



**UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS**

**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA**

**“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y  
NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* EN  
MUESTRAS DE *Cándida Albicans*, JULIACA - 2018”**

TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

**PRESENTADO POR:**

MACHACA COPARI HENRRY ROBERTS

**ASESOR:**

C.D. CESAR PEDRO MAMANI CATACORA

**JULIACA – PERU**

**2018**

# HOJA DE APROBACIÓN

MACHACA COPARI HENRRY ROBERTS

**“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y  
NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* EN  
MUESTRAS DE *Cándida Albicans*, JULIACA - 2018”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del  
Título de Cirujano Dentista por la Universidad Alas Peruanas

---

CD. Paul Tineo Cayo  
Nº de colegiatura: 19707  
**Secretario**

---

CD. Juan Carlos Calderón Charca  
Nº de colegiatura: 21066  
**Miembro**

---

Mg. Gian Carlo Valdez Velazco  
Nº de colegiatura: 21784  
**Presidente**

Juliaca – Perú

2018

En primer lugar, a dios que me diste la oportunidad de vivir, quien me dio la fe, la salud, la fortaleza para poder seguir adelante y la esperanza de que todo sea posible en esta vida.

A mi madre por toda una vida de trabajo y esfuerzo que hicieron para darme una profesión, por los sacrificios, para que sus hijos tengan lo que ella no tuvo, por la paciencia y comprensión incondicional que demostraron todos estos años.

A mis hermanos quienes con su amor, apoyo y comprensión estuvieron siempre a lo largo de mi vida estudiantil.

Gracias a toda mi familia, especialmente a ti “Mamá” por guiarme y enseñarme a cumplir mis metas, aunque hemos pasado momentos difíciles en nuestras vidas los hemos superado siempre has estado apoyándome, por todo esto te agradezco de todo corazón.

Mi agradecimiento muy especial a mí asesor C.D. Cesar Pedro Mamani Catacora por todos sus consejos, su paciencia, su asesoría en el desarrollo de este trabajo y la confianza depositada en mí.

A mí Universidad Alas Peruanas, especialmente la Escuela Profesional de Estomatología por abrirme sus puertas y haber permitido formarme como un profesional.

De igual manera para todos los docentes que me brindaron sus conocimientos, experiencia y motivación que sirvieron de gran ayuda para la culminación de mi carrera y poder servir a la sociedad.

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca 2018.

**Metodología,** Investigación es de tipo cuantitativo, de nivel investigativo aplicativo, el tipo de estudio es transversal, prospectivo de diseño experimental; la muestra de n=30, luego de preparar el extracto etanolico de propóleo al 80%, embeberlos en discos de difusión tipo Whatman N°3 , se colocaron en medios de cultivos preparados con agar Saboraud glucosado con la siembra de *Cándida albicans* a escala de turbidez de Mc farland 0.5, así también se utilizó como control a la nistatina de 100 000 UI/ml embebido en discos de difusión; las muestras se llevaron a la incubadora a 37° Celsius por 24 horas, se midió el diámetros del halo inhibitorio con un calibrador Pie de Rey. **Resultados:** el extracto etanólico de propóleo presentó una inhibición de crecimiento promedio de 6.67mm, con una desviación estándar de 0.71mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 6mm y el máximo de 8mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 15.63mm, con una desviación estándar de 0.85 mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 13mm y el máximo de 17mm.

**Conclusiones:** Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.

**Palabras clave:** Propóleos, Nistatina, medios de cultivos, discos de difusión, escala McFarland.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the ethanolic extract of propolis and nystatin to inhibit growth in vitro in samples of *Candida albicans*, Juliaca 2018.

**Methodology,** Research is of quantitative type, of investigative level, the type of study is transversal, prospective of experimental design; the sample of  $n = 30$ , after preparing the 80% propoleo ethanol extract, embed them in Whatman No. 3 diffusion discs, were placed in culture media prepared with Sabouraud glucosado agar with the seeding of *Candida albicans* at the scale of McFarland 0.5 turbidity, this was also used as control to 100 000 IU / ml nystatin embedded in diffusion discs; the samples were taken to the incubator at 37 ° Celsius for 24 hours, the diameters of the inhibitory halo were measured with a foot gauge. **Results:** the ethanol extract of propolis presented an inhibition of average growth of 6.67mm, with a standard deviation of 0.71mm, the minimum inhibitory halo was of 6mm and the maximum of 8mm, on the other hand the nystatin had an average of 15.63mm, with a standard deviation of 0.85 mm, the minimum inhibitory halo was 13mm and the maximum was 17mm.

**Conclusions:** When assessing the ethanolic extract of propolis and nystatin to inhibit fungal growth in vitro in samples of *candida albicans*, Juliaca 2018, there is a significant difference.

**Key words:** Propolis, Nystatin, culture media, diffusion discs, McFarland scale

## LISTA DE CONTENIDO

	Pag.
Caratula .....	i
Hoja de Aprobación .....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento .....	iv
Resumen .....	v
Abstract.....	vi
Lista de Contenido .....	vii
Lista de Tablas .....	xi
Lista de Gráficos .....	xii
Introducción.....	xiii
<b>CAPITULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1. Descripción de la Realidad Problemática .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2. Formulación del Problema .....</b>	<b>14</b>
1.2.1. Problemas General.....	15
1.2.2. Problemas Específicos .....	15
<b>1.3. Objetivos de la Investigación .....</b>	<b>15</b>
1.3.1. Objetivo General .....	15
1.3.2. Objetivos Específicos.....	15
<b>1.4. Justificación de la Investigación .....</b>	<b>16</b>
1.4.1. Importancia de la Investigación .....	17
1.4.2. Viabilidad de la Investigación.....	17

<b>1.5. Limitaciones del Estudio .....</b>	<b>17</b>
<b>CAPITULO II MARCO TEORICO .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1. Antecedentes de la Investigación .....</b>	<b>18</b>
2.1.1. Antecedentes Internacionales.....	18
2.1.2. Antecedentes Nacionales .....	23
2.1.3. Antecedentes Locales.....	25
<b>2.2. Bases Teóricas .....</b>	<b>26</b>
2.2.1. Candidiasis Bucal .....	26
2.2.1.1. Definición .....	26
2.2.1.2. Incidencia y Factores de Riesgo.....	27
2.2.1.3. Aspecto clínico.....	28
2.2.1.4. Síntomas.....	31
2.2.1.5. Signos y Exámenes .....	32
2.2.1.6. Tratamiento.....	32
2.2.1.7. Expectativas (Pronóstico) .....	34
2.2.1.8. Complicaciones.....	35
2.2.2. Nistatina.....	35
2.2.2.1. Indicaciones .....	35
2.2.2.2. Dosificación.....	36
2.2.2.3. Efectos Adversos .....	36
2.2.3. Propóleos .....	36
2.2.3.1. Origen Botánico .....	38
2.2.3.2. Componentes Químicos del Propóleo .....	40
2.2.3.2.1. Flavonoides .....	40
2.2.3.2.1.1. Estructura Química .....	41



2.2.3.3. Propiedades y Actividad Biológica: .....	42
2.2.3.3.1. Actividad Antimicrobiana: .....	43
2.2.3.3.2. Actividad Antifúngica .....	43
<b>CAPITULO III HIPOTESIS Y VARIABLES DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1. Formulación de Hipótesis Principal y Derivadas .....</b>	<b>44</b>
3.1.1. Hipótesis Principal .....	44
3.1.2. Hipótesis Derivadas .....	44
<b>3.2. Variables; Definición Conceptual y Operacional .....</b>	<b>45</b>
3.2.1. Variable Independiente: .....	45
3.2.2. Variable del Grupo Control .....	45
3.2.3. Variable Dependiente .....	45
3.2.4. Operacionalización de Variables.....	46
<b>CAPITULO IV METODOLOGIA.....</b>	<b>47</b>
<b>4.1. Diseño Metodológico .....</b>	<b>47</b>
<b>4.2. Diseño Muestral.....</b>	<b>48</b>
4.2.1. Criterios de Inclusión .....	48
4.2.2. Criterios de Exclusión .....	48
<b>4.3. Técnica de Recolección de Datos.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información .....</b>	<b>52</b>
<b>4.5 Aspectos Éticos .....</b>	<b>53</b>
<b>CAPITULO V ANALISIS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>

<b>5.1. Análisis Descriptivo:</b> .....	<b>54</b>
<b>5.2. Comprobación de hipótesis</b> .....	<b>60</b>
<b>5.3. Discusión</b> .....	<b>61</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>63</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>63</b>
<b>FUENTES DE INFORMACION</b> .....	<b>65</b>

## **ANEXOS**

Anexo 01: Carta de presentación .....	69
Anexo 02: Solicitud de permiso para ejecución de proyecto .....	70
Anexo 03: Consentimiento informado .....	71
Anexo 04: Ficha de recolección de datos N°1 .....	72
Anexo 05: Ficha de recolección de datos N°2.....	73
Anexo 06: Registro fotográfico .....	74
Anexo 07: Matriz de consistencia.....	77

## LISTA DE TABLAS

Pag.

**Tabla N° 01:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans* con extracto etanólico de propóleo y nistatina, Juliaca- 2018..... 54

**Tabla N° 02:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans* con extracto etanólico de propóleo, Juliaca- 2018..... 56

**Tabla N° 03:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans* con nistatina, Juliaca- 2018..... 58

## LISTA DE GRÁFICOS

Pag.

**Gráfico N° 01:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo y nistatina, Juliaca- 2018..... 55

**Gráfico N° 02:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo, Juliaca- 2018..... 56

**Gráfico N° 03:** Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con nistatina, Juliaca- 2018..... 58

## INTRODUCCIÓN

La Candidiasis bucal causada por la *Cándida albicans* comúnmente se observa en el infante, adulto mayor, pacientes inmunocomprometidos y puede ser dolorosa, interfiriendo con el proceso de alimentación, si persiste más de dos semanas necesita tratamiento. Clínicamente se caracteriza por presentarse como una placa blanda y blanca en la boca, debajo de este material puede estar enrojecida aumentando la lesión; el odontólogo casi siempre puede diagnosticar esta lesión bucal ayudada de la evaluación microscópica de una muestra bucal y el cultivo de las lesiones bucales, para el tratamiento de la Candidiasis bucal se dispone de colutorios, antimicóticos específicos y/o sistémicos. La disponibilidad de estos medicamentos se ha visto limitado en ciertas sociedades, lo que ha estimulado a la búsqueda de alternativas en los productos naturales con propiedades medicinales, con los trabajos investigativos se garantiza su producción de preparados que posteriormente se adquieren por la población.

Este trabajo presenta y expone el problema de investigación y justifica su importancia y limitaciones del estudio, respaldado con antecedentes internacionales y nacionales con bases teóricas actualizadas en el tema a tratar explicando la metodología, especificando el método de discos de difusión en agar, con 30 muestra de *cándida albicans* en placas petry, técnicas de recolección de datos en una ficha específica, así también presentando los resultados de formación de halos de inhibición correspondiente, exponiendo luego la discusión con los antecedentes citados de investigaciones anteriores que constan en este estudio y finalmente mostrando las conclusiones y recomendaciones del presente.

# CAPITULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la Realidad Problemática

Las enfermedades provocadas por hongos han incrementado su frecuencia y su importancia clínica, a causa del aumento del uso de drogas inmunosupresoras potentes en trasplantes, en terapia anticancerosa y por la aparición de infecciones virales que causan inmunodeficiencia (1). Se presenta una revisión de la literatura actualizada de una de las enfermedades más frecuentes de la mucosa bucal y la afección micótica más común en esta localización: la *Candidiasis Seudomembranosa aguda* de la mucosa bucal asociada a la infancia y la ancianidad; donde se realizaron estudios con el Propóleo en diferentes microorganismos en el campo de medicina y veterinaria habiendo pocos estudios en el área de Estomatología pero realizados en su mayoría en otros países y con Propóleos obtenidos de una región propia de cada país; sin tomar en

consideración relevante a la *Cándida albicans* principal representante de la micosis oral. Por esto en el presente estudio se considera a este producto comparándolo con la Nistatina fármaco convencional para tratar infecciones por hongos en la cavidad bucal, con la finalidad de encontrar resultados sean positivos o negativos.

Mencionamos además que existen poblaciones aisladas del medio urbano sin alcance de los medicamentos convencionales y estas son descritas como inequidades en salud oral, estando principalmente asociadas a nivel socio-económico y grupo étnico. (14)

La presente investigación tiene importancia teórica ya que definirá la eficacia de estos anti fúngicos de compuestos naturales, además contribuirá socialmente a las poblaciones aisladas fuera del ámbito urbano, reduciendo el costo del tratamiento ya que estos productos estarán al alcance de las personas aportando en mejorar su calidad de Vida. (8)

El propósito del presente estudio es determinar la eficacia de la evaluación del Extracto Etanólico de Propoleo en comparación con la nistatina para inhibir el crecimiento Fúngico *in vitro* de muestras de *Cándida Albicans*, Juliaca 2018.

## **1.2. Formulación del Problema**

¿Cuál será el resultado de la evaluación del extracto etanólico de Propoleo y nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca - 2018?

### **1.2.1. Problemas General**

¿Cuál será el resultado de la evaluación del extracto etanólico de Propoleo y nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca - 2018?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico de la Nistatina después de la intervención?
- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del extracto etanólico de propóleo después de la intervención?

## **1.3. Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1. Objetivo General**

Evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca - 2018.

### **1.3.2. Objetivos Específicos**

- Determinar la inhibición del crecimiento fúngico de la Nistatina después de la intervención.



- Determinar la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del Extracto etanólico de propóleo después de la intervención.

#### **1.4. Justificación de la Investigación**

Los productos extraídos del Propóleo, tienen probadas propiedades antimicrobianas (antibacteriana, antiviral y antimicótica) estudiadas en el campo de la medicina, Veterinaria y odontología, con disminuida especificación en el área estomatológica en el Perú. Teniendo en cuenta que también nuestro país cuenta con este producto natural que puede ser empleado en estas áreas médicas, como una alternativa de tratamiento. Considerando la Candidiasis pseudomembranosa aguda como un problema, cuando la resistencia a la infección es baja, el hongo *Cándida albicans* puede crecer, llevando a que se presenten lesiones en la boca y la lengua cuando la persona está inmunocomprometida por algún tipo de enfermedad, la infección prevalece y se puede diseminar a otros órganos, como el esófago (causando dolor al deglutir), o por todo el cuerpo, lo cual puede ser mortal. El uso de medicamentos puede ser costoso, demanda de tiempo y puede producir efectos colaterales, se plantea la necesidad de buscar una forma de controlarlas y prevenirlas en base a los recursos naturales como una alternativa de tratamiento. (8)

El estudio del Propóleo es de gran importancia en los últimos años debido a que encuentran propiedades que benefician en la medicina, veterinaria y odontología contra las infecciones microbianas esto probada científicamente en los diversos estudios que en su mayoría realizados en el extranjero.

#### **1.4.1. Importancia de la Investigación**

La presente investigación tiene importancia teórica y social ya que ayuda a enriquecer los conceptos de utilización de compuestos naturales a base de propóleos y para la prevención y tratamiento de enfermedades fúngicas de la cavidad bucal, así en futuras investigaciones según sea el resultado positivo o negativo, se podría utilizar en investigaciones de la misma línea con grupos de pacientes (in vivo) o más estudios in vitro.

#### **1.4.2. Viabilidad de la Investigación**

La presente investigación es viable en el sentido de la estandarización de las variables y aplicación de los instrumentos, además del acceso a los sujetos de estudio in vitro de las respectivas muestras.

#### **1.5. Limitaciones del Estudio**

Las muestras serán obtenidas de cavidad bucal lo suficientemente necesarias para este estudio siendo una limitante en número, para que se cumplan los criterios de selección. Además del factor económico para los medios de cultivo, el transporte y el mantenimiento específico del hongo para el estudio con el agar que se cuenta en laboratorio para este tipo de hongo.

## CAPITULO II

### MARCO TEORICO

#### 2.1. Antecedentes de la Investigación

##### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

**Castro (2016)**, Estudio el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo al 10%,20% y 40% sobre bloques de resina acrílica contaminados con *cándida albicans*; estudio in vitro”La *Cándida albicans* en un ambiente óptimo para su crecimiento excesivo se puede volver patógena y causar la estomatitis subprotésica. La capacidad antimicrobiana del propóleo desempeña un papel muy importante por su mecanismo de acción en patologías de la cavidad bucal. El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo (EEP) al 10%, 20% y 40% sobre bloques de resina acrílica contaminados con *cándida albicans*. Para ello se usó EEP sobre bloques de resina acrílica de termocurado de 1.5 x 1.5 mm y de 3mm de grosor,

contaminadas con *Cándida albicans* ATCC® 10231, para comprobar la inhibición se realizó la parte experimental en dos fases: la primera mediante técnica del coeficiente fenólico y la segunda mediante técnica de disco difusión en agar, observado en la primera prueba ausencia de crecimiento de *cándida albicans* en los cuatro tiempos 5min, 10 min, 15min, y 8 horas y en las tres concentraciones y en la segunda la formación de halos de inhibición. Concluyendo que el EEP al 10%, 20% y 40% posee un efecto inhibitorio sobre los bloques de resina acrílica contaminados con *Cándida albicans*. (2)

**Gil (2015)**, Efecto fungistático y fungicida del extracto etanólico de propóleos sobre especies de *cándida*. Indico que el propóleo es una sustancia resinosa balsámica, elaborado por abejas productoras de miel (*Apis mellifera*). El objetivo del trabajo fue determinar el efecto fungistático y fungicida de un extracto etanólico de propóleos comercial al (70% v/v) proveniente de un apiario del Estado Cojedes Venezuela sobre 4 especies de *Candida* ATCC: *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, Complejo *C. albicans*, *C. glabrata*. La metodología utilizada fue la técnica de macrodilución en tubo. El extracto de propóleos demostró efecto fungistático total a 15% sobre *C. parapsilosis* en 24 horas de incubación y sobre Complejo *Candida albicans* a 48 horas de incubación. El efecto fungistático parcial fue observado en 24 horas de incubación a una concentración de 8% para *C. guillermondi*, *C. glabrata* y Complejo *C. albicans* y en 48 horas de incubación a 11% para *C. guilliermondii*, 15% para *C. parapsilosis* y 19% *C. glabrata*. El efecto fungicida en 24 horas fue de 11% para *C. guilliermondii*, Complejo *C. albicans* y *C. glabrata* y de 19% para *C. parapsilosis*. El efecto fungicida en 48 horas de incubación fue de 15% para *C. guilliermondii*, 19% para *C. parapsilosis* y

Complejo *C. albicans* y 23% para *C. glabrata*. Se evidencia que el tiempo de incubación más eficaz fue el de 48 horas y que la especie más sensible fue *C. guilliermondii* y la especie más resistente *C. glabrata*. El presente trabajo demostró que el extracto etanólico del propóleo tiene efecto fungistático y fungicida in vitro en las cepas estudiadas. (3)

**Del Rio (2006)** Actividad Biocida de un propolis Chileno frente a *Porphyromonas gingivales*. La periodontitis es una enfermedad con alta prevalencia a nivel mundial, que produce gran destrucción de tejidos blandos y duros del diente, y pérdida de piezas dentarias. Se ha asociado con patologías sistémicas como diabetes, enfermedades cardiovasculares, parto prematuro y bajo peso en niños recién nacidos. Es una enfermedad infecciosa polimicrobiana, uno de cuyos agentes etiológicos más importantes es *Porphyromonas gingivalis*, especie de bacterias anaeróbicas estrictas, Gram negativo. Por otra parte, el uso de antibióticos sistémicos está indicado sólo en ciertos tipos de periodontitis, y no siempre el tratamiento es exitoso. Hoy en día, tanto en medicina general como odontológica, se está investigando nuevas alternativas de tratamientos antimicrobianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que estos producen en algunos pacientes. Propolis es un producto natural fabricado por la abeja *Apis mellifera* con variadas propiedades medicinales, entre ellas la antimicrobiana. Dichas propiedades dependen del origen botánico que utilizó *Apis mellifera* para su fabricación. En el presente estudio se investigó la actividad biocida in vitro del propolis chileno *Apiherbal*®, frente a 35 aislados de *P.gingivalis* 98 provenientes de pacientes chilenos con periodontitis, mediante la técnica de dilución en agar.

Se obtuvo un valor de CIM de 83,2mg/ml, como necesario para inhibir el desarrollo del 75% de los aislados probados. El análisis del origen botánico del propolis permitió determinar un origen mixto, dentro del cual no se detectó la presencia del género *Populus*. Se sugiere que la CIM más alta determinada para este propolis, en comparación con otros, se puede deber a su composición química, a las características morfológicas y fisiológicas de *P.gingivalis*, y a diferencias en las metodologías utilizadas en la determinación de la concentración inhibitoria mínima. (4)

**Principal, Thaís, Barrios (2005).** Actividad Antibacteriana *In Vitro* del extracto etanólico de propóleo sobre una cepa clínica de *Staphylococcus aureus*.

Este estudio se realizó para evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo al 20% y 40% sobre una cepa de origen canino de *Staphylococcus aureus* perteneciente al Laboratorio de Microbiología e Inmunología del DCV de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" UCLA y comparar su efecto con antibióticos comerciales. El *propóleo* fue colectado usando mallas de polietileno colocadas en las colonias de *Apis mellifera scutellata* de la Estación de Apicultura de la misma Institución, con el objeto de preparar los extractos alcohólicos al 20% y 40%. La cepa clínica de *S. aureus* N° 7695, aislada de un canino Terrier con diagnósticos de pioderma facial y otitis externa; fue inoculada en tres placas de Agar Müller-Hintom en las cuales fueron depositados discos impregnados con 10 m l de las soluciones alcohólicas de *propóleo* al 20% y 40% y un tercer disco control de solución alcohólica sin *propóleo* respectivamente. Un estudio de sensibilidad antimicrobiana *in vitro* fue realizado utilizando la técnica de difusión por discos con los extractos de *propóleo*

ya descritos y discos de antibióticos comerciales de Neomicina 30 m g, Enrofloxacin 5 m g y Penicilina 10 U.I. El criterio de evaluación de la actividad antimicrobiana del propóleo se basó en la medición en mm de diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza de una sola vía y prueba de Duncan para comparar las medias entre los tratamientos. Los resultados revelaron que la solución alcohólica de propóleo al 40% tiene actividad antibacteriana sobre la cepa de *S. áureus* comparado con el control; siendo su efecto antimicrobiano moderado en comparación con los antibióticos comerciales usados en este estudio. (5)

**Lozina, Boehringer, Teibler, Acosta de Pérez (2005)** Acción del propóleos sobre una levadura (*Malassezia pachydermatis*) aislada a partir de otitis externa canina. *Malassezia pachydermatis* es una levadura capaz de provocar micosis en seres humanos y animales. El propósito de este trabajo fue determinar la acción de extractos alcohólicos y acuosos de propóleos sobre cepas de dicho microorganismo, extraídas del conducto auditivo externo de 5 caninos. La levadura fue sembrada en la superficie de placas de agar Sabouraud que contenían distintas diluciones de propóleos, con sus correspondientes controles alcohólicos. Los extractos acuosos no demostraron acciones inhibitorias sobre el crecimiento de la levadura, pero algunos *extractos etanólicos* de propóleos impidieron su desarrollo, estableciéndose la concentración inhibitoria mínima en 0,30 mg/ml. Los resultados indican que el producto ensayado puede resultar útil para el tratamiento de la otitis externa producida por *M. pachydermatis*.

