



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

**Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de propóleo del
Cusco sobre *Candida albicans* ATCC 10231**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR:

Medina Oncoy, Alexander Nneil (ORCID: 0000-0002-3745-0350)

ASESORA:

Ms. Donayre Escriba, Julieta Emperatriz (ORCID: 0000-0001-6876-7804)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

PIURA – PERÚ

2021

Dedicatoria

A mi familia, ya que gracias a ellos estoy cumpliendo una meta más, por toda la confianza, el apoyo brindado y el sacrificio, gracias.

Agradecimiento

A la Universidad César Vallejo por darme la oportunidad de realizar este trabajo, a mi asesora que siempre estuvo pendiente en apoyarme con todas las consultas, a todos los doctores que me brindaron su ayuda y tiempo y gracias a ellos fue posible la culminación de esta investigación.

Índice de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	10
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	10
3.2. Variables y operacionalización	10
3.3. Población, muestra y muestreo	10
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	10
3.5. Procedimientos	11
3.6. Método de análisis de datos	13
3.7. Aspectos éticos.....	13
IV. RESULTADOS	14
V. DISCUSIÓN.....	17
VI. CONCLUSIONES.....	21
VII. RECOMENDACIONES	22
REFERENCIAS.....	23
ANEXOS	31
ANEXO 1	31
ANEXO 2	32
ANEXO 3	33
ANEXO 4	34

ANEXO 5	40
ANEXO 6	36
ANEXO 7	38
ANEXO 8	39
ANEXO 9	40

Índice de tablas

Tabla 1. Efecto antifúngico in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco y del control Nistatina sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	14
Tabla 2. Comparación del efecto antifúngico de las concentraciones 25 mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control positivo Nistatina	15
Tabla 3. Comparación del efecto antifúngico de las concentraciones de 25 mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control negativo	16

Resumen

El objetivo fue determinar el efecto antifúngico in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco sobre la *Candida albicans* ATCC 10231. Investigación básica de diseño experimental puro. El efecto antifúngico se determinó por el método de difusión en disco. El propóleo utilizado se recolectó de la zona de Poroy y se evaluaron las concentraciones de 5, 15, 25 y 50 mg/mL. El control positivo fue Nistatina 100 000 UI/ml y el control negativo solución salina estéril. Los resultados obtenidos muestran para el propóleo de 5mg/ml un halo de inhibición de 9.49mm, para el de 15mg/ml un halo de inhibición de 11.31mm, para 25 mg/ml un halo de inhibición 15.02mm, para 50mg/ml un halo de inhibición de 18.51mm, el control positivo obtuvo un halo de 17 mm; al comparar el efecto de la concentración de 25 mg/ml y 50mg/ml con el control positivo, se obtuvo diferencia estadísticamente significativa para la concentración de 50mg/ml sobre el control positivo ($p=0.000$). En conclusión, el extracto etanólico de propóleo tiene efecto antifúngico sobre la *Candida albicans* ATCC 10231 en todas las concentraciones evaluadas, pero en la concentración de 50 mg/ml tiene un efecto altamente significativo en relación al control positivo.

Palabras claves: *Candida albicans*, Própolis, antifúngicos

Abstract

The objective was to determine the in vitro antifungal effect of different concentrations of the ethanolic extract of propolis from Cusco on *Candida albicans* ATCC 10231. Basic research of pure experimental design. The antifungal effect was determined by the disc diffusion method. The propolis used was collected from the Poroy area and concentrations of 5, 15, 25 and 50 mg/mL were evaluated. The positive control was Nystatin 100 000 UI/ml and the negative control sterile saline solution. The results obtained show for 5mg/ml propolis an inhibition halo of 9.49mm, for 15mg/ml an inhibition halo of 11.31mm, for 25 mg/ml an inhibition halo 15.02mm, for 50mg/ml an inhibition halo of 18. 51mm, the positive control obtained a halo of 17 mm; when comparing the effect of the concentration of 25 mg/ml and 50mg/ml with the positive control, a statistically significant difference was obtained for the concentration of 50mg/ml over the positive control ($p=0.000$). In conclusion, the ethanolic extract of propolis has an antifungal effect on *Candida albicans* ATCC 10231 in all the concentrations evaluated, but in the concentration of 50 mg/ml it has a highly significant effect in relation to the positive control.

Keywords: *Candida albicans*, Propolis, antifungals agents.

I. INTRODUCCIÓN

Las especies de *Candida*, son parte de la microbiota normal del ser humano, se encuentran en el tracto orofaríngeo, esofágico, gastrointestinal y vagina; su invasión ocurre en presencia de cáncer, enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus, terapia inmunosupresora y terapia antibiótica de amplio espectro.¹

La candidiasis oral es una enfermedad infecciosa oportunista que afecta la lengua y otras partes de la mucosa oral. El 95% de los casos es causado por la *Candida albicans*, cuya implicancia clínica reside en su capacidad de formar biofilm en cualquier superficie²; ciertos factores predisponen su desarrollo como el bajo fluido salival, consumo de inmunosupresores, antibióticos, uso de prótesis, entre otros.³ Algunos estudios asocian a la *Candida* con la transformación a lesiones malignas, por la producción de nitrosaminas, responsables de estos cambios.⁴

Debido a que con la edad puede darse la pérdida de dientes, alteraciones en el reborde óseo y disminución de la producción salival⁵, las lesiones en la mucosa oral en la mayoría de los casos se deben al contacto con la aparatología protésica, estimándose que el 95% de los adultos mayores las presentan.⁶

Un informe de los años 2009 y 2010 del Hospital Almenara en Perú, indica que la *Candida* fue el organismo más frecuente aislado en cultivos de sangre de pacientes de las Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), y en los años 2012 a 2014 fue el segundo más común después del *Estafilococos coagulasa negativa*, reportado también en otros países de América Latina como Argentina, Brasil, Colombia, México, Perú; sin embargo, las incidencias de complicaciones infecciosas debido a *Candida* en las UCI eran mayores a los de países del hemisferio norte y Estados Unidos.⁷

En el Perú el Instituto Nacional de Salud (INS) ha estandarizado la medición de susceptibilidad de los fármacos para determinar la resistencia antifúngica tomando como referencia al Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) para la medición de susceptibilidad mediante el método de difusión en disco para el fluconazol y voriconazol contra la *Candida*; tanto el CLSI y el Comité Europeo de Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) han establecido puntos de corte clínicos, parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, mecanismos de resistencia y respuesta clínica. Estos parámetros son revisados continuamente

debido a la aparición de nuevos fármacos y mecanismos de resistencia antifúngica que evolucionan constantemente.⁸

Las infecciones por *Candida albicans* son tratados con agentes antifúngicos en conjunto con la eliminación del agente causal, como instaurar buenos hábitos de higiene oral, y en caso de que el paciente sea portador de prótesis, se indica la limpieza y la remoción de la prótesis por las noches.⁹

Según la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) los medicamentos indicados para el tratamiento de *Candidiasis* son los polienos, triazoles, equinocandinas y la flucitosina.¹⁰ A pesar del uso de estos medicamentos se ha observado una disminución de su efectividad debido a la resistencia farmacológica.¹¹ A su vez, el incremento de pacientes inmunodeprimidos y la aparición de nuevos virus pueden afectar el sistema inmune, siendo la *Candida albicans* el principal agente en causar infecciones.¹²⁻¹⁴

Continuamente se buscan otras soluciones para atender las afecciones causadas por *Candida albicans* como el uso de productos naturales, tal es el caso del propóleo, resina obtenida de los árboles por medio de las abejas, con precio accesible y debido a la presencia de flavonoides, ácido benzoico y ácido cafeico posee propiedades antioxidantes, antibacterianas, antivirales, antifúngicas, cicatrizantes, anestésicas, etc. Los factores como el clima, la región, la flora, las abejas, entre otros, influyen en las propiedades del propóleo. En cuanto a la región, por ejemplo, el propóleo obtenido de Brasil de la planta *Baccharis draculifolia* (chilca) o la obtenida de Chile de la planta *Baccharis linearis* (romerillo), son muy diferentes por las cantidades de flavonoides, ácido benzoico y ácido cafeico que contienen en su composición.¹⁵⁻¹⁷

Por lo expuesto se plantea el siguiente problema de investigación ¿Cuál es el efecto antifúngico in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco sobre la *Candida albicans* ATCC 10231?

Debido a la presencia de *Candida albicans* en varias afecciones de la salud y de su cierta resistencia frente a los fármacos para su tratamiento, es necesario buscar alternativas para solucionar estos problemas sin causar algún efecto secundario; gran parte de los estudios sobre el propóleo fueron realizados en países como Brasil, Turquía, India, Iraq entre otros.

En el Perú, en la zona de Cusco no se encontraron estudios referentes al propóleo, siendo esta región variada debido a sus diferentes ecosistemas.¹⁸ Debido a ello se podría encontrar propóleo con mejores resultados en las propiedades antifúngicas, creando un camino a los nuevos productos a base del propóleo con el fin de contribuir al avance científico.

El objetivo general planteado es determinar el efecto antifúngico in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco y del control Nistatina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.

Los objetivos específicos son comparar el efecto antifúngico de las concentraciones de 25mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control positivo Nistatina. Comparar el efecto antifúngico de las concentraciones de 25mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control negativo.

La hipótesis planteada es que el extracto etanólico del propóleo del Cusco a mayor concentración tiene un mayor efecto antifúngico sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.

II. MARCO TEÓRICO

Arslan M, et al.¹⁹ 2021 en Turquía; tuvieron como objetivo comparar las propiedades del extracto etanólico del propóleo *Apis mellifera* obtenida de las provincias de Ardahan y Erzurum. Se determinó el potencial anticancerígeno, antibacteriano y antifúngico del extracto etanólico del propóleo en la concentración de 20 mg/ml. El efecto antibacteriano se probó sobre *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* en medio de cultivo de Mueller-Hinton y el efecto antifúngico sobre *Yarrowia lipolytica* y *Candida albicans* en Agar dextrosa Sabouraud al 2% mediante el método de difusión en disco. Los controles positivos fueron Gentamicina, Ampicilina, Eritromicina y Penicilina. Los resultados muestran que ambos propóleos tienen actividad antibacteriana contra los microorganismos probados, excepto contra la *P. aeruginosa* en que ninguno mostró actividad antibacteriana, y al evaluar la actividad antifúngica contra la *Cándida albicans* y *Yarrowia lipolytica* los propóleos no ejercieron ninguna actividad sobre ellas. Concluyeron que las dos muestras de propóleo tienen composición diferente y que el alto contenido de azúcar, flavonoides y compuestos fenólicos contribuyen a sus propiedades antibacterianas.

