

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA



**“EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE  
PROPÓLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS  
*Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN  
LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA  
CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO - 2016”**

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. TANIA RAMIREZ ARENAS**

**Bach. MAYDA NIDIA VILCAPAZA CONDORI**

**PARA OPTAR EL TITULO DE CIRUJANO DENTISTA**

**PUNO –PERÚ**

**2016**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

**BORRADOR DE TESIS**

**“EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO - 2016”**

PRESENTADO POR:

**BACHILLERES: TANIA RAMÍREZ ARENAS**

**MAYDA NIDIA VILCAPAZA CONDORI**

A la Coordinación de Investigación de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, para optar el Título Profesional de:

**CIRUJANO DENTISTA**

APROBADA POR:

PRESIDENTE DE JURADO :

Mg. FERNANDO CÁHAVEZ FERNÁNDEZ

PRIMER MIEMBRO :

Dr. LUZ MAMANI CAHUATA

SEGUNDO MIEMBRO :

CD. BETSY QUISPE QUISPE

DIRECTOR DE TESIS :

Dr. JORGE LUIS MERCADO PORTAL

PUNO - PERU

2016

**ÁREA: Medicina y patología estomatológica**

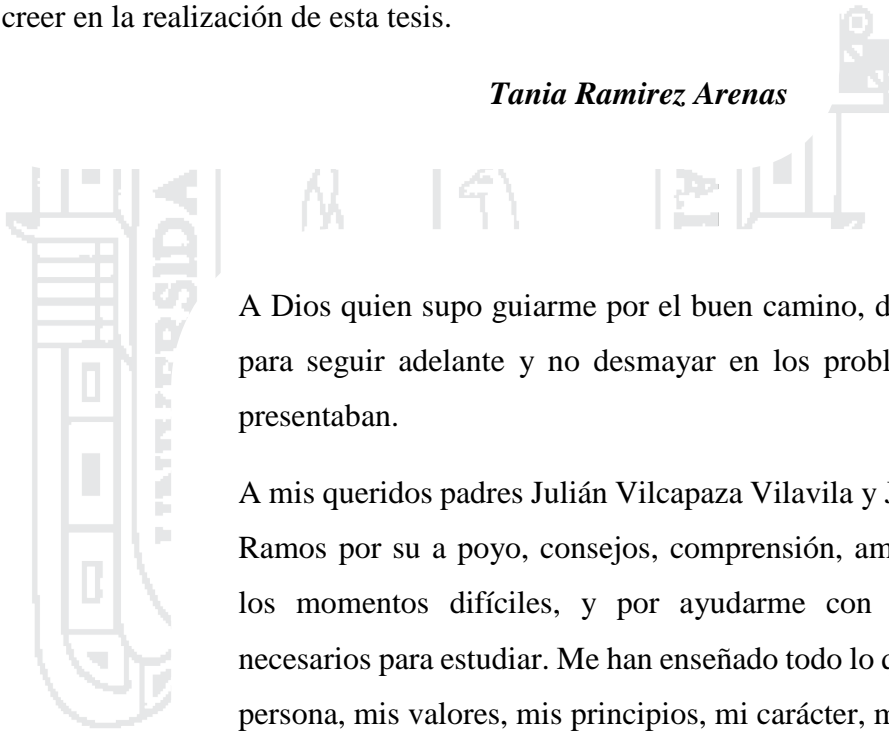
**TEMA: Fitoterapia: Productos naturales de uso en odontología**

## DEDICATORIA

A Dios por darme siempre las fuerzas para continuar en lo adverso, y guiarme en el sendero de lo sensato. A mis padres Reynaldo Ramírez Collatupa y Sabina Arenas Velasquez por todo lo que soy, por sus sabios consejos, por su apoyo y sacrificio, ellos son coparticipes de mis logros, con mucho amor.

A mi amiga Mayda por este nuevo triunfo, por apoyarme y creer en la realización de esta tesis.

*Tania Ramirez Arenas*



A Dios quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban.