Las propiedades antimicótico del *propóleos* han sido estudiadas por numerosos investigadores, esta actividad depende del origen del propóleos y del solvente

usado para su extracción. En medicina Veterinaria se utiliza para cicatrizar heridas y en el tratamiento de diversas patologías tales como, diarreas, abscesos, quemaduras, dermatosis, mastitis, etc. y también para mejorar la ganancia en peso de terneros lactantes. Los estudios realizados han tratado de determinar el papel de las *Malassezias*, en la patogénesis de las otitis *micóticas* fundamentalmente en relación con su comportamiento en calidad de agente primario o secundario, ya que han sido aislada tanto en perros sanos como enfermos.(6)

### **2.1.2. Antecedentes Nacionales**

**Chugden y Vergara (2018)**, Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos de Cajamarca frente a colonias de *porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) *in vitro*. Se emplearon tres concentraciones de Extracto etanolico de Propoleos al 5%, 10% y 15% frente a colonias de *Porphyromonas gingivalis* y la prueba de dilución en un medio líquido para evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) Se encontró inhibicion bacteriana en todas las concentraciones estudiadas. Al comparar la actividad antibacteriana de los extractos etanolicos de propóleos de Cajamarca al 5%, 10% y 15% sobre la cepa de *Porphyromonas gingivalis*, se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre los tres grupos. De todas las concentraciones la del 15% fue la que presento mayor actividad antibacteriana. En referencia a la concentración mínima inhibitoria se comprobó que, en general que el resultado fue negativo, es decir que no hubo crecimiento de la cepa *porphyromonas gingivalis* por lo tanto la concentración mínima inhibitoria fue de 2.5 % (7)



**Jara (2014)** Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de cinco propóleos peruanos sobre cepas de streptococcus mutans (atcc 25175) y streptococcus sanguinis (atcc 10556). Evaluó de cinco propóleos peruanos sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556) teniendo un diseño de estudio experimental in vitro, realizado en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Materiales y métodos: Se comparó el efecto antibacteriano de cuatro marcas comerciales de propóleo Tintura de propóleo Farmagel, Tintura de propóleo Max, Madre Natura, Kaita® y un extracto metanólico de propóleo de Oxapampa, el cual se elaboró en el laboratorio de Bioquímica de la UPC, como control (+) la clorhexidina al 0.12%. Para este estudio se utilizó 10 pocillos por cada extracto de propóleo, para el Streptococcus mutans y para el Streptococcus sanguinis individualmente. Se desarrolló con la técnica “Agar overlay interference test”, para lo cual se utilizó 200ml de Agar BHI homogenizado con las bacterias de manera independiente (un frasco por bacteria). Se distribuyó este agar en las placas, una vez solidificado se realizaron los pocillos con 150µL de los distintos tipos de propóleo y para el grupo control, se utilizó clorhexidina al 0.12%. Terminado este proceso se colocó en la cámara de anaerobiosis a 37°C, durante 72 horas. Por último, se realizó la medición del halo inhibitorio con una regla Vernier. Resultados: El extracto metanólico de propóleo de Oxapampa elaborado en el laboratorio tiene mayor actividad antibacteriana que los extractos comerciales frente a las cepas Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556). De los 4 propóleos comerciales evaluados en el estudio, Tintura de propóleo Farmagel, Kaita®, Madre Natura y Tintura de propóleo Max, sólo tres de ellos

tiene actividad antibacteriana frente a las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). (8)

**De la Cruz (2013)** Actividad Antimicótica Del Extracto Etanólico De Propóleo Sobre El Crecimiento In Vitro De *Cándida Albicans*. El propóleo es un producto natural fabricado por la abeja *Apis Mellifera* con variadas propiedades medicinales entre ellas antimicótica, El propósito de esta investigación de tipo experimental “in vitro”, fue evaluar el efecto antimicótico de cuatro concentraciones de extracto etanólico de propóleo sobre el crecimiento de *Candida albicans* y a la vez compararlo con el antimicótico sintético Nistatina. Este estudio se realizó utilizando 4 concentraciones del extracto etanólico de propóleo (25%, 50%, 75% y 100%), y el medicamento Nistatina (100 000 UI solución) las cuales fueron puestas en contacto con el microorganismo de estudio y mediante el método de halos de inhibición se pudo determinar el efecto en el crecimiento de este, a las 24 horas. Los resultados indicaron que la actividad antimicótica del extracto etanólico de propóleo fue aumentando conforme aumentaba la concentración siendo la concentración del 100% la de mayor efecto antimicótico, pero este no fue superior al medicamento sintético Nistatina utilizado como referencia. Palabras Claves: PRÓPOLIS, Nistatina, *Candida albicans*. (9)

### **2.1.3. Antecedentes Locales**

**Ramírez (2016)** Buscó el efecto inhibitorio del extracto etanólico de Propóleo sobre los microorganismos de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos de la clínica Odontológica de la

UNA – Puno, 2016. Teniendo un diseño de estudio experimental, empleando concentraciones al 25%, 50%, 75%,100 %, durante 24 horas para determinar el efecto inhibitorio utilizando el método de Kirby Bauer. Teniendo como resultado que el halo inhibitorio para *Streptococcus mutans* es a partir todas las concentraciones, empezando del 25 % con un halo de inhibición de 7.5 mm, al 50% con 10.5 mm, al 75% con 11.7 mm y al 100% con 14.25 mm; mientras que para *Cándida albicans* el halo de inhibición es a partir de la concentración de 50% con 6.95 mm, al 75% con 8.6 mm y al 100% con 11.8 mm. Se concluye que el propóleo etanólico a mayores concentraciones presenta mayor actividad inhibitoria tanto con el *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*. (10)

## **2.2. Bases Teóricas**

### **2.2.1. Candidiasis Bucal**

Candidiasis es hoy un término ampliamente aceptado para abarcar muchas formas clínicas de infección por miembros del género *Candida*. Se le conoce también como: *candidiasis bucal*; *candidosis oral*; *estomatitis candidósica*; *muguet*. (11)

#### **2.2.1.1. Definición**

Es una infección por un hongo llamado *Candida albicans* de las membranas mucosas de la boca y la lengua. Usualmente es mantenido a raya por organismos sanos que también viven allí. (11)

La infección por *Candida* se acompaña de lesiones blancas bucales queratósicas y no queratósicas. *Candida* es un agente infeccioso oportunista que a pesar de poseer varias proteasas, está mal acondicionado para invadir y destruir tejido, a menos que se le proporcione una oportunidad para reproducirse con rapidez y una vía de entrada. No se ha definido con claridad el sitio de *Candida* como invasor oportunista comparado con el de agente causal en lesiones blancas de la boca queratósica y no queratósica. Sin embargo, la demostración de la función catalítica de algunas cepas de *Candida* en la producción celular endógena de nitrosamina, la relación de cepas similares con lesiones blancas y rojas precancerosas ( leucoplasia manchada ) y los efectos hiperplásicos de *Candida in Vitro* indican que puede ser un carcinógeno o cocarcinógeno, más que un agente oportunista inocuo.

#### **2.2.1.2. Incidencia y Factores de Riesgo**

Cuando la resistencia a la infección es baja, el hongo puede crecer, llevando a que se presenten lesiones en la boca y la lengua.

Las siguientes circunstancias pueden reducir la resistencia a la infección e incrementar las probabilidades de desarrollar Candidiasis bucal:

- Tomar antibióticos o usar medicamentos esteroideos
- Tener infección por VIH o SIDA
- Recibir quimioterapia para el cáncer o medicamentos inmunosupresores después de un trasplante de un órgano

- Ser muy viejo o muy joven
- Tener mala salud
- Padecer diabetes

La Candidiasis bucal se observa comúnmente en bebés y no se considera anormal en ellos a menos que dure por más de dos semanas.

La *Candida albicans* también puede causar infección por levaduras en la vagina.

### 2.2.1.3. Aspecto clínico

Las variantes clínicas que se ven más frecuentes en niños son:

Candidiasis seudomembranosas, queilitis angular, candidiasis eritematosa, candidiasis mucocutánea. Candidiasis hiperplásica y candidiasis, glositis romboidal media. (12)

**a. Candidiasis Seudomembranosa o Algodoncillo:** es la variante más común visto en niños, es usualmente aguda. Clínicamente se caracteriza por placas amarillo – blanquecina ligeramente elevadas que pueden ser removidas por raspado dejando una mucosa normal o rojiza. Puede haber xerostomía, sabor desagradable y sensación de quemadura de mediana intensidad. (11,12)

Es el prototipo de infecciones bucales por el hongo tipo levadura *Candida*, es una infección superficial de las capas superiores del epitelio mucoso y resulta en la formación de las placas o listas blancas difusas en la superficie de la mucosa,

compuesta de células epiteliales descamadas, células de inflamación, fibrina, levaduras y elementos miceliales. La mucosa circundante puede estar o no enrojecida, pero la eliminación de las placas mediante fricción o raspado suaves suele descubrir un área de eritema incluso ulceración superficial. Debido a su prevalencia, aspecto bastante característico y facilidad para quitarlas, las lesiones del algodoncillo suelen citarse como representativas del grupo de lesiones blancas no queratósicas. (11)

El algodoncillo suele diagnosticarse por el aspecto de la lesión, con confirmación o sin ella, mediante frotis o cultivo de *Candida* (estrictamente, el diagnóstico firme del algodoncillo solo debe establecerse cuando se identifica el microorganismo en un frotis teñido o en un cultivo por impresión preparado de la lesión clínica característica. Es posible que se presenten lesiones de la mucosa bucal de aspecto similar por otras causas, por ejemplo, medicamentos, restos de alimentos, otros agentes infecciosos y quemaduras químicas).

