta-Tovalino* y *Sacsquispe-Contreras*⁽¹⁸⁾ evaluaron un EEP peruano en concentraciones del 10 % y el 30 %, los halos de inhibición fueron similares para ambas concentraciones (EEP 10 %: media 11,47 ± 0,57 mm y EEP 30%: media 11,57 ± 0,97 mm), una y otra mostraron resultados similares a los registrados para la CHX al 0,12 % (11,77 mm).

Becerra y otros⁽¹⁷⁾ evaluaron el efecto antibacteriano de EEP de propóleo procedente de Santiago de Chuco (Perú) recolectado en verano y otoño frente a *S. mutans*. Sus resultados indicaron que la muestra recolectada en otoño fue más efectiva para inhibir el crecimiento del *S. mutans* (26,4 ± 2,6 mm) que la recolectada en verano (18,2 ± 1,8 mm). *Eguizábal* y *Moroni*⁽¹⁹⁾ estudiaron la actividad antibacteriana de un EEP de la región de Oxapampa (Perú) en concentraciones del 0,8 %, 20 % y 30 % frente a *S. mutans*, sus resultados reportaron una tendencia de inhibición inversamente proporcional a su concentración, con lo cual concluyeron que el EEP fue efectivo para la inhibición del crecimiento del *S. mutans*. El EEP al 0,8% presentó un promedio de halos de inhibición de 13,56 ± 3,04 mm, estos resultados fueron mayores incluso que los registrados para la CHX al 0,12 % (11,72 ± 1,50 mm).

Recientemente, *Cayo* y *Cervantes*⁽²³⁾ investigaron la actividad antibacteriana de un EEP peruano frente a *S. mutans*, lo que demostró una concentración del 20 % produjo halos de inhibición de 8,36 mm a las 24 horas, aunque estos resultados fueron menores que los registrados para CHX al 0,12 % (10,64 mm). Es necesario aclarar que en este estudio

se empleó un método de medición de los halos y no se consideró el disco de papel. Una muestra de EEP procedente de la India fue analizado por *Airen* y otros,⁽⁶⁾ e indicaron que concentraciones del 5 % y del 20 % fueron efectivas para inhibir el crecimiento de *S. mutans* a partir del empleo de la técnica de difusión en placa.

En relación a las propiedades antibacterianas de los extractos etanólicos de propóleo, se sabe que están relacionados con el potencial de desestabilizar la integridad de la membrana al disminuir las fuerzas intermoleculares de la estructura de la bicapa de fosfolípidos de la bacteria y, además, disminuye la síntesis de la adhesina trifosfato en las bacterias.⁽²⁴⁾

Duarte y otros⁽²⁵⁾ describieron que las propiedades como la disminución de la tolerancia de los microorganismos a pH bajos y la limitación de la formación de biofilm sobre el sustrato dentario, son debidas a sus componentes como el ácido oléico, linoléico y esteárico, que son capaces de inhibir la actividad de la enzima glucosiltransferasa (GTF) que es la precursora de la adhesión del *S. mutans* a la superficie dentaria. *Park* y otros⁽²⁶⁾ identificaron que el EEP de diversas zonas de Brasil presenta la capacidad de inhibir la GTF de estreptococos del grupo *mutans*. Resultados similares fueron descritos por *Koo* y otros,⁽²⁷⁾ indicando que constituyentes como la apigenina y los flavonoles tienen la capacidad de inhibir la actividad de la GTF.

El EEP es una mezcla de componentes químicos y, por lo tanto, es difícil atribuir sus propiedades biológicas a uno de ellos. Existen diversas metodologías que permiten fraccionar y extraer por medio de disolventes orgánicos los constituyentes de productos naturales. Por esta razón, es necesario realizar ensayos más específicos que permitan la identificación cuantitativa de sus constituyentes, como técnicas de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas o cromatografía líquida de alta eficacia.