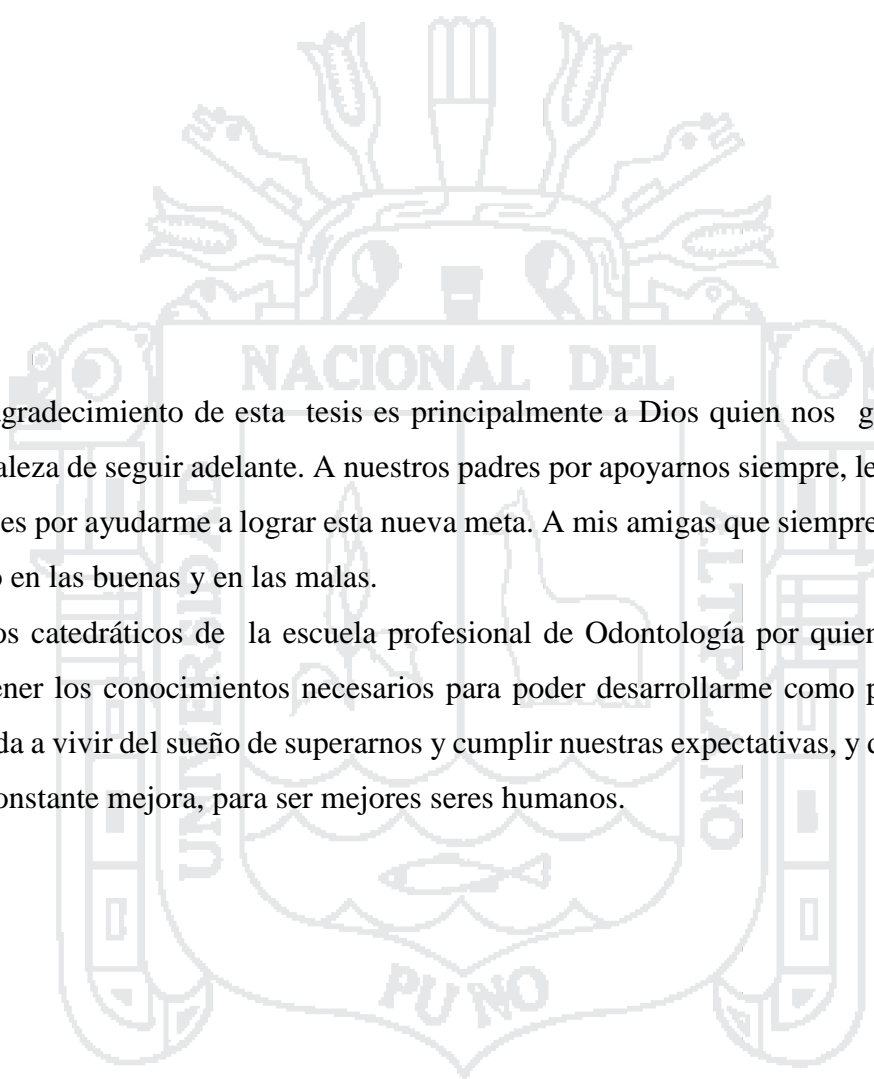
A mis queridos padres Julián Vilcapaza Vilavila y Julia Condori Ramos por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han enseñado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi coraje para conseguir mis objetivos.

A mis hermanos Julio César y Gaby Nardy por su cariño y comprensión.

A mis amistades que me supieron acompañar en todo momento, Judhitsa, porque supo ser mi hermana de la vida, y Tania por hacer realidad este proyecto.

*Mayda Nidia Vilcapaza Condori*

## AGRADECIMIENTO



El agradecimiento de esta tesis es principalmente a Dios quien nos guio y nos dio la fortaleza de seguir adelante. A nuestros padres por apoyarnos siempre, les agradezco con creces por ayudarme a lograr esta nueva meta. A mis amigas que siempre estuvieron a mi lado en las buenas y en las malas.

A los catedráticos de la escuela profesional de Odontología por quienes he llegado a obtener los conocimientos necesarios para poder desarrollarme como profesional. Nos ayuda a vivir del sueño de superarnos y cumplir nuestras expectativas, y de siempre ir por la constante mejora, para ser mejores seres humanos.