Las especies de *Candida* son un componente normal de la flora microbiana bucal y se establecen ahí durante el nacimiento o poco después, por lo general por diseminación directa desde el aparato genital de la madre, contacto con piel o fómites contaminados. Las lesiones del algodoncillo se ven en niños y adultos de todas las edades siempre que aumenta de manera importante el número de *Candida* en la cavidad bucal o se alteran las condiciones ambientales de la boca que promueven la formación de colonias de este microorganismo oportunista en el epitelio superficial. Las lesiones de algodoncillo desaparecen con rapidez cuando se reduce o elimina el número de *Candida* por la administración de antimicóticos. Pueden ocurrir fenómenos aislados que desaparecen

espontáneamente con un tratamiento mínimo, o sin él, y no se relaciona con ningún factor predisponente reconocido (las infecciones de este tipo son comunes en recién nacidos y niños pequeños). De manera alternativa las lesiones pueden recurrir poco después del tratamiento, y ello sugiere a la persistencia de un factor predisponente. Un cuadro clínico de este tipo es más frecuente en la Candidiasis del adulto, en la que también es más probable que la lesión característica del algodoncillo se acompañe de eritema, atrofia difusa de la mucosa y otras formas de infección bucal por *Candida*. (13)

Las lesiones típicas en lactantes son placas adherentes blandas de color blanco o blanco azulado en la mucosa bucal, que a veces se extienden a los tejidos circumorales. (13)

**b. Candidiasis Eritematosa:** es la variante más común en niños HIV positivos o que han estado en tratamiento con antibióticos de amplio espectro (1). Clínicamente La mucosa esta delgada lisa y de color rojo brillante con síntomas de ardor y aumento de sensibilidad, normalmente se encuentra en el paladar debajo de una dentadura protésica pero también se ve en la lengua y otras superficies mucosas (12). Se caracteriza por parches eritematosos o grandes áreas que tienen predilección por el dorso de la lengua y el paladar. La sensación de quemadura es común. (1)

**c. Queilitis Angular:** es relativamente rara en niños se caracteriza por eritema, costra fisurada con o sin erosión, cubierta generalmente por unas manchas o placas blanquecinas. (1)

**d. Candidiasis Mucocutanea:** es rara y las variantes aguda y crónica se caracterizan por lesiones de piel, uñas y mucosas. La enfermedad aparece durante la infancia y está asociada con disfunciones inmunológicas y endocrinopatías (hipoparatiroidismo, hipotiroidismo, hipoadrenalismo, diabetes mellitus e hipogonadismo), y anemia severa por deficiencia de hierro. Clínicamente las lesiones se ven placas blanquecinas gruesas y rugosas usualmente sobre una base eritematosa. Característicamente las lesiones son múltiples y generalizadas con predilección por la mucosa bucal, comisuras, lengua y paladar y pueden extenderse a la orofaringe y al esófago. (1)

**e. Candidiasis Hiperplásica Crónica:** forma clínica de infección por *Candida albicans* que consiste en placas o pápulas blancas sobre un fondo eritematoso que contiene hifas en la capa paraqueratinizada del epitelio engrosado suele denominarse también “leucoplasia candidiasica” no se elimina por fricción. (14)

**f. Glositis Romboidal Media:** placa eritematosa alargada asintomática, de mucosa atrófica de la superficie dorsal media de la lengua, debida a infección por *Candida albicans*. (14)

#### **2.2.1.4. Síntomas**

La Candidiasis bucal aparece como placas blandas de color blanquecino en la boca y en la lengua. Debajo de este material blanquecino, se presenta enrojecimiento que puede sangrar y las lesiones pueden aumentar lentamente en número y tamaño.



Si la persona está inmunocomprometida (por ejemplo, es VIH positiva o recibe quimioterapia), la infección se puede diseminar a otros órganos, como el esófago (causando dolor al deglutir), o por todo el cuerpo, lo cual puede ser mortal. (14)

#### **2.2.1.5. Signos y Exámenes**

El médico o el odontólogo casi siempre pueden diagnosticar la Candidiasis bucal observando la boca y la lengua, ya que estas lesiones micóticas tienen una apariencia distintiva. Si no está claro del todo, se puede llevar a cabo uno de los siguientes exámenes para buscar los organismos *Cándida*:

- Examen microscópico de cepas aisladas de cavidad bucal.
- Cultivo de lesiones bucales

#### **2.2.1.6. Tratamiento**

Para la Candidiasis bucal, a menudo no es necesario el tratamiento, debido a que ésta se resuelve por sí sola en un par de semanas en el caso de los recién nacidos y niños menores. (11)

Existen dos metas en el tratamiento de la Candidiasis bucal en adultos. La primera es mejorar la capacidad de funcionamiento del sistema inmune del individuo; por ejemplo, en los pacientes diabéticos, el buen control de la diabetes

puede ser suficiente para eliminar la infección sin necesidad de otro tratamiento.

(11)

La segunda meta es el tratamiento directo de la infección. Para este propósito, el médico puede prescribir enjuagues bucales antimicóticos o tabletas para chupar y generalmente se administran por 5 a 10 días. Si esto no funciona, se puede prescribir otro medicamento.

Se dispone en general de las siguientes alternativas terapéuticas:

1. Control de factores predisponentes.
2. Colutorios.
3. Antimicóticos específicos tópicos y/o sistémicos en uso tópico:
  - Derivados poliénicos: Nistatina, Anfotericina B.
  - Derivados imidazólicos: Miconazol, Ketoconazol, Clotrimazol, Econazol.
  - Derivados triazólicos: Fluconazol, Itraconazol.
4. Tratamiento sistémico: se utilizan los derivados imidazólicos y triazólicos, así como en casos muy excepcionales la Anfotericina B.

El primer apartado consistirá en extremar la higiene y controlar los factores locales y sistémicos antes mencionados. Las prótesis dentales se pueden colocar en una solución de hipoclorito sódico diluido (5-10 %) durante la noche después de haberlas cepillado enérgicamente con detergente. Si presentan depósitos calcáreos se pueden dejar unas horas en ácido acético diluido. (11)

Si la causa detectada es local, se deberán eliminar estos factores (pérdida de la dimensión vertical, suspensión de antibióticoterapia, si es posible; adaptación de

prótesis, etc.). Para el control de cualquier alteración sistémica es imprescindible la derivación a un médico. (14)

Los buches alcalinos (agua bicarbonatada, etc.) mejoran los cuadros leves. También se puede usar hidróxido de magnesio y gluconato de clorhexidina al 0,2%, la violeta de genciana en solución acuosa al 0,5- 1 % o en pincelaciones del 1 al 5 % al igual que el azul de metileno, con el inconveniente de que estos últimos manchan antiestéticamente los tejidos bucales. (15)

Si la infección se ha diseminado a todo el cuerpo o si la persona tiene VIH/SIDA, se pueden utilizar medicamentos más fuertes como ketoconazol (Nizoral) o fluconazole (Diflucan). (15,16)

#### **2.2.1.7. Expectativas (Pronóstico)**

La Candidiasis bucal en bebés puede ser dolorosa, pero rara vez es grave. Debido a la molestia, puede interferir con el proceso de alimentación y, si no se resuelve espontáneamente en dos semanas, se debe llamar al pediatra. (14)

La Candidiasis bucal en adultos puede curarse; sin embargo, la perspectiva a largo plazo depende del estado inmune del individuo y de la causa del déficit inmunológico. (15, 16)

### **2.2.1.8. Complicaciones**

El organismo *Candida* se puede diseminar a todo el cuerpo, causando infección en el esófago (esofagítis), cerebro (meningitis), corazón (endocarditis), ojos (endoftalmitis) o articulaciones (artritis) (14)

### **2.2.2. Nistatina**

Solución oral, 100,000 UI/ ml en frasco de 100 ml; comprimidos de 100,000 y 500,000 UI; óvulos de 100,000 UI. La Nistatina, un antibiótico antifúngico poliénico derivado de *Streptomyces noursei*, es eficaz sobre infecciones producidas por un amplio grupo de levaduras y hongos similares a las levaduras. Su absorción es escasa por vía gastrointestinal y no se absorbe a través de la piel ni de las membranas mucosas tras su aplicación tópica. (14)

#### **2.2.2.1. Indicaciones**

Candidiasis oral, esofágica, intestinal, vaginal y cutánea. En pacientes inmunosuprimidos no se recomienda el uso de Nistatina como profilaxis y tratamiento de la Candidiasis. En la práctica se recomienda Fluconazol (17). No está indicada en el tratamiento de micosis sistémicas ya que no se absorbe desde el tracto gastrointestinal. (14)

#### **2.2.2.2. Dosificación**

Candidiasis oral: en adultos y niños mayores de 1 mes, 100,000 UI PO 4 veces al día, después de las comidas.

Candidiasis intestinal y esofágica: en adultos, 500,000 UI 4 veces al día; en niños mayores de 1 mes, 100,000 UI 4 veces al día; continuar durante 48 horas tras la curación clínica.

Candidiasis vaginal: en adultos, aplicar 1 – 2 óvulos por la noche durante 2 semanas como mínimo. (14)

#### **2.2.2.3. Efectos Adversos**

Efectos que necesitan atención si son persistentes. Menos frecuentes náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal. Con las presentaciones tópicas y vaginales, puede ocurrir irritación de piel y mucosa vaginal no presentes antes de la terapia: (15)

#### **2.2.3. Propóleo**

El Propóleo es una resina de color verdoso-amarillento parduzco recolectada por las abejas obreras de las yemas jóvenes de algunas especies de árboles. Este producto es usado por las abejas como sustancia cemento para tapar las grietas en el interior de la colmena, para barnizar sus paredes y dar mayor soporte a la estructura de los panales, así como para embalsamar enemigos naturales y

cadáveres que por su gran tamaño las abejas se ven imposibilitadas de sacar fuera de la colmena; o cuando ocurre un brote de enfermedades infecto-contagiosas que ponga en peligro la supervivencia de la colonia. En el proceso de recolección, transporte y almacenaje del propóleo, las abejas le adicionan compuestos enzimáticos que le confieren propiedades terapéuticas invalorables tanto para la medicina humana como veterinaria. (20)

Diversos autores han reportado en el propóleo, la presencia de compuestos *flavonoides*, ésteres del ácido caféico y ácidos diterpénicos (20, 21, 22) los cuales son responsables de las propiedades bacteriostáticas, bactericidas, antivirales y fungicidas de este producto de la colmena, ampliamente documentadas tanto *in vivo* como *in Vitro*.