El propóleo ha sido empleado para el tratamiento de muchas enfermedades en la medicina tradicional. Considerando su actividad frente a *S. mutans*, puede ser empleado como un constituyente potencial para mayores estudios, con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias para el control de la caries y, además, comprender completamente su bioactividad, ya que el efecto del EEP sobre *S. mutans* puede ser debido a un sinergismo entre sus componentes.

Como conclusión, todas las concentraciones del EEP proveniente de la zona altoandina del sur del Perú demostraron actividad antibacteriana significativa, considerada como sensible y muy sensible frente a *S. mutans*, aunque los resultados fueron menores que los registrados para la CHX al 0,12 %.

Referencias bibliográficas

1. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries: Exploiting Natural Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. Pathogens. 2020;9(7):569. DOI: [10.3390/pathogens9070569](https://doi.org/10.3390/pathogens9070569)
2. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, *et al.* Dental caries. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17030. DOI: [10.1038/nrdp.2017.30](https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30)
3. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A disease which needs attention. Indian J Pediatr. 2018;85(3):202-6. DOI: [10.1007/s12098-017-2381-6](https://doi.org/10.1007/s12098-017-2381-6)
4. Bonetti D, Clarkson JE. Fluoride varnish for caries prevention: Efficacy and implementation. Caries Res. 2016;50(Suppl 1):45-9. DOI: [10.1159/000444268](https://doi.org/10.1159/000444268)
5. Janket SJ, Benwait J, Isaac P, Ackerson LK, Meurman JH. Oral and systemic effects of Xylitol consumption. Caries Res. 2019;53(5):491-501. DOI: [10.1159/000499194](https://doi.org/10.1159/000499194)
6. Airen B, Sarkar PA, Tomar U, Bishen KA. Antibacterial effect of propolis derived from tribal region on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An *in vitro* study. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2018;36:48-52.
7. Somaraj V, Shenoy RP, Shenoy Panchmal G, Kumar V, Jodalli PS, Sonde L. Effect of herbal and fluoride mouth rinses on *Streptococcus mutans* and dental caries among 12-15-year-old school children: A randomized controlled trial. Int J Dent. 2017;5654373. DOI: [10.1155/2017/5654373](https://doi.org/10.1155/2017/5654373)
8. Abbasi AJ, Mohammadi F, Bayat M, Gema SM, Ghadirian H, Seifi H, *et al.* Applications of propolis in dentistry: A review. Ethiop J Health Sci. 2018;28(4):505-512. DOI: [10.4314/ejhs.v28i4.16](https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16)
9. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev. 2017;1259510. DOI: [10.1155/2017/1259510](https://doi.org/10.1155/2017/1259510)
10. Przybytek I, Karpiński TM. Antibacterial Properties of Propolis. Molecules. 2019;24(11):2047. DOI: [10.3390/molecules24112047](https://doi.org/10.3390/molecules24112047)
11. Siheri W, Alenezi S, Tusiimire J, Watson DG. The chemical and biological properties of propolis. Bee products - chemical and biological properties. 2017;16:137-78. DOI: [10.1007/978-3-319-59689-1_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1_7)
12. Machado BA, Silva RP, Barreto G de A, Costa SS, Silva DF, Brandão HN, *et al.* Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. PLoS One. 2016;11(1):e0145954. DOI: [10.1371/journal.pone.0145954](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145954)