Al Bratty M, et al.²⁰ 2020 en Arabia Saudita tuvieron como objetivo determinar la composición química del extracto etanólico del propóleo de la región de Jazan y su actividad antibacteriana y antifúngica. La concentración del extracto fue de 10 µg/ml probado sobre *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Micrococcus flavus*, *Enterococcus Faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritides*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumiga*, *Alternaria alternaria*, *Cladosporium herbarum* y *Fusarium oxysporum*. Para determinar la actividad antibacteriana y antifúngica se utilizaron los medios de cultivo Mueller-Hinton y Agar dextrosa Sabouraud respectivamente, con el método de difusión en disco; el control positivo fue Gentamicina para las bacterias y Anfotericina B para los hongos. Se encontraron los mayores halos de inhibición contra *Micrococcus flavus* con 30.6 ± 0.11 mm y para el *Staphylococcus aureus* 29.4 ± 0.16 mm; con la *Candida albicans* se obtuvo 17.5 ± 0.28 mm de halo de inhibición. Concluyeron que el extracto etanólico de propóleo tiene mayor actividad antibacteriana que efecto antifúngico.

Okińczyc P, et al.²¹ 2020 en Nepal. Tuvieron como objetivo identificar la actividad antimicrobiana y la composición química de los extractos etanólicos de propóleo nepalí de dos géneros de abejas *Apis mellifera* - *Tierra trigona*. La propiedad antibacteriana se probó frente a *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shingella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori*; y la actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cándida Krusei*, *Cándida tropicalis* y *Saccharomyces cerevisiae*, con el método de difusión en disco. Se encontró que ambos propóleos tenían casi la misma propiedad antibacteriana; con respecto a la *Candida albicans* el propóleo *Apis mellifera* obtuvo un halo de inhibición de 14 ± 0.33 mm y el *Tierra trigona* un halo de 10 ± 0.33 mm. Se concluye que los propóleos son potentes agentes antibacterianos e impiden la filamentación de la *Candida albicans*.

Bezerra FCR, et al.²² 2020 en Brasil. Con el objetivo de determinar el efecto del extracto de propóleo verde sobre la adhesión y formación de biopelículas de *Candida albicans*, *C. tropicales* y *C parapsilosis* en materiales de odontología. El extracto de propóleo se preparó en concentraciones de 0.25 µg/ml, 2.5 µg/ml, 25 µg/ml y 250 µg/ml para evaluar su acción con el método de difusión de disco. El control positivo fue la Anfotericina B. Obteniendo los halos de inhibición para 0.25 µg/ml de 5 mm, 2.5 µg/ml de 15.2 mm, 25 µg/ml de 17.3 mm, 250 µg/ml de 20.1 mm y el control positivo de 25 mm. Se concluye que el extracto etanólico de propóleo verde mostró actividad antifúngica, antiadherente y antibiofilm en la concentración de 2.5 µg/ml.

Degirmencioglu HT, et al.²³ 2019 en Turquía. Cuyo objetivo fue identificar la composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana de propóleos de diferentes regiones de Turquía frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Se usó el método de difusión en disco con Agar Sabouraud, para el extracto de propóleo se realizó la concentración de 1024 µg/ml. Para el efecto antibacteriano se usó como control positivo el Ofloxacino y para el efecto antifúngico la Nistatina. La actividad antibacteriana fue similar entre los propóleos con halos de inhibición entre 8 a 10 mm; para la *Candida albicans* el mayor halo de inhibición encontrado fue 12 mm, estando los propóleos

evaluados entre 9 a 11 mm. Concluyen que los extractos de propóleo tienen actividad antimicrobiana.

Ramón-Sierra J, et al.²⁴ 2019 en México. tuvieron como objetivo determinar la actividad antioxidante y antifúngica del extracto etanólico de dos tipos de abejas *Melipona beechei* y *Apis mellifera* de Yucatán México. Las concentraciones de los extractos obtenidos estuvieron en el rango de 1 a 15 µg/ml para evaluar la actividad antifúngica frente *Candida albicans* ATCC 10231 con el método de difusión en disco, cuyo control positivo fue 1.35 µg de Nistatina. El extracto etanólico del propóleo de *Melipona beechei* logró un halo de inhibición de 21.12 mm y el *Apis mellifera* un halo de 16.16 mm. Concluyen que los propóleos evaluados tienen actividad antioxidante y el propóleo *Melipona beechei* tiene mayor actividad antifúngica que el *Apis mellifera*.

Sowmya S, et al.²⁵ 2019 en la India. El objetivo fue determinar la eficacia del propóleo de la región de Sullia contra cuatro microorganismos *S.aureus*, *S mutans*, *Candida albicans* y *A. actinomycetemcomitans*. Se usó el método de difusión en disco en placas de Agar Sabouraud, con concentraciones del propóleo de 1 mg, 0.5 mg, 0.25 mg, 0.12 mg, 0.062 mg. Las zonas de inhibición para la *Candida albicans* fue 23 mm para la concentración de 1 mg, 20 mm para la de 0.5 mg, 18 mm para la de 0.25 mg, 17 mm para la de 0.12 mg, 16 mm para la concentración de 0.062. Concluyeron que el propóleo tiene actividad antioxidante y antimicrobiana favorable.

Balboa N, et al.²⁶ 2018 en Chile. Tuvieron como objetivo determinar las propiedades antimicrobianas del extracto etanólico de un propóleo de la región Bio-Bío sobre *S.aureus*, *E.coli*, *C. albicans*, *T. rubrum* y en muestras clínicas. Se obtuvieron concentraciones de 1000, 2000, 3000 y 4000 µg/ml; la evaluación se realizó con el método de difusión en disco. Los resultados indican que no hubo crecimiento para *C. albicans* en las concentraciones probadas. Concluyen que el propóleo tiene actividad antimicrobiana sobre los microorganismos evaluados excepto *E.coli*.

Al-Daammy AAH, et al.²⁷ el 2015 en Iraq. Se tuvo como objetivo determinar la actividad antifúngica del propóleo contra dermatofitos y levaduras. Se obtuvieron concentraciones de propóleo de 0.5, 1, 5, 10, 15, 20 y 25 mg/ml. El efecto antifúngico se determinó mediante la técnica de difusión en agar, con Nistatina

como control positivo. Los resultados muestran que no hubo zona de inhibición para la concentración de 0.5 mg/ml, en la de 1 mg/ml fue de 1.2 ± 0.0 mm, 5 mg/ml con 9.8 ± 0.19 mm, 10 mg/ml con 12.8 ± 0.41 mm, 15 mg/ml con 14.9 ± 0.21 mm, 20 mg/ml con 17.6 ± 0.7 mm, 24 mg/ml con 22.6 ± 1.9 mm. Concluyeron que el propóleo tiene efecto antifúngico.

La *Candida albicans* es un patógeno oportunista que se encuentra en la flora oral, conjuntiva, gastrointestinal y tracto genitourinario. Es el tercer microorganismo aislado en infecciones sanguíneas de pacientes hospitalizados. Son numerosos los factores que contribuyen a las invasiones fúngicas, entre ellos la población inmunosuprimida, neutropenia, cáncer, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, procedimientos médicos invasivos, ventilación mecánica, nutrición parenteral y uso prolongado de antibióticos.²⁸

La *Candida albicans* posee en su estructura un núcleo, cromosomas, membrana nuclear, mitocondrias, ribosomas, membrana citoplasmática de ergosterol, en la pared celular tiene quitina, mananos y glucanos.²⁹ Se reproduce de manera asexual por gemación, tiene forma oval de 3 a 5 μm , es aerobia, en medio de cultivo crece en Agar Sabouraud en un pH de 5.6 a 7.2 a 37C° de temperatura.²⁹ Tiene una gran capacidad de adherirse al tejido epitelial oral o material protésico, por lo que no puede ser removido con el flujo salival.³⁰ Para que se vuelva patógeno deben confluír factores como hospedador, sistema inmune, virulencia del hongo y los factores que modifican el microambiente de la cavidad oral.³¹

Es la principal causa de candidiasis oral, puede presentarse como candidiasis superficial que afecta la mucosa bucal, labial, paladar duro, paladar blando y lengua. Se caracteriza por formar una pseudomembrana con células epiteliales descamativas y necróticas de color blanquecino, que al ser removido se muestra un fondo sanguinolento. Cuando la candidiasis aparece en la zona dorsal de la lengua se denomina candidiasis eritematosa ya que presenta un aspecto liso, rojo, carnoso por la hipotrofia de papilas filiformes, cuando se presenta en el paladar se manifiesta con una sensación de quemazón.³²

Los factores predisponentes para la candidiasis oral son locales, como la disfunción de las glándulas salivales, uso de prótesis, medicación tópica o inhalación de corticoides, uso excesivo de enjuagatorios orales antimicrobianos, tabaquismo,

dieta, y entre los factores sistémicos están la edad, estado nutricional, consumo prolongado de antibióticos, medicamentos inmunosupresores, desordenes endocrinos, trastornos inmunológicos, radioterapia, quimioterapia y condiciones congénitas.³² Todas las infecciones por *Candida albicans* ocurren por una invasión tisular.³³⁻³⁶ Para su diagnóstico, se realiza un raspado de la zona con un hisopo y mediante tinción con azul de metileno o con tinción de Gram se puede observar al microscopio.^{29,33}

Para prevenir las infecciones por *Candida albicans* se deben instaurar medidas adecuadas de higiene oral, adicionar agentes fúngicos a las medidas de higiene, limpiar las prótesis y si presenta xerostomía administrar sustancias que sustituyan la saliva. Los fármacos para su tratamiento son el fluconazol, anfotericina, nistatina entre otros; sin embargo, para lograr su control se deben eliminar las posibles causas que produzcan alteraciones en la cavidad oral. La nistatina está indicada para la profilaxis y el tratamiento de la candidiasis orofaríngea, en dosis para adultos y niños mayores de 5 años de 200 000 a 400 000 UI de 4 a 5 veces al día o en suspensión oral de 400 000 a 600 000 UI cuatro veces al día durante 14 días; en el caso de los menores de 5 años la suspensión oral será 200 000 UI 4 veces al día; en neonatos y prematuros 100 000 UI en suspensión 4 veces al día.³⁷⁻³⁸

Las reacciones adversas causadas por nistatina son la intolerancia gástrica, con síntomas como náuseas, vómitos, diarreas y en raros casos con reacción alérgica; está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a la nistatina. Otro fármaco indicado es la anfotericina, antifúngico de amplio espectro, cuya dosis sistémica es de 3 a 5 mg/kg por día, en el caso de infecciones por candidiasis invasiva es de 3 mg/kg; entre los efectos secundarios produce náuseas, vómito, cefalea, dolor raquídeo, taquicardia, vasodilatación, exantema.³⁷⁻³⁸