El Propóleo ha sido usado en medicina desde tiempos muy remotos, especialmente por sus propiedades antimicrobianas (20). Sin embargo, algunos autores han reportado la existencia de variaciones significativas de estas propiedades, según la zona de origen donde ha sido colectada esta resina. (21)

Investigadores como Bankova, De Castro, Marcucci (30) indican que el termino propóleos deriva de la palabra griego pro (defensa de) y polis (comunidad o ciudad) y significa una sustancia en la defensa de la colmena. Propóleo es un material parduzco resinoso recolectado por las abejas obreras, de las yemas de un árbol de numerosas especies de árboles como abedul, álamo, pino, aliso, sauce y palma. Las abejas usan el Propóleo para el bienestar común de la colonia. (24)

En la colmena, las abejas utilizan Propóleo para diversos fines, tales como cerrar grietas, reducir al mínimo las vías de acceso, recubrir y aislar restos de animales que se hayan producido en la colmena, consolidar componentes estructurales, barnizar el interior de las celdillas con fines desinfectantes y evitar vibraciones: (24)

### **2.2.3.1. Origen Botánico**

Los propóleos pueden clasificarse en función de su origen geográfico y aunque los datos relativos a los contenidos de flavonoides y esteroides fenólicos de los Propóleos *Europeos y de América del norte* son incompletos, se sabe que los propóleos del género *Populus spp* contienen una mezcla de agliconas flavónicas, ácido hidroxicinámico y sus esteroides; la variedad Rusa contiene básicamente agliconas flavónicas y la brasileña derivados carbono-prenilados del ácido p-cumárico. (25)

Aunque los principales componentes del Propóleo son los flavonoides, ácidos fenólicos y esteroides, los métodos de análisis de que se disponen en la actualidad permiten detectar un número cada vez mayor de compuestos, comprobándose que la variedad en la composición del Propóleo es muy elevada por lo que se considera necesario conseguir con estudios para un mejor conocimiento de sus componentes. (25)

En el Propóleo europeo, el contenido total en fenoles, principales responsables de la mayoría de sus propiedades farmacológicas, representan más de la mitad de los 150 compuestos diferentes identificadas en él. Sin embargo, algunas muestras suizas e italianas, muestran composición inusual (ver Tabla 1), con contenido de

bencil p-cumarato y de bencil ferulato bastante altos (>5%), relativa escasez de compuestos fenólicos y ausencia de algunos compuestos típicos (pinobanksina y prenilcafeatos) del Propóleo procedente del *p. nigra*. Los Propóleos turcos y egipcios, brasileños, chile y de cuba de procedencia botánica distinta muestran composición variadas, y en algunos casos compuestos característicos que podrían ser de utilidad para la identificación de su origen. (26)

**CUADRO N°1: Composición de Diversos Propóleos Europeos.**

<b>Componente</b>	<b>Propóleo <i>p. nigra</i> (media) (%)</b>	<b>Propóleo Suizo (%)</b>	<b>Propóleo Italiano (%)</b>
Pinocembrina	7.2	0.3	0.2
Pinobanksina	3.7	-	-
O-acetato de	8.0	0.5	0.4
Pinobanksina	8.4	-	0.5
Chrysina	7.8	0.3	0.2
Galangina	3.3	0.2	-
Pentenil cafeato	3.0	-	0.9
Bencil cafeato	2.8	-	0.2
Prenetil cafeato	1.1	23.1	-
Gliceridos fenolicos	-	-	53.2
Acidos di terpenicos			

Fuente: Farré R, Fransquet I, Sánchez A. 2004. (25)



### **2.2.3.2. Componentes Químicos del Propóleo**

Se han identificado en el Propóleo más de 180 compuestos, principalmente polifenoles. Los principales polifenoles son flavonoides, acompañados por ácidos fenólicos y ésteres, aldehídos fenólicos, acetonas, etc. Otros compuestos en Propóleo son aceites volátiles y ácidos aromáticos (5–10%), ceras (% 30-40 %), resinas, de bálsamos (50-55%) y granos de polen (5%) que son una fuente sustanciosa de elementos esenciales como magnesio, níquel, calcio, hierro y cinc. Los nuevos compuestos de Propóleo también han sido aislados de muestras brasileñas (el ácido 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic) y chinas (octacosanol).

#### **2.2.3.2.1. Flavonoides**

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. (26)

Existen 13 subclases de flavonoides con un total de más de 5 000 compuestos, dos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C6-C3-C6 (difencilpropa-no) derivado del ácido shiquímico y de 3 restos de acetato.

Poseen propiedades antioxidantes; antiinflamatorias; antitrombóticas; antimicrobianas; antialérgicas; antitumorales; antiasmáticas e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa.

El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. (27, 28,29)

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regula la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C<sub>2</sub> (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950. (9)

#### **2.2.3.2.1.1. Estructura Química**

Kühnau (7), menciona que los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), compuesto por dos anillos de fenilos ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. (9)

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

- Flavanos, como la catequina, con un grupo-OH en posición 3 del anillo C.
- Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo-OH en posición 3 del anillo C.

- Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- Antocianidinas, que tienen unido el grupo-OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

### **CUADRO N°2: Clasificación de los Flavonoides y sus Fuentes Nutritivas**

<b>Subclase</b>	<b>Flavonoides</b>	<b>Fuente nutritiva</b>
Flavones	Apigenina, luteolina	Manzana, apio
Flavonoles	Quercetina, kaempferol, miricetina	Las cebollas, manzanas, té
flavanoles	Catequina, epicatequina, epigallocatequina galato	té
flavanones	Hesperitina, naringenina	frutas cítrica, toronja
antocianinas	Cianidina	mora
isoflavonas	Genisteina, daidzeina	soya

Fuente: Marchand L. 2002. (27)

#### **2.2.3.3. Propiedades y Actividad Biológica:**

El Propóleo es un producto de alto interés para la medicina, al que atribuye efectos antiinflamatorios, inmunoestimulantes, hepatoprotectores, carcinoestáticos, antimicrobianos, antiviral, antifungicos, antiprotozoarios, anestésicos y de regeneración tisular. Los flavonoides y los ácidos fenólicos (cafeico, isoferúlico, cinámico y benzoico), además de ser tóxicos para las

levaduras, inhiben la actividad enzimática de la hialuronidasa y el ácido cafeico y la actividad de la dihidrofolato reductasa, podrían explicar la similitud entre algunos de sus efectos y los de algunos antiinflamatorios no esteroicos.

#### **2.2.3.3.1. Actividad Antimicrobiana:**

El Propóleo es activo frente a numerosos microorganismos *Bacillus larvae*, *B. subtilis*, *B. de koch*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *S. mutans*, *S. cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosus*, *Klebsiella pneumoniae*. Los componentes cinámicos y flavónoicos del propóleo, que alteran las membranas e inhiben la motilidad bacteriana, probablemente contribuyan a esta acción y al sinergismo observado con algunos antibióticos.

#### **2.2.3.3.2. Actividad Antifúngica**

Velikova y otros afirman que los Própolis Centroeuropeos predominante del ácido trans p-cumárico, muestran actividad frente a varios hongos (*candidiasis*). Mientras que los mediterráneos, que contienen flavonoides, ésteres del ácido cafeico y ácido ferúlicos; presentan mejor actividad antifúngica.

## **CAPITULO III**

### **HIPOTESIS Y VARIABLES DE INVESTIGACIÓN**

#### **3.1. Formulación de Hipótesis Principal y Derivadas**

##### **3.1.1. Hipótesis Principal**

Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans*. Juliaca - 2018, existe diferencia significativa.

##### **3.1.2. Hipótesis Derivadas**

- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15 mm en el grupo de la Nistatina 100 000 UI/ml después de la intervención
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 10 mm en el grupo del Extracto etanólico de propóleo después de la intervención.

## **3.2. Variables; Definición Conceptual y Operacional**

### **3.2.1. Variable Independiente:**

**Extracto Etanólico de Propoleo:** Resina de color amarillento verdoso con concentración hidro-alcohólica de Propoleo al 80%, con propiedades antifungicas.

### **3.2.2. Variable del Grupo Control**

**Nistatina:** Antifúngico farmacéutico, solución oral de 100 000 UI/ml en frasco de 12 ml.

### **3.2.3. Variable Dependiente**

**Inhibición del crecimiento fúngico:** Actividad antifúngica que no permite el crecimiento de *Candida albicans* alrededor de un halo de inhibición que se mide en milímetros (mm).

### 3.2.4. Operacionalización de Variables

<b>Variables</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Dimensión</b>	<b>indicadores</b>	<b>Escala</b>	<b>categoría</b>
<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto Etanólico de propóleo.</p> <p>Nistatina</p>	<p>Resina de color amarillento verdoso con concentración hidro-alcohólica de Propóleo al 80%, con propiedades antifúngicas.</p> <p>Antifúngico farmacéutico, solución oral de 100 000 UI/ml en frasco de 12 ml</p>	<p>Aplicación de: -EEP al 80%</p> <p>Aplicación de Nistatina 100 000 UI ml</p>	<p>Solución líquida embebida en discos filtros</p> <p>Solución líquida embebida en disco filtros</p>	<p>Nominal</p> <p>Nominal</p>	<p>Si no</p>
<p><b>Variable Dependiente</b></p> <p>Inhibición del crecimiento (Candida albicans)</p>	<p>Actividad antifúngica que no permite el crecimiento de candida albicans alrededor de un halo de inhibición que se mide en milímetros (mm).</p>		<p>formación del Halo de inhibición</p>	De Razón	mm

## **CAPITULO IV**

### **METODOLOGIA**

#### **4.1. Diseño Metodológico**

La investigación que presento es de tipo cuantitativo porque la recolección de datos se hace para probar hipótesis, existen mediciones, se hace uso de estadística, es secuencial, probatorio, deductivo, comparativo, objetivo, preciso y se puede replicar; el nivel investigativo es experimental puesto que el investigador hace intervención sobre la variable independiente y espera ver el efecto en la variable dependiente, buscando el posible factor de efecto al problema de investigación, el tipo de estudio según la secuencia y periodo de estudio es transversal, según el tiempo de ocurrencia de los hechos es prospectivo; el diseño según la intervención del investigador es experimental.



## **4.2. Diseño Muestral**

La población de Estudio se obtuvo de muestras de micosis de la boca de pacientes que acuden a la clínica estomatológica, previo consentimiento informado, para luego aislar al microorganismo fúngico: *Cándida albicans* “*in vitro*” en el laboratorio de Universidad Alas Peruanas Filial- Juliaca.

La selección del número de muestras se hizo por conveniencia por ser de tipo experimental, con un muestreo no probabilístico que cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Con un tamaño de muestra de = 30 medios de cultivos.

### **4.2.1. Criterios de Inclusión**

- Tinción Gram Positivo
- Análisis microbiológico positivo para *Cándida albicans*
- Medios de cultivo vigentes a la fecha de vencimiento
- Turbidez 0.5 de Mc Farland

### **4.2.2. Criterios de Exclusión**

- Tinción Gram Negativo
- Análisis microbiológico negativo para *Cándida albicans*.
- Medios de cultivo contaminados por otros microorganismos
- Medios de cultivo dañados y mal manipulados.

### 4.3. Técnica de Recolección de Datos

1. Se realizó la prueba piloto en 5 muestras de *Cándida albicans* por cada grupo de estudio para la validación del instrumento.

2. Selección de las unidades de estudio:

. El Propóleo se Preparó en laboratorio de la Universidad Alas Peruanas propóleos provenientes de los valles de Sandía, el procesamiento se hizo de la siguiente manera:

- El Propóleo se cortó en trozos pequeños y posteriormente se pulverizo en mortero de porcelana y es extraído con alcohol de 96° y agua.
- Se prepararon extractos alcohólicos al 80% (tintura madre) por maceración durante tres días a 37°C contenidos en frascos de color ámbar en estufa.
- Al cuarto día la solución se sometió a 0°C durante dos horas y luego se filtró a través de papel de filtro tipo Wahtman, en medio estéril. (7)

. La Nistatina se obtuvo de una farmacia convencional.

. Calibración para niveles óptimos de seguridad con el asesor.