13. Granados-Pineda J, Uribe-Uribe N, García-López P, Ramos-Godinez MDP, Rivero-Cruz JF, Pérez-Rojas JM. Effect of pinocembrin isolated from Mexican brown propolis on diabetic nephropathy. *Molecules*. 2018;23(4):852. DOI: [10.3390/molecules23040852](https://doi.org/10.3390/molecules23040852)
14. Okińczyc P, Szumny A, Szperlik J, Kulma A, Franiczek R, Żbikowska B, *et al*. Profile of polyphenolic and essential oil composition of Polish propolis, black poplar and aspens buds. *Molecules*. 2018;23(6):1262. DOI: [10.3390/molecules23061262](https://doi.org/10.3390/molecules23061262)
15. de Mendonça IC, Porto IC, do Nascimento TG, de Souza NS, Oliveira JM, Arruda RE, *et al*. Brazilian red propolis: phytochemical screening, antioxidant activity and effect against cancer cells. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:357. DOI: [10.1186/s12906-015-0888-9](https://doi.org/10.1186/s12906-015-0888-9)
16. Freires IA, Queiroz VCPP, Furletti VF, Ikegaki M, de Alencar SM, Duarte MCT, *et al*. Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida spp*. *J Mycol Med*. 2016;26(2):122-32. DOI: [10.1016/j.mycmed.2016.01.003](https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.01.003)
17. Becerra BT, Calla-Poma R, Requena-Mendizabal M, Millones-Gómez P. Antibacterial effect of Peruvian propolis collected during different seasons on the growth of *Streptococcus mutans*. *Open Dent J*. 2019;13:327-31. DOI: [10.2174/1874210601913010327](https://doi.org/10.2174/1874210601913010327)
18. Mayta-Tovalino F, Sacsquispe-Contreras SJ. 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*. 2010;20(1):19-24.
19. Eguizábal AM, Moroni NH. Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo peruano sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus casei*. *Odontol Sanmarquina*. 2007;10(2):18-20.
20. Duraffourd C, Hervicourt LD, Lapraz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. Barcelona: Masson; 1986.
21. Devequi-Nunes D, Machado BAS, Barreto GA, Rebouças Silva J, da Silva DF, da Rocha JLC, *et al*. Chemical characterization and biological activity of six different extracts of propolis through conventional methods and supercritical extraction. *PLoS One*. 2018;13(12):e0207676. DOI: [10.1371/journal.pone.0207676](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207676)
22. Barrientos L, Herrera CL, Montenegro G, Ortega X, Veloz J, Alvear M, *et al*. Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. *Braz J Microbiol*. 2013;44(2):577-85.
23. Cayo Rojas CF, Cervantes Ganoza LA. La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. *Rev Cubana*

Estomatol. 2020 [acceso: 25/6/2020]; 57(1):e2967. Disponible en: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2967/1728>

24. Aminimoghadamfarouj N, Nematollahi A. Propolis diterpenes as a remarkable bio-source for drug discovery development: A review. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6):1290. DOI: [10.3390/ijms18061290](https://doi.org/10.3390/ijms18061290)
25. Duarte S, Rosalen PL, Hayacibara MF, Cury JA, Bowen WH, Marquis RE, et al. The influence of a novel propolis on *mutans streptococci* biofilms and caries development in rats. *Arch Oral Biol.* 2006;51(1):15-22. DOI: [10.1016/j.archoralbio.2005.06.002](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2005.06.002)
26. Park YK, Koo MH, Abreu JA, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Curr Microbiol.* 1998;36(1):24-8. DOI: [10.1007/s002849900274](https://doi.org/10.1007/s002849900274)
27. Koo H, Rosalen PL, Cury JA, Park YK, Bowen WH. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(5):1302-9. DOI: [10.1128/aac.46.5.1302-1309.2002](https://doi.org/10.1128/aac.46.5.1302-1309.2002)

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses en la realización de esta investigación.

Contribuciones de autoría

Conceptualización: Marco Sánchez-Tito.

Curación de datos: Marco Sánchez-Tito, Jackeline Checalla-Collatupa.

Análisis formal: Marco Sánchez-Tito.

Investigación: Marco Sánchez-Tito, Jackeline Checalla-Collatupa.

Metodología: Marco Sánchez-Tito, Jackeline Checalla-Collatupa.

Recursos: Jackeline Checalla-Collatupa.

Supervisión: Marco Sánchez-Tito.

Visualización: Marco Sánchez-Tito.

Redacción - borrador original: Marco Sánchez-Tito.

Redacción - revisión y edición: Marco Sánchez-Tito, Jackeline Checalla-Collatupa.