*Tania y Mayda*

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	III
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	IV
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b> .....	V
<b>RESUMEN</b> .....	VI
<b>ABSTRACT</b> .....	VII
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. REVISION DE LITERATURA</b> .....	3
<b>2.1.- ANTECEDENTES</b> .....	3
Antecedentes internacionales .....	3
Antecedentes nacionales.....	5
Antecedentes locales .....	7
<b>2.2.- MARCO TEÓRICO</b> .....	8
2.2.1.- Caries dental.....	8
2.2.1.1.- Etiología de caries dental .....	8
2.2.1.2.- Factores de caries dental .....	8
a.- Dieta.....	9
b.- Huésped: saliva, diente, inmunización y genética.....	10
c.- Microorganismos .....	11
2.2.2.- Streptococcus mutans.....	12
2.2.2.1.- Factores de virulencia.....	13
2.2.3.- Candidiasis oral.....	15
2.2.3.1.- Características clínicas .....	15
2.2.3.2.- Etiopatogenia.....	16
2.2.4.- Cándida albicans .....	16
2.2.4.1.- Etiología .....	17

2.2.4.2.- Diagnóstico.....	17
2.2.4.3.- Medio de cultivo.....	18
2.2.4.4.- Tratamiento.....	19
2.2.5.- Propoleo .....	19
2.2.5.1.- Composición química del propoleo.....	20
2.2.5.2.- Propiedades y actividad biológica.....	21
2.2.5.3.- Características físico químicas .....	25
2.2.5.4.- Mecanismo de acción .....	25
2.2.5.5.- Dosis .....	26
2.2.5.6.- Efectos adversos.....	26
2.2.5.7.- Usos en odontología .....	27
<b>2.3.- HIPÓTESIS .....</b>	<b>28</b>
<b>2.4.- OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
2.4.1.- Objetivo general .....	28
2.4.2.- Objetivos específicos.....	28
<b>III. MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>29</b>
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
4.1. RESULTADO.....	49
4.2. DISCUSIÓN.....	58
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>61</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>66</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>FIGURA N° 1</b> Triada de Keyes. ....	9
<b>FIGURA N° 2</b> Panal de Abejas.....	31
<b>FIGURA N° 3</b> Pesaje de los 100 mg del Propóleo .....	32
<b>FIGURA N° 4</b> Mezcla del Propóleo y alcohol .....	33
<b>FIGURA N° 5</b> Envoltura del matraz con papel aluminio. ....	33
<b>FIGURA N° 6</b> Maceración del Propóleo por 15 días .....	34
<b>FIGURA N° 7</b> Decantación del Propóleo. ....	34
<b>FIGURA N° 8</b> Filtración con Papel Whatman N° 04 del Propóleo .....	34
<b>FIGURA N° 9</b> Concentraciones del Extracto de Propóleo .....	35
<b>FIGURA N° 10</b> Recolección de la muestra de saliva. ....	36
<b>FIGURA N° 11</b> Recolección de la muestra de dentina.....	37
<b>FIGURA N° 12</b> Siembra del S. Mutans en Agar sangre.....	38
<b>FIGURA N° 13</b> Siembra del <i>Candida albicans</i> en Agar sangre. ....	39
<b>FIGURA N° 14</b> Discos de sensibilidad.....	39
<b>FIGURA N° 15</b> Discos de sensibilidad con el extracto de Propóleo.....	40
<b>FIGURA N° 16</b> Pesaje del agar Mueller hinton.....	41
<b>FIGURA N° 17</b> Mezcla del agar con agua destilada. ....	41
<b>FIGURA N° 18</b> Preparación del agar Mueller hinton.....	41
<b>FIGURA N° 19</b> Verter el agar en placas Petri. ....	42
<b>FIGURA N° 20</b> frotis de S. mutans en el agar Mueller hinton.....	42
<b>FIGURA N° 21</b> Colocación de discos de sensibilidad impregnados en extracto de Propóleo.....	43
<b>FIGURA N° 22</b> Frotis de S. mutans en el agar Mueller hinton. ....	43