. La muestras de cándida se tomó de un paciente que presento Candidiasis pseudomembranosa aguda, a los cuales se les explico del asunto previo consentimiento informado (Anexo 2), se procedió a llenar la ficha de recolección de datos y se transportó la muestra en un tubo de ensayo de tapa rosca hacia el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas. Donde se realizaron los siguientes procedimientos supervisados y dirigidos en todo momento con el asesor:

- a. Se sembró la muestra recolectada en agar saboraud en tubo de ensayo.
- b. El tubo de ensayo que contenía el agar saboraud con la siembra de micosis bucal se llevó a la incubadora a 37° como detalla la literatura por un periodo de dos días para el crecimiento de colonias.
- c. Se realizaron pruebas de tinción Gram para la identificación de levaduras.
- d. Confirmadas las levaduras en microscopio se procedió a la diferenciación de tubos germinativos de la muestra de levadura, para luego ser transportado a una lámina de vidrio (porta-objeto) junto con un aceite de inmersión para poder observarlo al microscopio a 40X.
- e. Se confirmó la presencia de tubos germinativos y la presencia de *Cándida albicans* y se procedió a seleccionar las muestras positivas.
- f. Se estandarizaron las muestras de *cándida albicans* a la escala de Mc Farland 0.5 como estipula en la literatura y por el método de comparación de turbidez con agua destilada estéril.
- g. Obtenidas las escalas de turbidez 0.5 de Mc Farland, se procedieron a inocular la superficie de la placa de agar saboraud glucosado al 2% (con cloranfenicol) estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo (*cándida albicans*).

El grupo experimental estuvo conformado por discos de papel whatman N°3 de 6mm de diámetro con Extracto etanólico de Propóleo, utilizando la técnica

del disco de difusión se aplicó la sustancia a base de Extracto etanólico de Propóleo al 80% a cada disco, estos fueron inoculados en un medio de cultivo con agar saboraud que contenía *Cándida albicans*, validado al estándar de turbidez 0.5 de Mc. Farland. Y el grupo experimental con Nistatina en discos filtros tipo Whatman, embebido en una solución líquida de Mycostatin (nistatina) de 100 000 UI/ml. inoculados al medio de cultivo con agar saboraud que contiene *Cándida albicans*.

3. La aplicación de la sustancia se realizó cerca de un mechero bunsen en llama de la siguiente manera:

- se depositaron los discos de papel tipo Whatman N° 3 de 6 milímetros de diámetro impregnados con 20ul de las soluciones alcohólicas de Propóleos correspondientes al 80% y un segundo disco impregnado con 20ul de la solución Nistatina 100 000 UI/ml.

- Los discos depositados fueron aplicados con una pinza estéril hacia el medio de cultivo de agar saboraud sembrado con *Cándida albicans*,

Las placas petry con agar saboraud se cubrieron con sus respectivos cubreplacas para ser depositados en una incubadora a 37°C hasta 24 horas.

4. los controles del grado de inhibición de la sustancia experimental fueron por medio de la medida del diámetro del halo inhibitorio.

a. Se retiraron de la incubadora y se secaron con algodón.

b. Se observó la formación de del halo inhibitorio en la

Sustancias del extracto etanolico de propoleo al 80%.

1. El halo inhibitorio se midió con una regla milimetrada calibrada tipo pie de rey. La medición se realizó desde la colonia más interna del halo inhibitorio medición hecha contando milímetro por milímetro.
2. La medición se realizó con una regla milimetrada, apoyada en la parte posterior de la placa en un ambiente con luz sobre una superficie de color oscura para poder visualizar los halos de inhibición.
3. El asesor y el investigador corroboraron las medidas diametrales de los halos inhibitorios observados en las placas y anotaron en la ficha de recolección de datos.
5. El control se realizó a las 24 horas.
6. Se revisaron las fichas de recolección de datos. (ANEXO 3)
7. Se enviaron a una base de datos.
8. Se tabularon los datos
9. Se efectuaron los análisis de datos.
10. Se Graficaron e interpretaron.
11. Se Obtuvieron resultados.

#### **4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información**

Se usó estadística descriptiva mediante el uso de tablas de frecuencia y gráfico de barras, Cajas-bigotes Y también se utilizó estadística inferencial para la comprobación de hipótesis mediante la prueba t de Student por tratarse de un estudio experimental.

#### **4.5 Aspectos Éticos**

Se hace cumplimiento irrestricto al código de ética mediante el decálogo del investigador científico de la Universidad Alas Peruanas aprobado con resolución N° 1748-2016-R-UAP.

## CAPITULO V

### ANALISIS Y DISCUSIÓN

#### 5.1. Análisis Descriptivo:

Tabla N°1

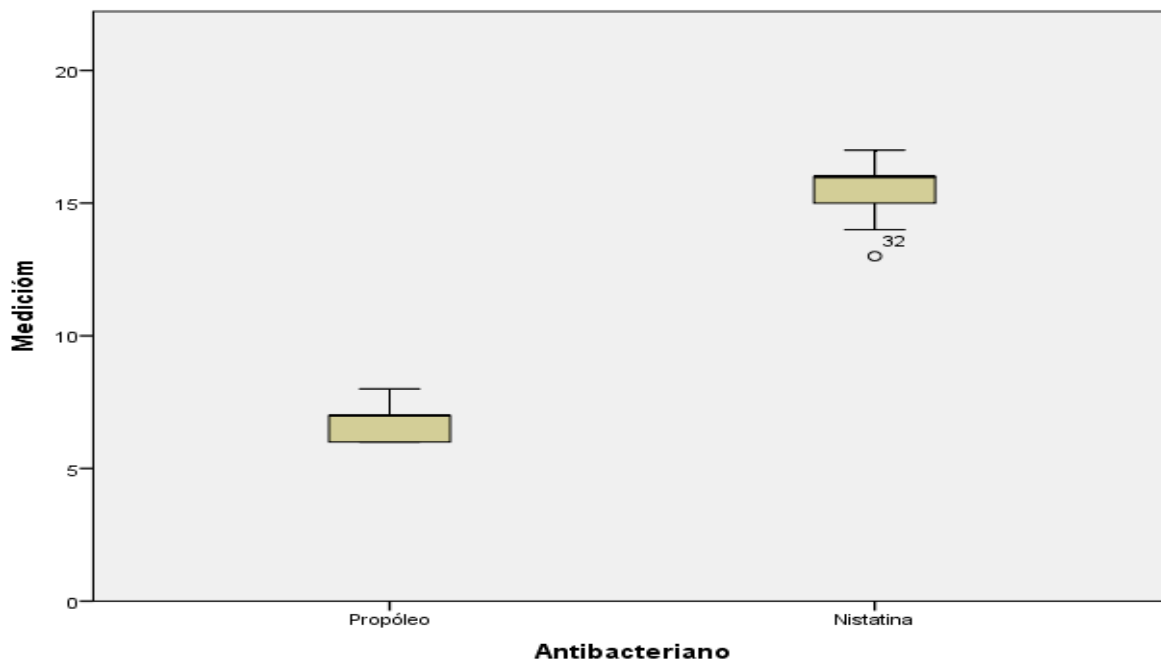
Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *cándida albicans* con extracto etanólico de propóleo y nistatina, Juliaca - 2018

	Propóleo	Nistatina
N	30	30
Mínimo	6	13
Máximo	8	17
Media	6.67	15.63
Desviación estándar	0.71	0.85

**Fuente:** matriz de datos

## Gráfico N°1

Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo y nistatina, Juliaca - 2018



**Interpretación y análisis:** en la tabla N°1 y gráfico N°1, en la muestra estudiada, se puede observar que el extracto etanólico de propóleo presentó una inhibición de crecimiento promedio de 6.67mm, con una desviación estándar de 0.71mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 6mm y el máximo de 8mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 15.63mm, con una desviación estándar de 0.85mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 13mm y el máximo de 17mm.



**Tabla N°2**

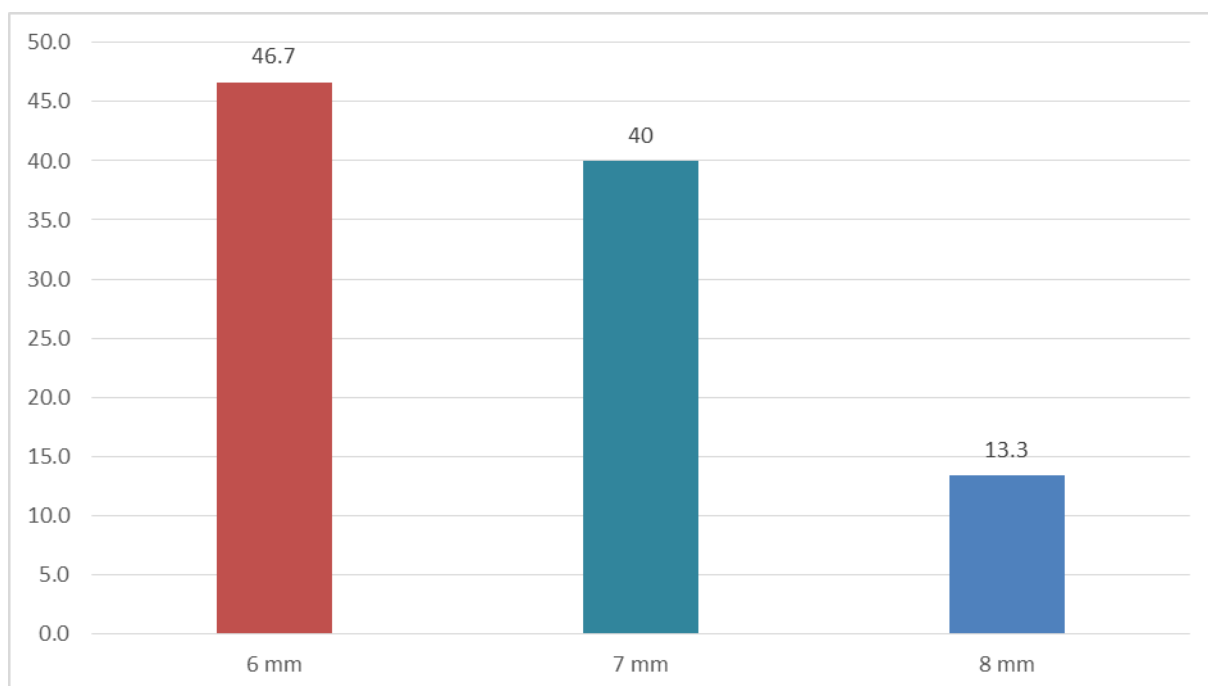
**Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo, Juliaca - 2018**

	N	%
6 mm	14	46.7
7 mm	12	40
8 mm	4	13.3
Total	30	100

**Fuente:** matriz de datos

**Gráfico N°2**

**Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto etanólico de propóleo, Juliaca - 2018**



**Interpretación y análisis:** En la tabla N°2 y gráfico N°2, en la muestra estudiada, se puede observar que el extracto etanólico de propóleo presentó un halo de inhibición de 6 mm en 46.7%, 7 mm en 40% y 8 mm en 13.3%, de todas las muestras estudiadas.