Por otro lado, el propóleo era utilizado por los sacerdotes en el antiguo Egipto como ungüento, crema para embalsamar, entre otros usos. En los escritos de Aristóteles se cita al propóleo como un remedio ideal para golpes y magulladuras, tratamiento de heridas, infecciones, antiinflamatorio, antifúngico y cicatrizante, los griegos lo denominaron propóleo, pro (defensa o delante) y polis (ciudad) “Defensa de la ciudad”. En odontología se ha demostrado que el propóleo inhibe la actividad y

desarrollo del *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguinis* evitando la colonización de microorganismos y la formación de placa.³⁹

El propóleo es una resina de consistencia viscosa elaborada por las abejas, la principal es la *Apis mellifera*, que recolecta las partículas resinosas de los árboles, arbustos, brotes y pecíolos de hojas de vegetales como el sauce, olmo y álamo, produciendo aproximadamente entre 10 – 300 g por colmena anualmente, siendo influenciado por el clima y la flora de la región.⁴⁰ Está compuesto por resina y bálsamos 50%, ceras 30%, aceites esenciales 10%, polen 5%, otros compuestos orgánicos y minerales 5%.^{39,40}

Sus principales componentes son los flavonoides, ácidos fenólicos, ácido ferúlico y ácido cafeico que son tóxicos para los hongos. Los flavonoides son el metabolismo secundario que se da mediante biosíntesis mixta que se obtiene de las plantas verdes.⁴¹⁻⁴³ Se ha demostrado su efecto fúngico en 24 cepas del género *Candida*, con una actividad fungistática y a la vez de fungicida, tiene gran potencial como antiviral debido al ácido ferúlico y ácido cafeico que inhibe a los virus como viruela, influenza aviar, reduce los síntomas locales y es efectivo contra el herpes genital. Además, tiene una actividad inmunoestimulante debido a los flavonoides que ayudan a la secreción de citoquinas las cuales regulan la función de las células; presenta actividad antiinflamatoria y analgésica debido al ácido cafeico, la quercetina y naringenina que suprimen la generación de prostaglandina y leucotrienos.³⁹

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

La investigación es de tipo básica ya que se originó a partir de un marco teórico e incrementa los conocimientos científicos, pero sin contrastarlo con ningún aspecto práctico.⁴⁴

Es de diseño experimental puro, ya que se manipuló la variable independiente, observando su efecto sobre la variable dependiente.⁴⁵

3.2. Variables y operacionalización

Extracto etanólico del propóleo: variable independiente, cuantitativa.

Efecto antifúngico sobre la *Candida albicans*: variable dependiente, cuantitativa.

Operacionalización de las variables (Anexo 1).

3.3. Población, muestra y muestreo

Población: extracto etanólico de propóleo del Cusco y la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

Muestra: 5 ml de suspensión de *Candida albicans* ATCC 10231 en la concentración 1×10^6 UFC según la escala Mac Farland. Para el número de repeticiones se utilizó la fórmula estadística que se usa en investigaciones experimentales (Anexo 2).

Muestreo: probabilístico, aleatorio simple.⁴⁶

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica utilizada fue difusión en disco y siembra por dispersión en superficie siguiendo los protocolos de CLSI que se usa a nivel internacional para garantizar la fiabilidad de los resultados.

Para evaluar la resistencia e inhibición de microorganismos, el instrumento empleado fue la regla vernier con ISO 9001.

Los datos obtenidos se registraron en una ficha de recolección de datos (Anexo 3).

3.5. Procedimientos

Para la ejecución se verificó que el laboratorio cumpla con las normas de bioseguridad, que se encuentre en condiciones óptimas, que tenga los equipos necesarios para garantizar los resultados, con permiso de la DIRESA, cumpliendo todos los estándares para poder ejecutar el trabajo. Se envió una carta de presentación (Anexo 4) y se obtuvo la aprobación y aceptación de uso del laboratorio (Anexo 5).

Adquisición del propóleo: Se adquirió el propóleo de la empresa “El mundo de las abejas”, siendo llevado al laboratorio en un envase estéril fuera de la luz debido a que el propóleo es fotosensible.⁴⁷

Para realizar los procedimientos se contó con la asesoría de un Químico farmacéutico y de un Biólogo (Anexo 6).

Procesamiento y obtención de extracto etanólico del propóleo: Se colocó el propóleo a 0°C para que se solidifique, posteriormente se pulverizó con un mortero de porcelana y se tamizó para lograr una uniformidad de partículas. Se almacenaron en frascos estériles de color ámbar para cubrirlo con etanol al 96% para que se macere por una semana, agitándolo por 10 a 15 minutos al día. Se filtró en papel Whatman N°40 para que se logre el extracto etanólico de propóleo (EEP), después se colocó en rotavapor a presión moderada a una temperatura de 40°C para eliminar el etanol y obtener el propóleo seco.^{40,48}

Preparación de concentraciones del EEP: Se realizaron las diluciones con solución salina estéril (SSE), las cuales se colocaron en frascos estériles cerrados y forrados con papel aluminio para agitar y tener las concentraciones de 5mg/ml, 15mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml.

Reactivación de *Candida albicans* ATCC 10231 y preparación del inóculo: la cepa, así como el agar se obtuvieron de la empresa Gen Lab. Se preparó el caldo de cultivo líquido de Agar Sabouraud de la marca BD respetando las indicaciones del fabricante. Se procedió con la apertura de la bolsa del kwik-stik, se sacó la unidad de forma vertical, se presionó la ampolla de la parte

superior de la unidad y se esperó que el flujo del líquido baje hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo, después se presionó la parte inferior para que el gránulo se disuelva hasta lograr una suspensión homogénea, inmediatamente se sacó el hisopo de la unidad con el material hidratado y se transfirió al medio (Caldo de Agar). Todo este procedimiento se realizó dentro de la campana de bioseguridad. Con un asa de siembra se llevó la *Candida albicans* del caldo a una placa petri con Agar Sabouraud la cual se incubó a 37°C.

Preparación del medio para el cultivo: El Agar Sabouraud de la marca BD indica las proporciones para su preparación, 43 g en 1 litro de agua destilada. Se realizó la mezcla para luego ser autoclavado a 121° durante 20 minutos, colocándola posteriormente en una placa petri de 90 a 100 mm de diámetro, cuyo volumen apropiado es 19 a 21 ml. Para el control de calidad se evaluó que el Agar Sabouraud tenga color ámbar transparente de aspecto sólido.^{49,50}

Proceso de siembra en el medio de cultivo: pasada las 24 horas de colocar la placa petri con la *Candida albicans*, se verificó la presencia de colonias jóvenes. Se tomaron con la punta del asa de siembra las colonias jóvenes, las cuales se resuspendieron en un tubo con 5 ml de SSE para poder realizar la homogenización con vortex y ajustar la turbidez de 0.5 en la escala de MC Farland (equivalente a 1×10^6 UFC/ml), una vez realizado el ajuste, se colocó un hisopo dentro del tubo el cual se embebe y rota contra las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido^{49,50} y proceder cuidadosamente con la siembra en 3 direcciones para tener uniformidad en la superficie.

Prueba de susceptibilidad con el método del disco: Se procedió con la colocación de los discos embebidos con las diferentes concentraciones de EEP en las placas petri sembradas con *Candida albicans*, colocándose a 20 mm del borde la placa y separados entre ellos por 40 mm.^{49,50}

Para el control positivo se utilizó la Nistatina 100 000 UI/ml y para el control negativo SSE

Las placas con los discos ya colocados se colocaron en la incubadora por 24 horas a 37°C para realizar la lectura.^{49,50}

Lectura de los resultados: pasada las 24 horas, se examinaron las placas petri con los discos y los halos que formaron, a los que se denominó zonas de inhibición, midiéndose con una regla vernier para determinar el efecto conseguido.⁴⁹

Finalizando la ejecución se proporcionó al investigador una constancia de haber realizado los procedimientos bajo asesoría en las instalaciones del laboratorio (Anexo 7).

3.6. Método de análisis de datos

Para el método de análisis de estadístico, los datos que se obtuvieron se incorporaron al programa IBM SPSS versión 25, para organizar y el análisis e interpretación.

Se realizó la prueba de normalidad para establecer la distribución de los datos (Anexo 8).

Se aplicó la prueba no paramétrica de Shapiro-Wilk con comparaciones múltiples (Post Hoc), con el ajuste de Bonferroni para asegurar la credibilidad de los datos, finalmente se usó la prueba de U de Mann-Whitney para comparar con los controles positivos y negativos.

Para analizar la información se construyeron tablas de frecuencia de valores absolutos. Se calculó la media y el valor de desviación para analizar la información del efecto antifúngico de cada concentración.

3.7. Aspectos éticos

Se cumplieron con todos principios detallados, con la colaboración del asesor, laboratorio, etc. y se respetaron los códigos de ética y normativas de los manuales del trabajo de laboratorio. Los desechos contaminantes y biocontaminados se eliminaron en una bolsa de color rojo, que es autoclavada antes de ser desechada según la norma de N°18 del Ministerio de Salud del Perú (MINSA), así mismo los desechos comunes se descartaron en una bolsa negra. Se respetaron las medidas de bioseguridad del manual de bioseguridad de la OMS y las normas del MINSA.⁵¹

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antifúngico in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco y del control Nistatina sobre la *Candida albicans* ATCC 10231.

	N	Media	Mediana	Desviación típica
C1: 5 mg/ml	16	9,49	9,50	0,023
C2: 15 mg/ml	16	11,31	11,30	0,001
C3: 25 mg/ml	16	15,02	15,02	0,032
C4: 50 mg/ml	16	18,51	18,51	0,012
Control + Nistatina	1	17	17	0
Control – (SSE)	1	0	0	0
Total	66	13,43	13,16	3,86

Fuente: Elaboración propia

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos de cada concentración que fue evaluada frente a la *Candida albicans* ATCC 10231 reportando que para 5 mg/ml se obtuvo un halo de inhibición promedio de 9.49 mm, para la concentración de 15 mg/ml un halo de inhibición promedio de 11.31 mm, para 25 mg/ml un halo de inhibición promedio de 15.02 mm, para 50 mg/ml un halo de inhibición promedio de 18.51 mm, para el control positivo un halo de 17 mm y en control negativo un halo de 0 mm

Tabla 2. Comparación del efecto antifúngico de las concentraciones de 25mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control positivo Nistatina.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Moda	Rango intercuartil	Desviación típica	P
C3: 25 mg/ml	16	15,00	15,10	15,02	15,02	15,00	0,03	,032	
C4: 50 mg/ml	16	18,50	18,53	18,51	18,51	18,50	0,02	,012	0,000
Control + Nistatina	1	17	17	17	17	17	0	0	

Fuente: Elaboración propia
Prueba de U de Mann Whitney

La tabla 2 muestra que la concentración de 25 mg/ml tiene menor efecto que el control positivo, con un halo de inhibición promedio de 15.02 mm, menor a 17 mm de la Nistatina, con un ($p = 0,000$), esto indica que difiere significativamente del grupo control positivo, y la concentración de 50 mg/ml tiene mayor efecto que el control positivo, con un halo de inhibición promedio de 18.51 mm, con un ($p = 0,000$), esto indica que difiere significativamente del grupo control positivo Nistatina.