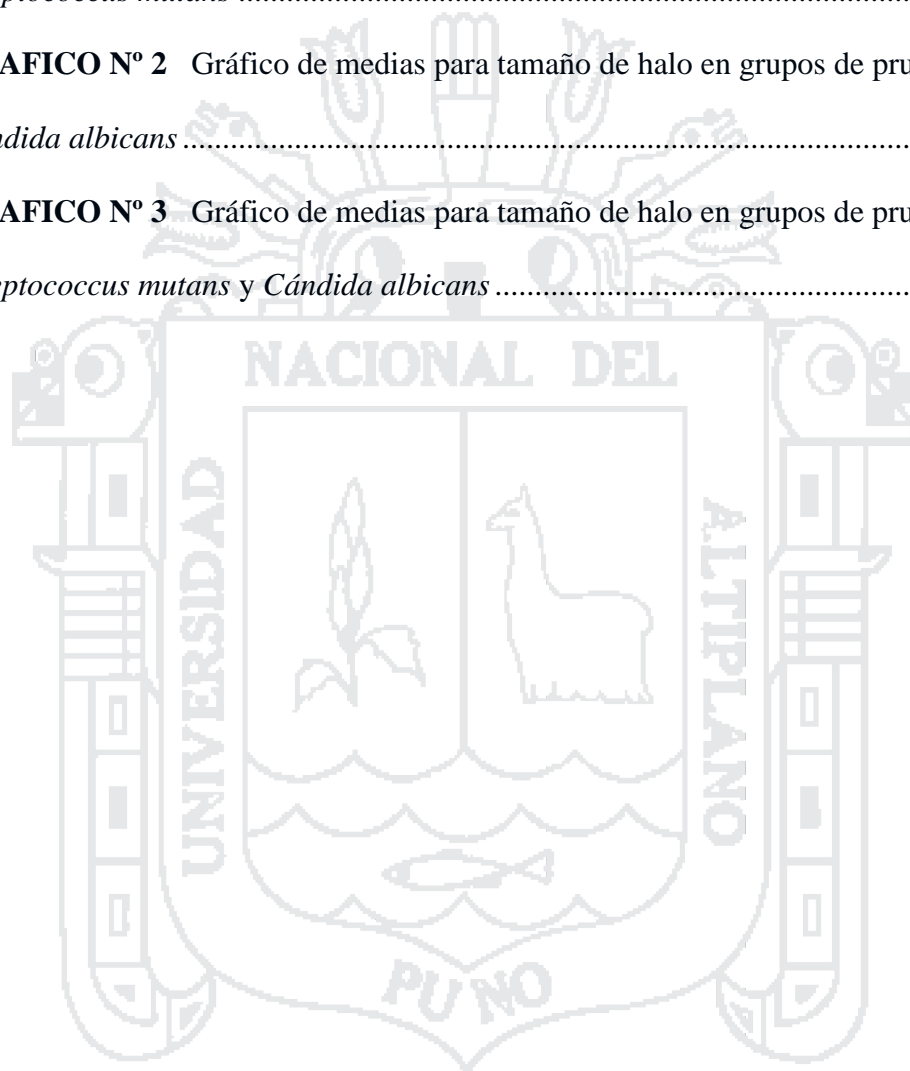
## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>TABLA N° 1</b> Efecto inhibitorio de extracto de propóleo a la concentración de 25%, 50%, 75%, 100% frente a <i>Streptococcus mutans</i> .....	49
<b>TABLA N° 2</b> Efecto inhibitorio de extracto de propóleo a la concentración de 25%, 50%, 75%, 100 % frente a <i>Streptococcus mutans</i> (pruebas post hoc).....	51
<b>TABLA N° 3</b> Efecto inhibitorio de extracto de propóleo a la concentración de 25%, 50%, 75%, 100% frente a <i>Cándida albicans</i> .....	52
<b>TABLA N° 4</b> Efecto inhibitorio de extracto de propóleo a la concentración de 25%, 50%, 75%, 100% frente a <i>Cándida albicans</i> (Pruebas post hoc) .....	54
<b>TABLA N° 5</b> Efecto inhibitorio del propóleo entre <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i> a las diferentes concentraciones .....	55
<b>TABLA N° 6</b> Efecto inhibitorio del propóleo entre <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i> a las diferentes concentraciones. (Pruebas post hoc) .....	57



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>GRAFICO N° 1</b> Gráfico de medias para tamaño de halo en grupos de prueba para <i>Streptococcus mutans</i> .....	50
<b>GRAFICO N° 2</b> Gráfico de medias para tamaño de halo en grupos de prueba para <i>Cándida albicans</i> .....	53
<b>GRAFICO N° 3</b> Gráfico de medias para tamaño de halo en grupos de prueba entre <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i> .....	56