**Tabla N°3**

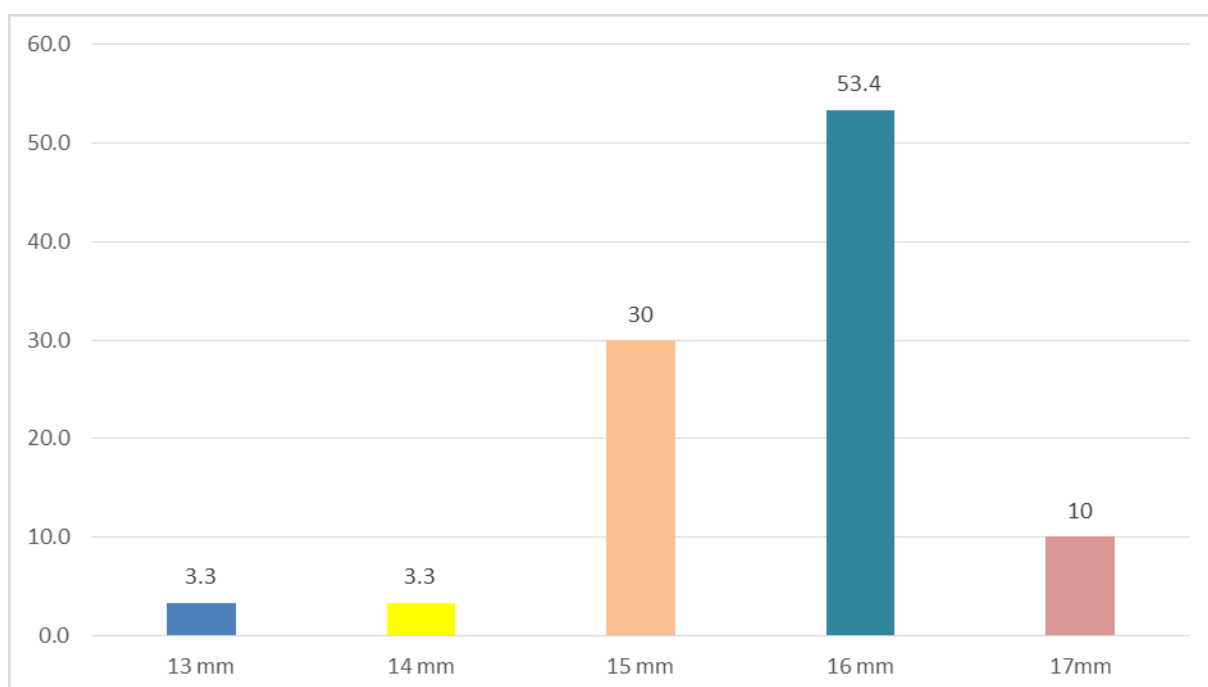
**Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *cándida albicans* con nistatina, Juliaca - 2018**

	N	%
13 mm	1	3.3
14 mm	1	3.3
15 mm	9	30
16 mm	16	53.4
17mm	3	10
Total	30	100

**Fuente:** matriz de datos

**Gráfico N°3**

**Inhibición del crecimiento *in vitro* en muestras de *cándida albicans* con nistatina, Juliaca 2018**



**Interpretación y análisis:** En la tabla N°3 y gráfico N°3, en la muestra estudiada, se puede observar que la nistatina 100 000UI/ml presentó un halo de inhibición de 13 mm en 3.3%, 14 mm en 3.3%, 15 mm en 30%, 16 mm en 53.4% y 17 mm en 10%, de todas las muestras estudiadas.

## 5.2. Comprobación de hipótesis

### PRUEBA DE HIPOTESIS GENERAL MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE t de STUDENT

#### Planteamiento de hipótesis estadística:

##### 1. Hipótesis general

Ho: Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *cándida albicans*, Juliaca 2018, no existe diferencia significativa

Hi: Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa

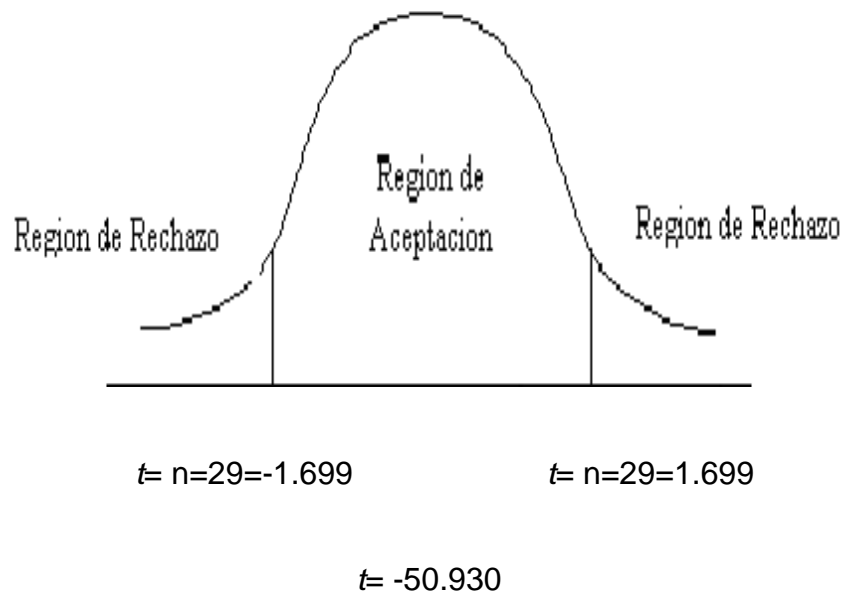
##### 2. Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

##### 3. Estadística de prueba

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

#### 4. Regla de Decisión.



Como la  $t = -50.930$ , esta cae en la zona de rechazo para la  $H_0$ , por lo que se acepta la  $H_1$ .

- 5. Conclusión:** Al determinar el p-valor= 0.000, y un nivel de significancia del 0.05 y con una probabilidad de error del 0.0%; Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico in vitro en muestras de *cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.

#### 5.3. Discusión

El estudio de productos apícolas con fines terapéuticos en Odontología se ha incrementado en la actualidad, en su mayoría destinados a controlar o eliminar un agente causal de la candidiasis bucal (muget) la *Cándida albicans* como el primer agente causal de esta lesión.

El propóleo es una sustancia compleja constituida por una gran variedad de compuestos químicos, su composición no es estable y varía según la fuente de procedencia. Además una de las propiedades más importantes del propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides.

Existen diversos métodos que permiten evaluar el efecto antibacteriano de los extractos naturales. El más utilizado es la técnica “difusión de disco en agar” descrito por diversos autores como Mayta y col. en el (2009) los cuales evaluaron la actividad antibacteriana mediante el uso de discos de papel whatman, embebidos con el extracto etanólico de propóleo, sobre la superficie microbiana, para luego medir los halos de inhibición.

Se concuerda con Ramirez T. (2016) al obtener efecto inhibitorio de concentración de extracto etanólico de propoleo. Por De la Cruz (2013), donde indicó que a mayor concentración del extracto etanólico de Propóleo existe mejor actividad antimicótica sobre el crecimiento in vitro de *Cándida albicans* coincidiendo con los resultados del presente estudio al 80% pero no superior al medicamento sintético Nistatina de 100 000 UI/ml utilizado como referencia en ambos casos. Todas con menor efecto que la Nistatina. Se está de acuerdo con el estudio de Jara R. (2014). Al encontrar efecto antibacteriano de cuatro marcas comerciales de propóleo y El extracto etanólico de Propóleo elaborado en el laboratorio tengan actividad antibacteriana frente a variadas cepas de microorganismos.

Se discrepa con Ramírez T (2016); De la Cruz (2013) en las concentraciones de extracto etanolico de propóleo ya que estos tuvieron medidas mayores (promedio de 9 mm y 11 mm correspondientemente) a concentraciones menores ( 25% y 50% correspondientemente) a la presente investigación, que podemos excusar a

un factor determinante para estas diferencias de concentración alcohólica de efecto de esta investigación con la Ramirez y De la Cruz, posiblemente sea el lugar donde se extrajo el propóleo por variación en la composición.

Se debe tener en cuenta lo expuesto por castro (2016), Gil (2015) y Del Rio (2006) Que las diferentes concentraciones del extracto etanólico de propoleo, el lugar de obtención de este componente y el microorganismo objetivo a quien está dirigido, son de mucha importancia ya que los resultados esperados puedan variar.

## CONCLUSIONES

- Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15.63 mm en el grupo control, Nistatina 100 000 UI/ml después de la intervención
- se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 6.67 mm en el grupo del Extracto etanólico de propóleo al 80%

## RECOMENDACIONES

- Se Recomienda realizar nuevas investigaciones con productos de propóleo de otras regiones del Perú donde se pueda encontrar este producto



- Se recomienda aumentar la concentración de extracto etanolico en nuevos estudios.
- Profundizar en el análisis en un agente fúngico específico.
- Incentivar a la población universitaria a desarrollar estudios con productos naturales.
- Difundir los alcances de la investigación a fin de que se considere en las infecciones fúngicas bucales que se presenten en la consulta del profesional.

## FUENTES DE INFORMACION

1. Ceccotti E. Micosis bucales. Clínica estomatológica SIDA, cáncer y otras afecciones. Buenos Aires: Panamericana; 1993:162-4.
2. Castro C, Efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo al 10%,20% y 40% sobre bloques de resina acrílica contaminados con *Candida albicans*; estudio in vitro. Universidad Central de Ecuador; 2016
3. Gil M, Joya M. Efecto fungistático y fungicida del extracto etanólico de propóleos sobre especies de *Candida*, 2015: Universidad de Carabobo Venezuela 2015.
4. Del Rio P, Actividad Biocida de un propolis Chileno frente a *Porphyromonas gingivales* [ pre-grado] Chile: Universidad de Chile 2006, 98-99
5. Principal j, Thaís N, Barrios C. actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo sobre una cepa clínica de *Staphylococcus aureus*. Rev. Gaceta de ciencias veterinarias. 2005,11:1.
6. Lozina L, Boehringer S, Teibler, P, Acosta de Pérez O. Acción del propóleos sobre una levadura (*Malassezia pachydermatis*) aislada a partir de otitis externa canina. Rev. Vet. 2005,16 (1): 32–35.
7. Chugden K, Vergara K. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleos de Cajamarca frente a colonias de *porphyromonas ginigivalis* (ATCC 33277) *in vitro*. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018
8. Jara P, Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de cinco propóleos peruanos sobre cepas de *streptococcus mutans* (atcc 25175) y

- streptococcus sanguinis (atcc 10556) de Lima –Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2014
9. De la Cruz L, Enrrique M. Actividad Antimicótica Del Extracto Etanólico De propoleo Sobre El Crecimiento In Vitro De Candida Albicans. Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
  10. Ramirez T, Vilcapaza M. Efecto inhibitorio del extracto etanólico de Propóleo sobre los microorganismos de Streptococcus mutans y Cándida albicans que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos de la clínica Odontológica de la UNA – Puno, 2016.
  11. Philips J. Patología Oral y maxilo-facial contemporánea. Ed. Madrid: Harcourt Brae de España S.A. 1998; 7:228
  12. Fredenthal M. Diccionario de Odontología. 2 Ed. Buenos Aires (AR): Medica panamericana 2003; 1:228.
  13. Lynch M, Brightman V, Greenberg M. Medicina Bucal de Burket. 9 Ed. Mexico: Mc Graw – Hill Interamericana Editores, S.A. 1996; 3:60-73.
  14. OMS. Formulario Modelo de la OMS 2004. Anti-infecciosos: Antifúngicos 2004: 134 – 137.
  15. Martindale. The Complete Drug Reference. Nystatin. [Online]. March 15, [2005] [1] disponible en: URL <http://www.medicinescomplete.com>.
  16. Hopkins J. Antibiotic Guide: Antibiotics: Nystatin. Last updated POC-IT [Points Of Care – Information Technology] 2004 Nov. [1] disponible en: URL: <http://hopkins-abxguide.org> en marzo 2005
  17. British Medical Association and Royal Pharmaceutical of Great Britain British National Formulary. Nystatin. 48 editions; 2004 [online] [1]. Con acceso en <http://www.bnf.org>.