Tabla 3. Comparación del efecto antifúngico de las concentraciones de 25mg/ml y 50 mg/ml del extracto etanólico del propóleo del Cusco frente al control negativo.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Mediana	Moda	Rango intercuartil	Desviación típica	P
C3: 25 mg/ml	16	15,00	15,10	15,02	15,02	15,00	0,03	,032	
C4: 50 mg/ml	16	18,50	18,53	18,51	18,51	18,50	0,02	,012	0,000
Control- (SSE)	1	0	0	0	0	0	0	0	

Fuente: Elaboración propia
Prueba de U de Mann Whitney

La tabla 3 muestra que la concentración de 25 mg/ml presenta un halo de 15.02 mm que difieren significativamente del grupo control negativo que tiene un halo de 0 mm, con un ($p = 0,000$), teniendo un halo superior al control negativo y la concentración de 50 mg/ml difieren significativamente del grupo control negativo que tiene un halo de 0 mm, ($p= 0,000$), teniendo un halo superior al control negativo

V. DISCUSIÓN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antifúngico de las concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco a 5mg/ml, 15mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231, se usó como control positivo la Nistatina y control negativo SSE.

Los diámetros obtenidos para el propóleo a la concentración de 5 mg/ml fue un halo de inhibición promedio de 9.49 mm, para el de 15 mg/ml un halo de inhibición promedio de 11.31 mm, para el de 25 mg/ml un halo de inhibición promedio de 15.02 mm y para el de 50 mg/ml un halo de inhibición promedio de 18.51 mm indicando que todas las concentraciones presentan un efecto significativo frente a la *Candida albicans*.

En el análisis de las comparaciones del extracto etanólico de propóleo y el control positivo, indica que hay diferencia estadística entre ellas sobre *Candida albicans*; la concentración de 25 mg/ml tiene un halo promedio de inhibición de 15.02 mm, y la Nistatina un halo de 17 mm ($p = 0,000$), indicando que difiere significativamente del grupo control; la concentración de 50 mg/ml tiene mayor efecto que el control positivo, con un halo de inhibición promedio de 18.51 mm que es mayor a 17 mm de la Nistatina, ($p = 0,000$), lo que indica que difiere significativamente del control positivo.

Este hallazgos son diferentes a la investigación de Arslan M, et al.¹⁹ Donde compararon las actividades biológicas del extracto etanólico del propóleo obtenido de Ardahan y Erzurum de Turquía en una concentración de 20mg/ml frente a diversos microorganismos dentro de ellos *Candida albicans*, teniendo resultado favorables para los otros microorganismos evaluados pero frente a la cepa *Candida albicans* no presentó ningún efecto, lo que podría deberse a las diferencias de concentraciones usadas en cada estudio así como factores del clima y la flora que cada región. Con respecto a los resultados obtenidos del presente trabajo difieren en las concentraciones y halos obtenidos, debido que las 4 concentración evaluadas presentaron halos de inhibición, teniendo como resultado superior al control positivo la concentración de 50mg/ml que reportó un halo 18.51 mm, demostrando que el propóleo del Cusco tiene un efecto antifúngico.

Asi mismo Al Bratty M, et al.²⁰ Evaluaron la capacidad del extracto etanólico del propóleo frente a varios microorganismos entre ellos *Candida albicans* con una concentración de 10 µg/ml con el método difusión de disco obteniendo un resultado de 17.5±0.28 mm de halo de inhibición, estos resultados son semejantes a los del presente estudio en la concentración de 50 mg/ml con un halo de 18.51 mm, lo que demuestra que los dos propóleos evaluados tienen un efecto antifúngico frente a la *Candida albicans*; se demostró también que el propóleo de Arabia Saudita presentó un mayor efecto, puesto que la concentración que usaron es menor, se podría explicar porque la región de la proviene cuenta con clima y flora diferentes a la zona de Poroy.

En investigación de Okińczyc P, et al.²¹ se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de propóleo nepalí en una concentración de 128 µg/ml producidos por dos géneros de abejas frente a *Candida albicans*; obtuvieron para el propóleo de *Apis mellifera* un halo de inhibición de 14±0.33 mm y para el de *Tierra trigona* un halo de 10±0.33 mm, lo cual tuvo semejanza con los resultados obtenidos en las concentraciones de 25 mg/ml con un halo de 15.02 mm y la concentración de 15 mg/ml un halo de 11.31 mm, demostrando que el propóleo nepalí y el del Cusco presentan efectos antifúngicos pero el propóleo nepalí presente mayor efecto debido a las diferencia de concentraciones usadas en los dos trabajos, además de las características de la flora de la región puede deberse a los diferentes tipos de abejas

De igual manera, Bezerra FCR, et al.²² realizó un estudio sobre la adhesión y formación de biopelículas de *Candida albicans* con el extracto de propóleo verde en concentraciones de 0.25 µg/ml, 2.5 µg/ml, 25 µg/ml, 250 µg/ml, reportando resultados para 0.25 µg/ml halo de 5 mm, 2.5 µg/ml halo de 15.2 mm, 25 µg/ml halo de 17.3 mm, 250 µg/ml halo de 20.1 mm, resultados semejantes a las obtenidas para las concentraciones de 25mg/ml con 15.02 mm y 50 mg/ml con 18.51 del presente trabajo, reportando que ambos propóleos presentan una actividad antifúngica, defiriendo en las concentraciones que se usaron indicando que el propóleo verde es más efectivo debido a que es obtenido de una región con una flora más variada que la del Cusco.

Por su parte, Degirmencioglu HT, et al.²³ determinó la actividad del propóleo a una concentración de 1024 µg/ml frente a varios microorganismos entre ellos *Candida albicans*, obteniendo un halo de inhibición de 12 mm, semejante a los resultados obtenidos en el presente trabajo en la concentración de 15 mg/ml con halo de 11.31 mm y las concentraciones de 25 mg/ml y 50 mg/ml que tuvieron mejores resultados, reportando que los dos propóleos tienen una actividad antifúngica.

La investigación de Ramón-Sierra J, et al.²⁴ evaluó la capacidad antifúngica del extracto etanólico de propóleo en concentraciones de 1 a 15 µg/ml de dos tipos de abejas *Melipona beechei* y *Apis mellifera* obtenido de Yucatán frente a *Candida albicans* ATCC 10231, obteniendo en su resultado un halo de inhibición de 21.12 mm para el propóleo de *Melipona beechei* y un halo de 16.16 mm para *Apis mellifera*, resultados semejantes a los obtenidos en el presente trabajo en la concentración de 50 mg/ml con halo de 18.51, reportando que los propóleos de *Apis mellifera* y *Melipona beechei* de Yucatán con los de Cusco tienen efecto antifúngico, indicando que el propóleo de la especie de abejas *Melipona beechei* tiene una mayor actividad mostrada por el efecto encontrado en menor concentración del propóleo, esto influenciado por los factores del clima, flora y la especie de abeja

Sowmya S, et al.²⁵ evaluó concentraciones del propóleo a 1 mg, 0.5 mg, 0.25 mg, 0.12 mg, 0.062 mg sobre *Candida albicans*, reportando halos de 23 mm para la concentración de 1 mg, 20 mm para la de 0.5 mg, 18 mm para la de 0.25 mg, 17 mm para la de 0.12 mg, 16 mm para la concentración de 0.062 resultados similares con la presente investigación, demostrando que los dos propóleos tienen un efecto antifúngico prometedor aun usando menores concentraciones que las de la presente investigación, siendo un propóleo obtenido a partir de una flora y clima diferentes.

En la investigación de Balboa N, et al.²⁶ estudió las propiedades antimicrobianas del propóleo en concentraciones de 1000, 2000, 3000 y 4000 µg/ml sobre *Candida albicans*, determinando que no hubo un efecto en ninguna de las concentraciones evaluadas, difiriendo de los resultados obtenidos en la presente investigación donde las 4 concentraciones evaluados

reportaron actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, indicando que el propóleo de Chile no es efectivo en las concentraciones probadas, a diferencia del propóleo del Cusco que reportó una actividad antifúngica en todas sus concentraciones.

Por último, Al-Daammy AAH, et al.²⁷ determinó la actividad antifúngica del propóleo en concentraciones de 0.5, 1, 5, 10, 15, 20 y 25 mg/ml frente a *Candida albicans*, mostrando que no hubo zona de inhibición para la concentración de 0.5 mg/ml, en la de 1 mg/ml fue de 1.2 ± 0.0 mm, 5 mg/ml con 9.8 ± 0.19 mm, 10 mg/ml con 12.8 ± 0.41 mm, 15 mg/ml con 14.9 ± 0.21 mm, 20 mg/ml con 17.6 ± 0.7 mm, 24 mg/ml con 22.6 ± 1.9 mm, obteniendo resultados semejantes a los del presente trabajo donde se obtuvo para la concentración de 5 mg/ml halo de 9.49 mm, 15 mg/ml con 11.31 mm, 25 mg/ml con 15.02 mm, 50 mg/ml con 18.51 mm, lo que indica que los propóleos evaluados en ambos trabajos presentan una actividad antifúngica con resultados similares en las mismas concentraciones.

VI. CONCLUSIONES

1. Todas las concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco tienen efecto antifúngico frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.
2. El efecto antifúngico de la concentración del extracto etanólico del propóleo del Cusco a 25 mg/ml fue menor que la Nistatina y la concentración de 50 mg/ml fue mayor que la Nistatina frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 con diferencia estadística significativa entre ellos.
3. El efecto antifúngico de las concentraciones del extracto etanólico del propóleo del Cusco a 25 mg/ml y 50 mg/ml frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231, fue mayor que el SSE con diferencia estadística entre ellos.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios con otros tipos de propóleos de la misma región, considerando que pueden tener mejor capacidad antifúngica que las concentraciones probadas.
2. Promover investigaciones sobre distintos propóleos en concentraciones menores con respecto a la presente investigación con el fin de comparar y tener registros de la efectividad del propóleo en concentraciones inferiores al 50 mg/ml.
3. Realizar estudios sobre la composición del propóleo de la zona del Cusco y determinar los compuestos que pueden influir en las propiedades antifúngicas del propóleo.

REFERENCIAS.

1. Dekkers BGJ, Veringa A, Marriott DJE, Boonstra JM, van der Elst KCM, Doukas FF, et al. Invasive candidiasis in the elderly: Considerations for drug therapy. *Drugs Aging* [Internet]. 2018 [Consultado el 21 diciembre del 2020]; 35(9): 781-789. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6105183/>
2. Vila T, Sultan AS, Montelongo-Jauregui D, Jabra-Rizk MA. Oral Candidiasis: A Disease of Opportunity. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2020 [Consultado el 8 diciembre del 2020]; 6(1):15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31963180/>
3. Rocafuerte Acurio MA, Refulio Zelada Z, Huamani Mamani JO. Estomatitis Subprotésica: A proposito de un caso clinico. *KIRU* [Internet]. 2014 Diciembre [Consultado el 8 diciembre del 2020] 11(2). Disponible en <https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/137>
4. Shukla K, Vun I, Lov I, Laparidis G, Mc Camley C, Ariyawardana A. Role of *Candida* infection in the malignant transformation of oral leukoplakia: Translational Research in Oral Oncology [Internet]. 2019 [Consultado el 10 diciembre del 2020]; 4: 1-10. Disponible en <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/2057178X19828229>
5. Gutiérrez CG, Medina LB, Sanches M, Cornejo LZ, Zambrano ME. Estomatitis Subprotésica en Pacientes. *Int J. Odontostomat.* [Internet]. 2013 [Consultado el 10 diciembre del 2020]; 7(2): 207-213. Disponible : https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-381X2013000200008
6. Álvarez HA. *Candida albicans* en pacientes con estomatitis subprotésica del Centro de Adulto Mayor de Chiclayo, Peru. *KIRU* [Internet]. 2017 [Consultado el 10 diciembre del 2020]; 14(2): 144-148. Disponible en <https://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2017/02/1198-4002-1-PB.pdf>
7. Rodriguez L, Bustamante B, Huaroto L, Agurto C, Illescas R, Ramirez R. A multi-centric Study of *Candida* bloodstream infection in Lima-Callao, Peru: Species distribution, antifungal resistance and clinical outcomes. *PLoS ONE*

- [Internet]. 2017 [Consultado el 21 diciembre del 2020] 12(4): e0175172. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175172>
8. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud publica [Internet]. 2018 [Consultado el 21 diciembre del 2020]; 35(1): 126-131. Disponible: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019
 9. Ibáñez N, Robles C, Lecona J. Frecuencia de candidiasis oral asociada al uso de prótesis dentales en pacientes de la Clínica Odontológica de la Universidad Anáhuac Norte. Revista ADM [Internet]. 2017 [Consultado el 21 diciembre del 2020]; 74(2): 74-78 Disponible : <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2017/od172e.pdf>
 10. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostroff SM, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis [Internet]. 2015 [Consultado el 15 setiembre del 2021]; 62(4): e1-e50. Disponible en <https://www.idsociety.org/practice-guideline/candidiasis/>
 11. Lopez-Avila K, Dzul-Rosado KR, Lugo-Caballero C, Arias-León JJ, Zavala-Castro JE. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. Rev biomédica. [Internet]. 2016 [Consultado el 21 enero del 2021]; 27(3): 127-136. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-84472016000300127
 12. Moyes DL, Naglik JR. Mucosal immunity and *Candida albicans* infection. Clin Dev Immunol. [Internet]. 2011 [Consultado el 21 enero del 2021]; 2011: 346307. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21776285/>
 13. Gow NA, van de Veerdonk FL, Brown AJ, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2011 [Consultado el 28 diciembre del 2020];

- 10(2): 112-122. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624162/>
14. Zhou Y, Cheng L, Lei YL, Ren B, Zhou X. The Interactions between *Candida albicans* and mucosal immunity. *Front Microbiol* [Internet]. 2021 [Consultado el 28 agosto del 2021]; 12: 652725. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8255368/>
15. Delgado M, Andrade J, Ramírez C. Caracterización fisicoquímica de propóleos colectados en el Bosque La Primavera Zapopan, Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. [Internet]. 2015 [Consultado el 8 febrero del 2021]; 6(28): 74-87. Disponible en http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11322015000200006
16. Vargas-Sánchez R, Torrescano-Urrutia G, Sánchez A. Physicochemical and microbiological characterization, and evaluation of the antibacterial and antioxidant activity of propolis produced in two seasons and two areas of the eastern edge of the Sonoran Desert. *Biocencia*. [Internet]. 2020 [Consultado el 5 julio del 2021]; 22(3): 46-52. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-14562020000300046
17. Tobaldini-Valerio FK, Bonfim-Mendonça PS, Rosseto HC, Bruschi ML, Henriques M, Negri M, Silva S, Svidzinski Tle. Propolis: a potential natural product to fight *Candida* species infections. *Future Microbiol* [Internet]. 2016 [Consultado el 11 febrero del 2021]; 11:1035-46. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27501739/>
18. Aragón JI, Chuspe ME. Ecología geográfica del Cusco. [Internet]. 2018. [Consultado el 10 diciembre del 2020]. Disponible en: https://issuu.com/mariaelenachuspezans/docs/ecologia_geografica_del_cusco
19. Arslan M, Sevgiler Y, Güven C, Murathan ZT, Erbil N, Yıldırım D, et al. Chemical and biological characteristics of propolis from *Apis mellifera caucasica* from the Ardahan and Erzurum provinces of Turkey: a comparative

- study. Arh Hig Rada Toksikol [Internet]. 2021 [Consultado el 8 setiembre del 2021]; 72(1): 53-69. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8191426/>
20. Al Bratty M, Alhazmi H, Reddy D, Al-Rajab A, Javed S, Rehman Z. Chemical Characterization and in-vitro Antimicrobial Screening of Ethanolic Extract of Propolis Collected from Jazan, Saudi Arabia. Pakistan J. Zool. [Internet]. 2020 [Consultado el 15 enero del 2021]; 52(1): 121-130. Disponible en <http://researcherslinks.com/current-issues/Chemical-Characterization-and-in-vitro-Antimicrobial/20/1/2497/html>
21. Okińczyc P, Paluch E, Franiczek R, Widelski J, Wojtanowski KK, Mroczek T, et al. Antimicrobial activity of Apis mellifera L. and Trigona sp. propolis from Nepal and its phytochemical analysis. Biomed Pharmacother. [Internet]. 2020 [Consultado el 15 enero del 2021]; 129: 110435. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32593967/>
22. Bezerra CRF, Assunção BKR, Alves RdNS, Teles AM, Pimentel RIV, da Silva MACN. Highly effective antibiofilm and antifungal activity of green propolis against Candida species in dental materials. PLoS ONE. [Internet]. 2020 [Consultado el 5 enero del 2021]; 15(12): e0228828. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0228828>
23. Degirmencioglu H, Guzelmeriç E, Yuksel P, Kırmızıbekmez H, Deniz I, Yesilada E. A new type of anatolian propolis: evaluation of its chemical composition, activity profile and botanical origin. Chemistry & Biodiversity. [Internet]. 2019 [Consultado el 25 diciembre del 2020]; 16: e1900492. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.201900492>
24. Ramón-Sierra J, Peraza-López E, Rodríguez-Borges R, Yam-Puc A, Madera-Santana T, Ortiz-Vázquez E. Partial characterization of the ethanolic extract of Melipona beecheii propolis and in vitro evaluation of its antifungal activity. Rev bras. farmacogn [Internet]. 2019 [Consultado el 25 enero del 2021]; 29(3): 319–324. Disponible en <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/NpQVh3Pgy5mV7vcCXzp4kbs/?lang=en>

25. Sowmyaa S, Gujjari AK, Mruthunjaya K, Padmanabhan TV, Anupama C, Sushma R, et al. Antioxidant and antimicrobial activity of propolis. *J. Evolution Med. Dent. Sci.* [Internet]. 2019 [Consultado el 26 enero del 2021]; 8(2): 6808-6810. Disponible en: https://www.jemds.com/data_pdf/sowmyaruks-giri-jan-14-.pdf
26. Balboa N, Núñez D, Alvear M, Cerón A, Paredes M. Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de un propóleo chileno sobre muestras clínicas de exudados bucofaríngeos y cepas ATCC. *Bol Latinoam. Caribe plantas med. aromát.* [Internet]. 2018 [Consultado el 13 febrero del 2021]; 17(6): 541-554. Disponible en: <https://blacpma.mse-ediciones.cl/index.php/blacpma/article/view/144>
27. Al-Daammy AAH, Abd-Al AH, Zuher H. Antifungal activity of propolis against dermatophytes and *Candida albicans* isolated from human mouth. *J. contemp. med. sci.* [Internet]. 2015 [Consultado el 13 febrero del 2021]; 1(3): 4-8. Disponible en <http://www.jocms.org/index.php/jcms/article/view/26>
28. Pereira R, Dos Santos FRO, de Brito EHS, de Moraes SM. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol.* [Internet]. 2021 [Consultado el 13 febrero 2021]; 131(1): 11-22. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33249681/>
29. Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathog Dis.* [Internet]. 2016 [Consultado el 15 febrero del 2021]; 74(4): ftw018. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26960943/>
30. Rajendra SAB, Muddana K, Bakki SR. Fungal infections of oral cavity: Diagnosis, management, and association with COVID-19. *SN Compr Clin Med.* [Internet]. 2021 [Consultado el 01 junio del 2021]; 1-12. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33817556/>
31. Wall G, Montelongo-Jauregui D, Vidal Bonifacio B, Lopez-Ribot JL, Uppuluri P. *Candida albicans* biofilm growth and dispersal: contributions to pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* [Internet]. 2019 [Consultado el 01 junio del 2021]; 52:1-6. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31085405/>

32. Patil S, Rao RS, Majumdar B, Anil S. Clinical appearance of oral candida infection and therapeutic strategies. *Front Microbiol.* [Internet]. 2015 [Consultado el 5 junio del 2021]; 6: 1391. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4681845/>
33. Negroni M. *Microbiología Estomatológica*. 2nd ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2009. [Consultado el 5 junio del 2021]
34. Marsh P. *Microbiología Oral*. 5th ed. Caracas: Amolca; 2011. [Consultado el 6 junio del 2021].
35. Ceccotti E. *El diagnóstico en clínica estomatológica* [Internet]. 1ra ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2007 [Consultado el 5 julio del 2021]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/191192182/El-Diagnostico-en-La-Clinica-Estomatologica-Ceccotti>
36. Sellam A, Whiteway M. Recent advances on *Candida albicans* biology and virulence. *F1000Res.* [Internet]. 2016 [Consultado el 15 junio del 2021]; 5: 2582. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27853524/>
37. Lyu X, Zhao C, Yan ZM, Hua H. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* [Internet]. 2016 [Consultado el 17 junio del 2021]; 10: 1161-1171. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27042008/>
38. *Vademecum.* [Internet]. [Consultado el 15 junio del 2021]. Disponible en <https://www.igb.es/cbasicas/farma/farma04/n026.htm>
39. Forma E, Brys M. Anticancer activity of propolis and its compounds. *Nutrients* [Internet]. 2021 [Consultado el 14 marzo del 2021]; 13(8): 2594. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34444754/>
40. Farré R, Frasset I, Sánchez A. Propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica.* [Internet]. 2004 [Consultado el 15 agosto del 2021]; 45(1): 21-43. Disponible en <http://www.ugr.es/~ars/abstract/45-21-04.pdf>
41. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci.*