18. Gotzsche P, Johansen K. Nystatin prophylaxis and treatment in severely immunodepressed patients. 2 Ed. In The Cochrane Library; 2004.
19. Thomson – Micromedex. USP-DI. Drug Information for the Health Care Professional. Nystatin (oral – topical – vaginal). 2004; 124-125.
20. Moreno N, Isla M, Cudmani N, Vattuone M, Sampietro A. Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle Tucumán, Argentina propolis; *Ethnopharmacol* 2003; 68: 97-102.
21. Amoros M, Simoes C, Girre L, Sauvager M. Sinergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type I in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products* 1992; 55: (12) 1732-1740.
22. Bankova V, Popova M, Bogdanov S, Sabatini A. Chemical composition of European Propolis : Expected and Unexpected Results. *Z. Naturforsch* 2002; 57: 530-533.
23. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine *Fitoterapia* 2002; 73 (1): 1–6.
24. García L, García V, Rojo D, Sánchez E. Plantas con propiedades antioxidantes. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2001; 20(3):231-35.
25. Farré R, Fransquet I, Sánchez A. El própolis y La salud. *Ars Pharmaceutica* 2004; 45 (1):21-43.
26. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev. Cubana Invest Biomed.* 2003; 22(1):48-57
27. Marchand L. Dossier: Polyphenols: diversity and bioavailability. “Cáncer preventive effects of flavonoids—a review”. *Biomed Pharmacother* 2002; 56(2): 296–301

28. Pelayo C. Las frutas y hortalizas como alimentos funcionales 2003; 47(1): 12-19.
29. Sánchez R. Cáncer. Enciclopedia Microsoft Encarta. Lima; 2001
30. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 4 Ed. México (MX): Mc Graw-Hill Interamericana 2006; 8:240-1.

## ANEXOS

### Anexo 01

#### CARTA DE PRESENTACIÓN

Juliaca, 30 de Octubre 2018

Señor Doctor

**Juan Gualberto Trelles Yenque**

Decano de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud  
Universidad Alas Peruanas

**Asunto: Carta presentación del proyecto titulado "EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO Y NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* EN MUESTRAS DE *Cándida Albicans*, JULIACA 2018"**

Respetado Doctor Trelles.

Mediante la presente presento mi trabajo de Investigación para su Aprobación e Inscripción y Autorización de Ejecución del Desarrollo de Tesis.

Para lo cual me comprometo a:

1. Realizar la investigación en el tiempo estipulado en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad, así como cumplir con la entrega de los informes de avance (parcial y final) para su revisión por el comité evaluador.
2. Autorizar la publicación del producto o procesos de investigación/creación terminados, en espacios pertinentes para su valoración, así como en el Repositorio de la Universidad.
3. Anexar a esta investigación el acta o las cartas de participación de las instituciones vinculadas al proyecto.
4. Cumplir con las consideraciones Éticas de Helsinki y Nüremberg, así como garantizar las normas éticas exigidas por la aplicación de formatos de Consentimiento y/o Asentimiento Informado que requiera la investigación.

Además declaro:

1. Que es un trabajo de investigación es original.
2. Que son titulares exclusivos de los derechos patrimoniales y morales de autor.
3. Que los derechos sobre el manuscrito se encuentran libres de embargo, gravámenes, limitaciones o condiciones (resolutorias o de cualquier otro tipo), así como de cualquier circunstancia que afecte la libre disposición de los mismos.
4. Que no ha sido previamente publicado en otro medio.
5. Que no ha sido remitido simultáneamente a otra publicación.
6. Que todos los colaboradores han contribuido intelectualmente en su elaboración.

Cordialmente.

**Henry Roberts Machaca Copari**

**Cod. 2011220917**

**Facultad MHyCS**

**EP. De Estomatología**



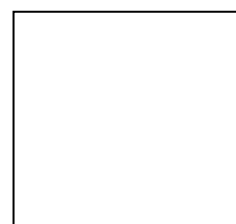
**Anexo 03**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE**

Yo,.....

identificado con DNI N°.....doy mi consentimiento, para participar en el trabajo de investigación que titula **“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPOLEO PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO FUNGICO EN MUESTRAS DE CANDIDA ALBICANS. JULIACA 2018”** donde acepto que se me tome una muestra de mi boca ya que se me ha referido que ello no comprometerá para nada en el estado actual de mi salud, además he realizado las preguntas que consideré oportunas, y el interesado me ha dado respuestas aceptables en la investigación anteriormente descrita. Nombre y Firma (o huella digital):



Firma: \_\_\_\_\_ Fecha\_\_\_\_\_



**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS N°1**

<b>Ficha de recolección de Datos de muestra</b>		
<b>1. Lugar de obtención de la muestra: .....</b>		
<b>A. tinción GRAM:</b>		
Presencia de levadura	positivo ( )	negativo ( )
<b>2. Observación al microscopio:</b>		
Cándida albicans:	positivo ( )	negativo ( )
<b>3. cultivo de la muestra</b>		
	Crecimiento ( )	no crecimiento ( )
<b>4. numero de colonias</b>	MC Farland	0.5

## Anexo 05

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS N°2 MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION EN PLACA PETRY

Siembra de <i>Cándida albicans</i>	Extracto etanólico de propóleo 80%	Control Positivo Nistatina 100 000UI/ml
Cultivo N° 01	7	14
Cultivo N° 02	6	13
Cultivo N° 03	6	16
Cultivo N° 04	7	16
Cultivo N° 05	6	15
Cultivo N° 06	6	16
Cultivo N° 07	6	15
Cultivo N° 08	6	15
Cultivo N° 09	7	15
Cultivo N° 10	7	17
Cultivo N° 11	7	16
Cultivo N° 12	7	16
Cultivo N° 13	7	15
Cultivo N° 14	7	16
Cultivo N° 15	7	17
Cultivo N° 16	6	16
Cultivo N° 17	6	15
Cultivo N° 18	6	16
Cultivo N° 19	8	16
Cultivo N° 20	8	16
Cultivo N° 21	6	15
Cultivo N° 22	8	16
Cultivo N° 23	6	17
Cultivo N° 24	7	16
Cultivo N° 25	7	15
Cultivo N° 26	6	16
Cultivo N° 27	6	15
Cultivo N° 28	8	16
Cultivo N° 29	6	16
Cultivo N° 30	7	16

Anexo 06

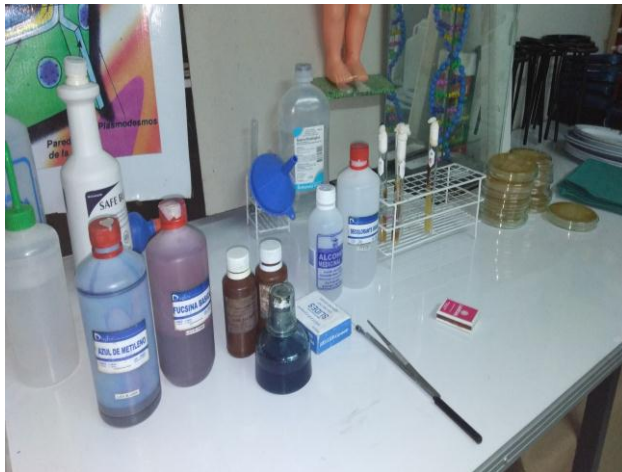
REGISTRO FOTOGRAFICO



Procesamiento de Propoleo



Toma de muestra



Materiales utilizados para muestra de *Cándida albicans*



Tinción con azul de metileno de *Cándida albicans*



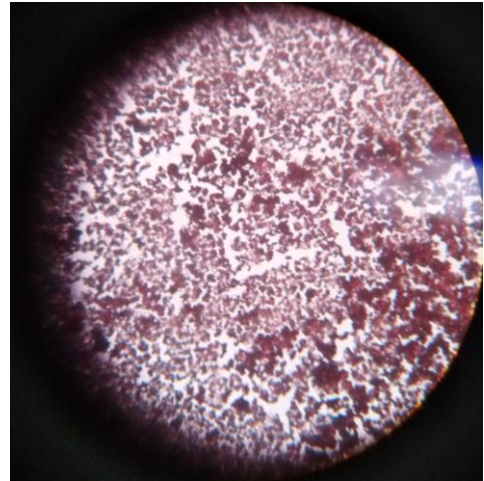
Fijación con lugol



Lavado con agua destilada y secado



Observación microscopio



Muestra de *Cándida albicans* con tinción



Materiales para cultivo



Pesaje de Agar de saboraud



Preparación del agar de saboraud



Ebullición del caldo de cultivo



Esterilización del caldo de cultivo



Repartición del caldo de cultivo



Obtención del cultivo y preparación según Turbidez de Mc Farland 0.5



Marcado de las placa petry



Cultivo de *cándida albicans*



Impregnación de solución de Nistatina y Propoleo en discos tipo Whatman



Llevados a incubadora



Formación de del halo inhibitorio



Medición regla pie de rey de propóleo



Medición regla pie de rey de Nistatina

Anexo 07

**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**“EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPOLEO Y NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* EN MUESTRAS DE *CANDIDA ALBICANS*. JULIACA - 2018”**

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores	Diseño de la investigación	Método	Población y muestra de estudio
<p><b>Problema general</b></p> <p>¿Cuál será el resultado de la evaluación del extracto etanólico de Propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida albicans</i>, Juliaca 2018?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo control después de la intervención?</li> <li>• ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del Extracto Etanólico de propóleo después de la intervención?</li> </ul>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida albicans</i> Juliaca 2018</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la inhibición del crecimiento fúngico del grupo control después de la intervención</li> <li>• Determinar la inhibición del crecimiento fúngico del grupo del extracto etanólico de propóleo después de la intervención</li> </ul>	<p><b>Hipótesis principal</b></p> <p>Al evaluar el extracto etanólico de propóleo y nistatina para inhibir el crecimiento <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida albicans</i>, 2018, existe diferencias significativas.</p> <p><b>Hipótesis derivadas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Se presenta inhibición de crecimiento fúngico de 15mm grupo control, nistatina 100 000U/ml después de la intervención</li> <li>* Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 10 mm en el grupo del extracto etanólico de propóleo después de la intervención</li> </ul>	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto etanólico de propóleo</p> <p><b>Indicador:</b> solución líquida</p> <hr/> <p><b>Variable independiente</b></p> <p>Nistatina de 100 000 U/l</p> <p><b>Indicador:</b> solución líquida</p> <hr/> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Inhibición fúngica</p> <p><b>Indicador:</b> formación del halo inhibitorio</p>	<p>Tipo cuantitativo</p> <p>Nivel investigativo es aplicativo</p> <p>Tipo de estudio según la secuencia y periodo de estudio es transversal, según el tiempo de ocurrencia de los hechos es prospectivo; el diseño según la intervención del investigador es experimental.</p>	<p><b>Método:</b></p> <p>Deductivo</p> <p>Análítico</p> <p><b>Técnica:</b></p> <p>Observación y medición</p> <p><b>Muestreo:</b></p> <p>No probabilístico consecutivo</p> <p>De procesamiento</p> <p>t Student</p>	<p>Muestras por conveniencia</p> <p>La selección de la muestra se hizo por muestreo no probabilístico consecutivo que cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos; con un tamaño de muestra de n=30 placas Petry.</p>