- [Internet]. 2019 [Consultado el 15 marzo del 2021]; 26(7): 1695-1703. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31762646/>
42. Hernández M, Abraham M, Cerón A, Gutiérrez A, Segoviano J, Avila F.. Flavonoids, phenolic content, and antioxidant activity of propolis from various areas of Guanajuato, Mexico. Food Sci Technol [Internet]. 2018 [Consultado el 18 marzo del 2021]. 38(2): 210-215. Disponible en <https://www.scielo.br/j/cta/a/x3MFSfZRRNHB8Jk8LG8yVny/?lang=en>
43. Vaculik P, Cardozo B, Pérez S, Rosende R, Juárez R. Aplicaciones del propóleo en ciencias de la salud. Rev Facultad de Odontología [Internet]. 2011 [Consultado el 20 febrero del 2021]; 4(1): 43-47. Disponible en <https://revistas.unne.edu.ar/index.php/rfo/article/view/984>
44. Hernández SR, Fernández C, Baptista LP. Metodología de la investigación. McGraw-Hill. Mexico D. F. [Internet]. 2014 [Consultado 21 de abril 2021]. Disponible en: <https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
45. Muntané RJ. introduccion a la investigacion básica. RAPD [Internet]. 2010 [Consultado el 20 febrero del 2021]; 33(3): 221-227. Disponible en <https://www.sapd.es/revista/2010/33/3/03>
46. Hernández AC, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Revista alerta [Internet]. 2019 [Consultado el 20 febrero del 2021]; 2(1): 75-79. Disponible en: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
47. Bankova V, Bertelli D, Borba R, Conti BJ, Cunha B, Danert C, et al. Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. J. Apic. Res. [Internet]. 2016 [Consultado el 22 febrero del 2021]; 58(2): 1-49. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1222661>
48. Soto-Vásquez MR. Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú. In Crescendo [Internet]. 2015 [Consultado el 22 febrero del 2021]; 6(2): 22-32. Disponible en: <https://revistas.uladech.edu.pe/index.php/increscendo/article/view/1051>

49. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. [Internet]. 2017 [Consultado el 24 marzo del 2021]. Disponible en: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/MANUAL_DE_PROCEDIMIENTOS_MICOLOGICOS_INS_PERU.pdf
50. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [Internet]. 2002 [Consultado el 23 marzo del 2021]. Disponible: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manual_sensibilidad.pdf
51. Ministerio de Salud del Perú. Bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos [Internet]. 2005 [Consultado el 23 marzo del 2021]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/Manual%20de%20bioseguridad%20-%20INS.pdf>
52. Scorzoni L, Benaducci T, Fusco AAM, Siqueira SDH, da Silva BV, Soares MMJ. The use of standard methodology for determination of antifungal activity of natural products against medical yeasts *Candida* sp and *Cryptococcus* sp. Braz. J. Microbiol [Internet]. 2007 Consultado el 23 octubre del 2021]; 38(3): 391-397. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/rk5Jmn6fXqyG757bbLXLjLF/?lang=en>

ANEXOS

ANEXO 1

MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Extracto etanólico de propóleo	Extracto obtenido a partir del propóleo de abejas y es procesado mediante un protocolo de maceración con el etanol al 96%. ³⁸	Obtenida a partir del propóleo el cual es recolectado por las abejas y se ha procesado mediante un protocolo de maceración con alcohol etanólico al 96%	5mg/ml 15mg/ml 25mg/ml 50mg/ml	Razón
Efecto antifúngico sobre la <i>Candida albicans</i>	Capacidad de un compuesto para inhibir diversos hongos, levaduras o filamentos al entrar en contacto con ellos. ⁵²	Crecimiento o inhibición del desarrollo de la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 en las placas Petri	Mm	Razón

ANEXO 2

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

FÓRMULA

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

Siendo n = las repeticiones a realizarse

Za es el valor Z correspondiente al riesgo a fijado;	0,05	1,96
Zb es el valor Z correspondiente al riesgo b fijado;	0,2	0,842
S es la desviación estándar, DE		4
d es el valor mínimo de la diferencia que se desea detectar.		4

Se realizarán 16 observaciones para cada una de las concentraciones del extracto etanólico del propóleo frente a la *Candida albicans* ATCC 10231.

16 para 5mg/ml

16 para 15mg/ml

16 para 25 mg/ml

16 para 50 mg/ml

ANEXO 3

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ENSAYOS	Efecto antifúngico (mm)						
5mg/ml	EEP del Cusco 24 H	15mg/ml	EEP del Cusco 24 H	25mg/ml	EEP del Cusco 24 H	50mg/ml	EEP del Cusco 24 H
1		1		1		1	
2		2		2		2	
3		3		3		3	
4		4		4		4	
5		5		5		5	
6		6		6		6	
7		7		7		7	
8		8		8		8	
9		9		9		9	
10		10		10		10	
11		11		11		11	
12		12		12		12	
13		13		13		13	
14		14		14		14	
15		15		15		15	
16		16		16		16	

ANEXO 4

CARTA DE PRESENTACIÓN



"Año de la universalización de la salud"

Piura, 16 de diciembre de 2020

CARTA DE PRESENTACIÓN Nº 092-2020 / UCV-EDE-P13-F01/PIURA

Biga.

Sonia Florez Lucana

Directora del Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud - Cusco

CUSCO.-

De mi especial consideración

Es grato dirigirme a usted para expresar mi cordial saludo, y a la vez, presentarle al alumno Alexander Nneil Medina Oncoy identificado con DNI 71631994, quien está realizando el Taller de Titulación en la Escuela de Estomatología de la Universidad César vallejo – Filial Piura y desean recolectar datos para su proyecto de investigación titulada "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanolico del propoleo del Cusco frente a la cepa Cándida Albicans ATCC 10231" en la entidad que usted dirige.

Por lo tanto, solicito brindarle las facilidades del caso y otorgue acceso al laboratorio de salud pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco y así continuar con su investigación.

Asimismo, hacemos de conocimiento que esta carta solo tiene validez virtual, pues motivos de la pandemia no podemos entregar el documento de manera física y menos exponer a nuestros alumnos.

Sin otro particular, me despido de Ud.

Atentamente,



MG. WILFREDO TERRONES CAMPOS
DIRECTOR ESCUELA DE ESTOMATOLOGIA

ANEXO 5

CARTA DE ACEPTACIÓN Y AUTORIZACIÓN DE USO DEL LABORATORIO

 **GOBIERNO REGIONAL CUSCO**
TRABAJANDO POR TU FUTURO

Dirección Regional de Salud

Dirección de Laboratorio de Salud Pública

 **MINISTERIO DE SALUD**
Edificando Salud

"CUSCO CAPITAL HISTORICA DEL PERU"
"AÑO DEL BICENTENARIO DEL PERU: 200 AÑOS DE INDEPENDENCIA"

CARTA DE ACEPTACIÓN

El que suscribe Blga. Sonia Florez Lucana Directora del Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco.

Con el presente documento se acepta al bachiller en Estomatología **ALEXANDER NNEIL MEDINA ONCOY** identificado con DNI 71631994, de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura, el uso de las instalaciones del área de Microbiología del Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco, para la ejecución de la parte experimental del proyecto de investigación titulado "**Efecto antifúngico *in vitro* del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231**".

Se emite la presente carta a solicitud del interesado para fines académicos que estime conveniente.

Cusco 01 de enero del 2021

GOBIERNO REGIONAL CUSCO
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD CUSCO
DIRECCIÓN DE LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA

Mgt. SONIA FLOREZ LUCANA
DIRECTORA
COSP 8584

Blga. Sonia Florez Lucana

CONSTANCIA DE AUTORIZACIÓN PARA USO DE INSTALACIONES DE LABORATORIO

El que suscribe Blga. Sonia Florez Lucana Directora del Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco.

Hace constar

Que el bachiller en Estomatología **ALEXANDER NNEIL MEDINA ONCOY** identificado con DNI 71631994, de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura, solicitó el Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco, para la ejecución de su proyecto de tesis titulado "**Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231**"; por lo que se encuentra autorizado para el uso de las instalaciones del área de Microbiología e instrumental y equipos necesarios para el desarrollo del proyecto.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado para fines académicos que estime conveniente

Cusco 01 de enero del 2021

GOBIERNO REGIONAL
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD CUSCO
DIRECCIÓN DE LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA

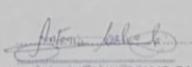
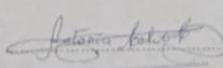

MgL. SONIA FLOREZ LUCANA
DIRECTORA
C.B.P. 9076

Blga. Sonia Florez Lucana

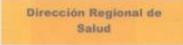
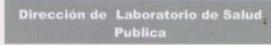
ANEXO 6

CONSTANCIA DE ASESORÍA

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO	DECLARACIÓN JURADA
La que suscribe Químico Farmacéutico Aydee Antony Holguino Huamanquispe	Yo Aydee Antony Holguino Huamanquispe
Hace constar	Identificada con DNI Nro 24895243 Químico Farmacéutico CQFP 14722
Haber acompañado y guiado en el procedimiento de ejecución del proyecto de investigación	Declaro
"Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 "	Haber acompañado y guiado en el procedimiento y ejecución del proyecto de investigación titulado
De los bachilleres en Estomatología Alexander Nneil Medina Oncoy, identificado con DNI 71631994 de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura.	"Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 "
Se emite la presente constancia a solicitud de los interesados para fines que estimen conveniente.	Del bachiller en Estomatología Alexander Nneil Medina Oncoy, identificado con DNI 71631994 de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura.
	Me afirmo y me ratifico en lo expresado, en señal de lo cual firmo el presente documento
Cusco 11 de febrero del 2021	Cusco 11 de febrero del 2021
 Aydee Antony Holguino Huamanquispe DNI 24895243	 Aydee Antony Holguino Huamanquispe DNI 24895243

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO	DECLARACIÓN JURADA
El que suscribe Bióloga Antonia Calvo Cajigas.	Yo Antonia Calvo Cajigas
Hace constar	Identificada con DNI Nro 23837341 Bióloga COP 749
Haber acompañado y guiado en el procedimiento de ejecución del proyecto de investigación "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231" del bachiller en Estomatología Alexander Nneil Medina Oncoy, identificado con DNI 71631994, de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura.	Declaro
Se emite la presente constancia a solicitud de los interesados para fines que estimen conveniente.	Haber acompañado y guiado en el procedimiento y ejecución del proyecto de investigación título "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231" del bachiller en Estomatología Alexander Nneil Medina Oncoy, identificado con DNI 71631994, de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura.
	Me afirmo y me ratifico en lo expresado, en señal de lo cual firmo el presente documento
Cusco 11 de febrero del 2021	Cusco 11 de febrero del 2021
 BIOLOGA ANTONIA CALVO CAJIGAS DNI 23837341	 Antonia Calvo Cajigas BIOLOGA COP 749

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN

"CUSCO CAPITAL HISTORICA DEL PERU"
"AÑO DEL BICENTENARIO DEL PERU: 200 AÑOS DE INDEPENDENCIA"

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE TESIS

El que suscribe Blga. Sonia Florez Lucana Directora del Laboratorio de Salud Pública de la Dirección Regional de Salud – Cusco.

Por medio del presente documento de constancia que el Bachiller en Estomatología **ALEXANDER NNEIL MEDINA ONCOY** identificado con DNI 71631994, de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura, ha desarrollado la parte experimental de la tesis titulada **"Efecto antifúngico *in vitro* del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231"** en el Laboratorio de Salud Pública perteneciente a la Dirección Regional de Salud Cusco. Utilizando las instalaciones del Laboratorio de Microbiología. Desde el 19 de enero del 2021 hasta el 10 de febrero del 2021. Se emite la presente constancia a solicitud del interesado para fines académicos.

Cusco 11 de febrero del 2021

GOBIERNO REGIONAL
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD CUSCO
DIRECCIÓN DE LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA


MgL SONIA FLOREZ LUCANA
DIRECTORA
CSP 5055

Blga. Sonia Florez Lucana

ANEXO 8

Prueba de Normalidad

Previo al análisis, por la naturaleza de los datos (mm) (cuantitativos continuos) se realizó la prueba de normalidad para determinar la prueba estadística.

Tabla 1.

Prueba de normalidad

ENSAYOS	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	GI	P valor
5mg/ml	,846	16	,012
15mg/ml	,718	16	,000
25mg/ml	,714	16	,000
50mg/ml	,770	16	,001

Fuente: Elaboración propia.

Análisis e interpretación:

La prueba de normalidad, al 95% de confiabilidad, muestra que: dado el valor sig.= $0,000 < 0,05$, los datos no siguen una distribución normal, por lo que debería emplear pruebas no paramétricas.

ANEXO 9

FIGURAS Y FOTOS

Figura 1. Constancia de adquisición del propóleo

CONSTANCIA DE ADQUISICIÓN DE PROPÓLEO

El que suscribe Paulina Caviedes Farfán Gerente de la empresa EL MUNDO DE LAS ABEJAS.

Hace constar:

Que el bachiller Alexander Neil Medina Oncoy con DNI 71631994, hizo la adquisición de propóleo para la ejecución de su trabajo de tesis titulado "Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico propóleo del Cusco frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231", de la Universidad Cesar Vallejo filial Piura.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado para fines que estime conveniente

Cusco 15 de enero del 2021


 Paulina Caviedes Farfán

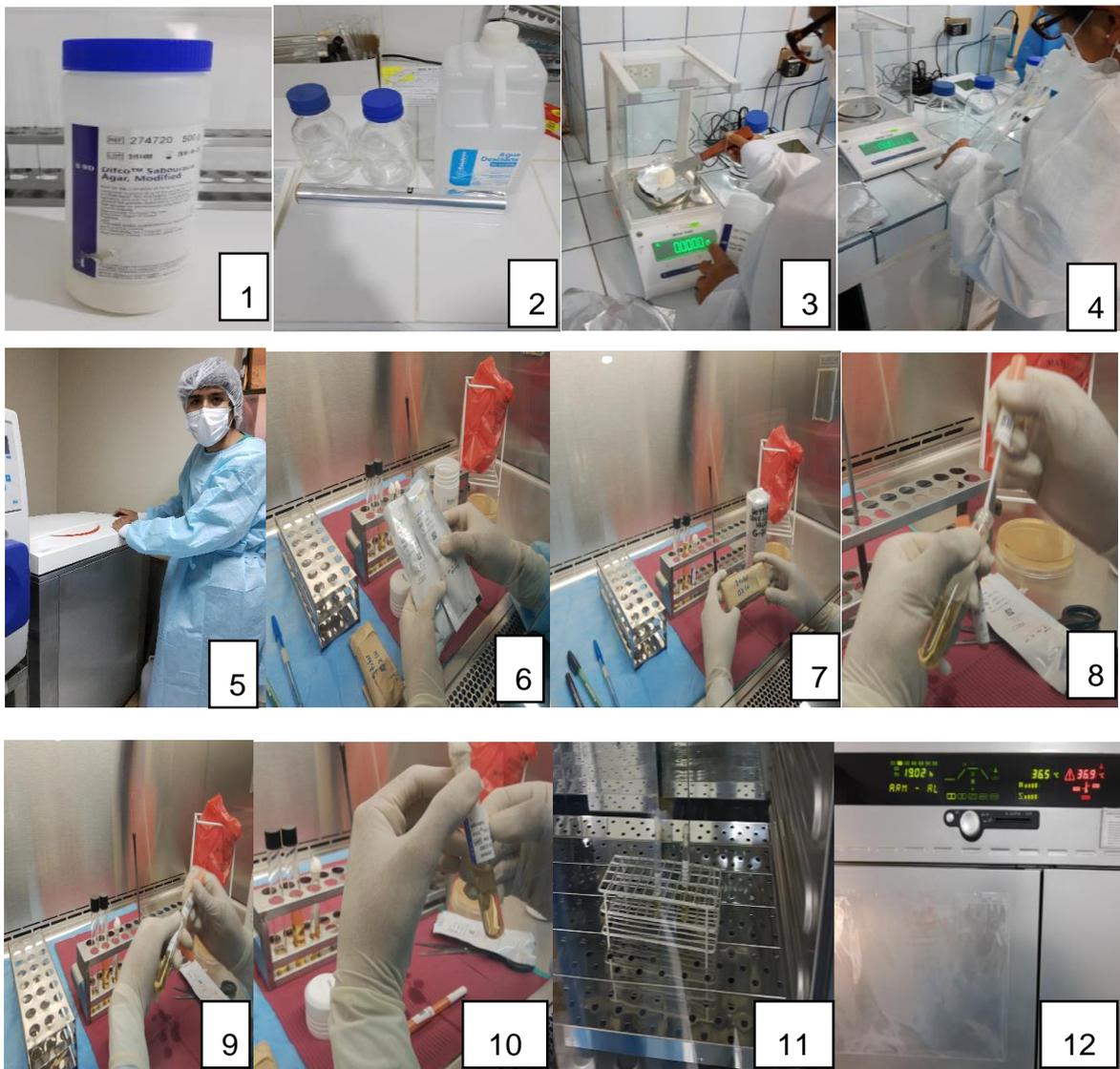
 EL MUNDO DE LAS ABEJAS De: Caviedes Farfan Paulina Venta de Materiales Apícolas en General Colmenas, Portanucleos, Alumadores, Mascaras, Guantes, Overoles Botas, Extractores, Homogenizadores, Balanzas Eléctricas, Libros y Videos sobre la Crianza, Capacitaciones y otros. CEL: RPC: 956-289453 - 953-786386 982-046284 CALLE TRES DE ORO N° 315 2DO PISO CUSCO- CUSCO- CUSCO		RUC. 10106020189 BOLETA DE VENTA 0001-N°013932		
Señor(es):	ALEXANDER MEDINA	Día	Mes	Año
Dirección:	CUSCO	Doc. Ident.		15 01 2021
CANT.	DESCRIPCION	P. UNID.	IMPORTE	
	700 grms de propoles no procesado	70	55.00	
Son:		Soles		
De: Katherine Rosa Sallo Mendoza RUC: 18704337171 - Calle Pavlos N° 456 Avil. SUNAT. 7712935993 - F.I. 15-01-2021 0374487811 SERIE 001 DEL 013851 AL 014890		TOTALS/ 55.00 Gracias por su Preferencia USUARIO		

Figura 2. Elaboración del extracto etanólico del propóleo.



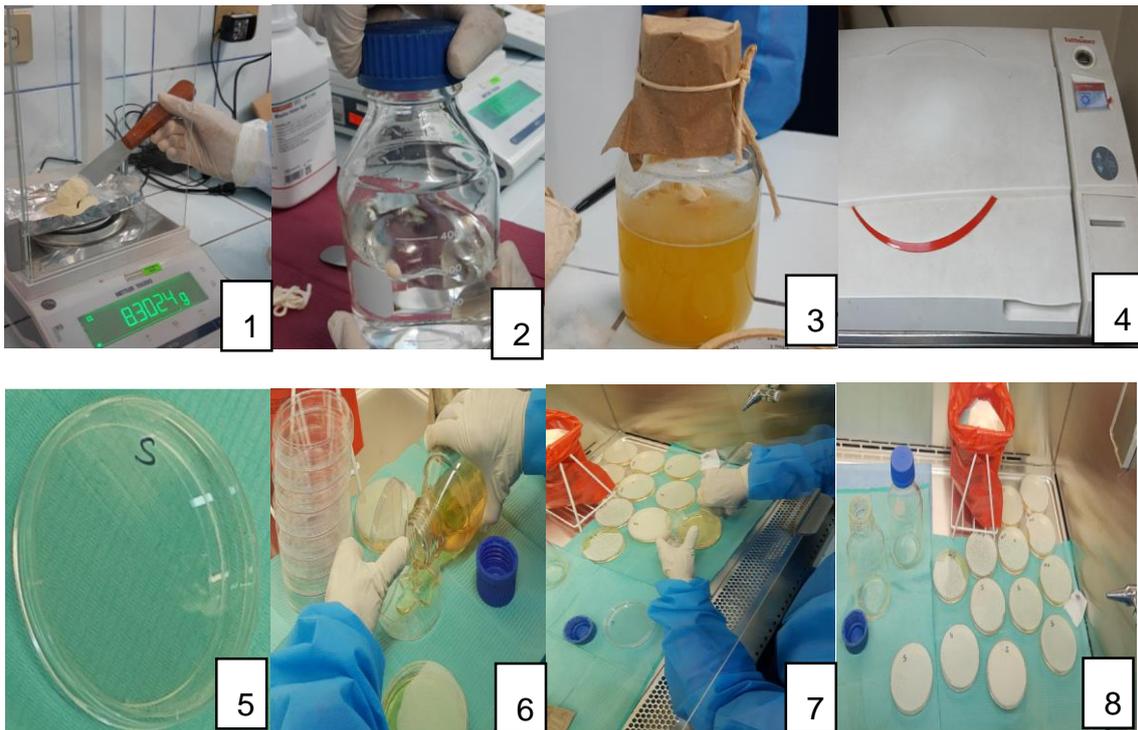
1	Lugar de obtencion del propoleo	7	Propoleo seco
2	Transportacion del propoleo	8	Pesado de las concentraciones
3	Pulverizado del propoleo	9	Colocacion sse
4	Propoleo con el alcohol etanolico	10	Agitador magnetico
5	Filtrado del propoleo	11	Propoleo en concentraciones
6	Propoleo seco		

Figura 3. Reactivación de la cepa.



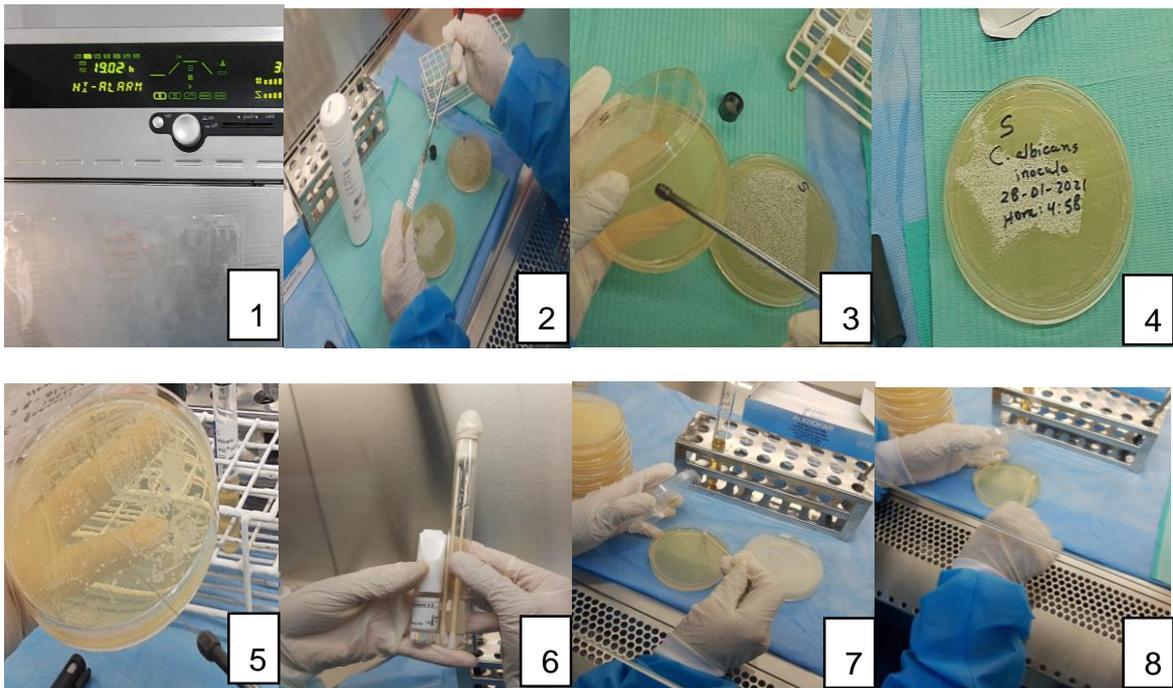
1	Agar sabouraud	7	Frascos esteriles
2	Materiales (frascos,papel aluminio)	8	Hidratacion y sembrado de cepa
3	Pesado	9	Hidratacion y sembrado de cepa
4	Medicion	10	Hidratacion y sembrado de cepa
5	Autoclavado	11	Incubacion de la cepa
6	Cepa <i>Candida albicans</i>	12	Incubacion de la cepa

Figura 4. Preparación del medio de cultivo



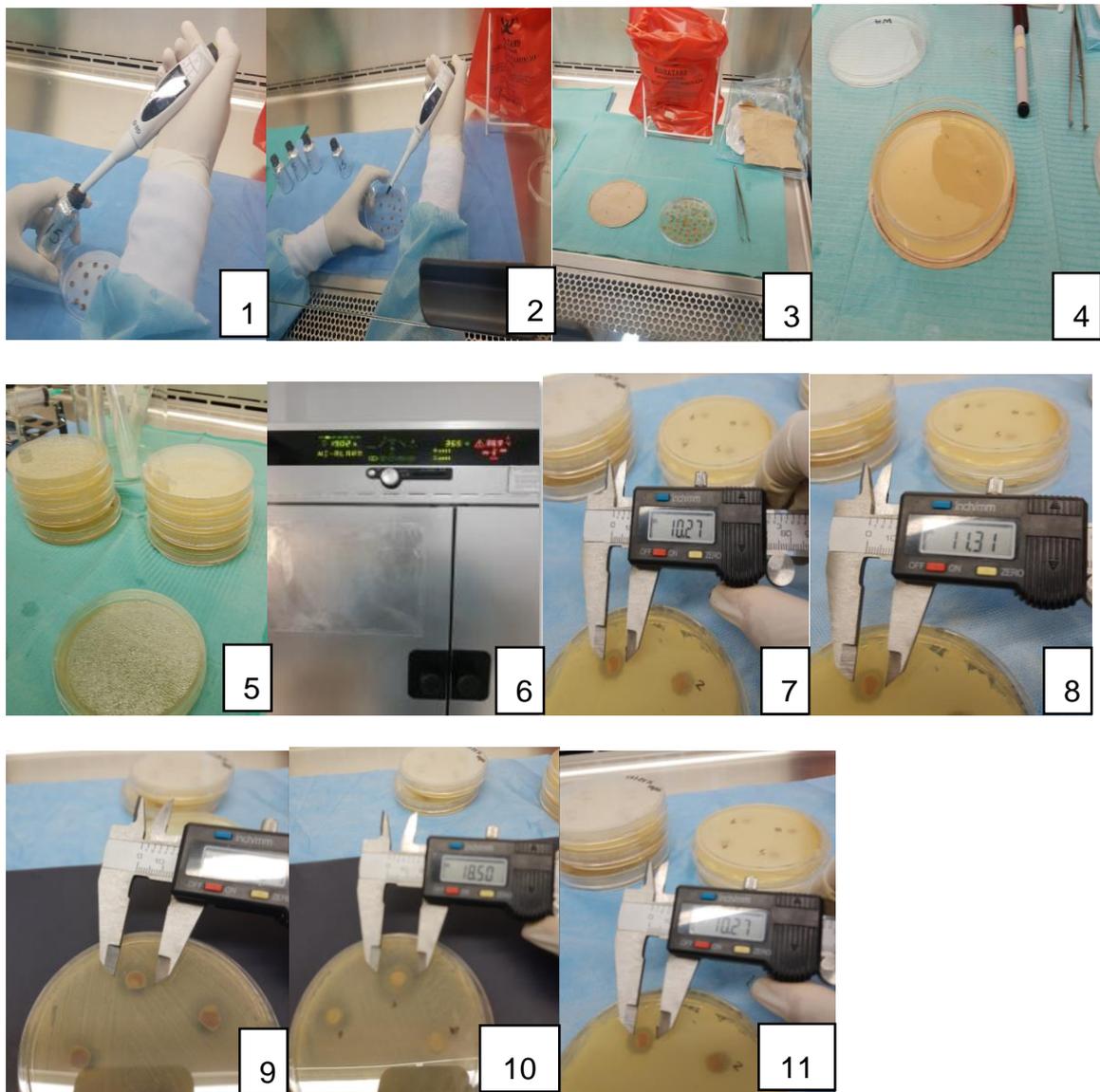
1	Pesado del Agar sabouraud	5	Placa petri
2	Agua destilada	6	Colocacion del medio en la placa
3	Sellado para colocar autoclave	7	Colocacion del medio en la placa
4	Autoclave	8	Colocacion del medio en la placa

Figura 5. Proceso de siembra.



1	Sacamos el caldo Sabouraud	5	Colonias de Candida albicans
2	Realizamos la siembra	6	Escala de Mac Farland
3	Asa de siembra	7	Siembra en la placa
4	Placa para poner en la incubadora	8	Siembra en la placa

Figura 6. Discos de sensibilidad con el propóleo y halos de inhibición.



1	Embeber los disco con propoleo	7	Lectura de los halos de inhibicion
2	Embeber los disco con propoleo	8	Lectura de los halos de inhibicion
3	Disco con propoleo	9	Lectura de los halos de inhibicion
4	Placa petri donde se colocara disco	10	Lectura de los halos de inhibicion
5	Placa petri donde se colocara disco	11	Lectura de los halos de inhibicion
6	Incubacion por 24H		

Figura 7. Lectura de halos.

ENSAYOS	Efecto antifúngico (mm)						
5mg/ml	EEP del Cusco 24 H	15mg/ml	EEP del Cusco 24 H	25mg/ml	EEP del Cusco 24 H	50mg/ml	EEP del Cusco 24 H
1	9.50	1	11.32	1	15.10	1	18.50
2	9.45	2	11.30	2	15.10	2	18.53
3	9.50	3	11.32	3	15.02	3	18.50
4	9.50	4	11.30	4	15.02	4	18.50
5	9.46	5	11.31	5	15.00	5	18.50
6	9.50	6	11.32	6	15.00	6	18.51
7	9.48	7	11.30	7	15.03	7	18.51
8	9.54	8	11.30	8	15.00	8	18.52
9	9.50	9	11.30	9	15.03	9	18.52
10	9.45	10	11.32	10	15.00	10	18.52
11	9.47	11	11.30	11	15.01	11	18.50
12	9.50	12	11.31	12	15.00	12	18.53
13	9.50	13	11.30	13	15.02	13	18.53
14	9.50	14	11.31	14	15.00	14	18.50
15	9.50	15	11.30	15	15.03	15	18.50
16	9.48	16	11.30	16	15.03	16	18.51



Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, **Julieta Emperatriz Donayre Escriba**, docente de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Profesional de Estomatología de la Universidad César Vallejo Sede Piura, asesora de la Tesis titulada: "**Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de propóleo del Cusco sobre *Candida albicans* ATCC 10231**"

del autor **Medina Oncoy, Alexander Nneil**, constato que la investigación tiene un índice de similitud de **17%** verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Piura, 11 Diciembre del 2021.

Apellidos y Nombres del Asesor: Donayre Escriba, Julieta Emperatriz	
DNI: 22093196	Firma 
ORCID: 0000-0001-6876-7804	