## RESUMEN

El trabajo de investigación, se realizó con el objetivo de determinar 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, UNA – Puno - 2016, teniendo un diseño de estudio experimental, racional, de tipo prospectivo, transversal, comparativo y grupo control. Empleando un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia. Esta investigación se inició con la obtención de la extracto etanólico de Propóleo a diferentes concentraciones. Las cepas de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* fueron aisladas de muestras que se obtuvieron de pacientes con caries dentales activas y portadores de prótesis respectivamente, siendo viabilizadas e identificadas. Los microorganismos ya mencionados se expusieron a distintas concentraciones de extracto de propóleo de 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*.

**PALABRAS CLAVE:** Efecto inhibitorio, *Streptococcus mutans*, *Cándida albicans*, Propóleo.

## ABSTRACT

The research work was carried out in order to determine the inhibitory effect of ethanol extract of propolis on microorganisms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* colonize the oral cavity of adult patients of the Dental Clinic, A - Puno - 2016, having a experimental design, rational, prospective, transversal, comparative study and control group. Using a type of non-probability convenience sample. This investigation began with obtaining the ethanol extract of propolis at different concentrations. *Streptococcus mutans* strains of *Candida albicans* and were isolated from samples obtained from patients with active caries and dental prosthesis carriers respectively, made viable and identified. The microorganisms mentioned above were exposed to different concentrations of propolis extract 25%, 50%, 75%, 100%, for 24 hours to determine the inhibitory effect using the Kirby Bauer method. With the result that the inhibitory halo for *Streptococcus mutans* is from all levels, starting from 25% with a halo of inhibition of 7.5 mm, 50% with 10.5 mm, 75% with 11.7 mm and 100% with 14.25 mm; *Candida albicans* while for the inhibition halo is from 50% concentration with 6.95 mm, 75% with 8.6 mm and 100% with 11.8 mm. It is concluded that propolis ethanolic at higher concentrations has a higher inhibitory activity both *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*.

**KEYWORDS:** Inhibitory effect, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, Propolis.

## I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad del sistema estomatognático con mayor prevalencia en la población mundial, por lo que constituye uno de los mayores problemas de salud pública. La caries es una entidad patológica, infecciosa, crónica, progresiva y transmisible, de origen multifactorial, que es producida por la acción de microorganismos de la placa bacteriana, los cuales por su metabolismo producen ácido, especialmente por la fermentación de hidratos de carbono, originando la desmineralización gradual del esmalte seguida de la destrucción proteolítica rápida de la estructura dental, hasta llegar a la pérdida total del diente. Los principales microorganismos de la placa bacteriana implicados en el inicio y desarrollo de la caries son: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp.* y *Actinomyces sp.*<sup>1</sup>

El *Streptococcus mutans* presenta diferentes características que son determinantes en su cariogenicidad, que son muy importantes en la colonización y mantenimiento de esta bacteria sobre el diente; posee elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y congregación; la producción y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que le permite obtener energía y producir ácido durante largos períodos de tiempo; rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos; poder acidógeno, acidófilo y acidúrico; también puede conseguir un pH crítico para la desmineralización del esmalte de manera más rápida que otro microorganismo de la placa.<sup>2</sup>

La candidiasis es la más común de las infecciones micóticas orales causadas por *Cándida*, un microorganismo obligado en humanos y constituyente normal de la flora del tracto digestivo y vaginal. Diversos estudios han demostrado que la infección ocurre por invasión tisular, ya sea por introducción de un estado hipersensitivo o por producción de una potente toxina. Existen factores predisponentes para la aparición de la candidiasis que incluyen la malnutrición, infecciones concurrentes, tratamiento con antibióticos e inmunosupresores, alteraciones sistémicas como resultado de una inmunodepresión y factores locales como prótesis mal ajustadas y maceraciones crónicas.<sup>3</sup>

Con el advenimiento de nuevas técnicas bacteriológicas, surgió la necesidad de crear nuevos y más confiables tratamientos dentro de los cuales, en diversos estudios, el gluconato de clorhexidina presenta mejores resultados en su capacidad de inhibir el crecimiento de *Streptococcus Mutans*, pero con el inconveniente de producir efectos tóxicos locales como: tinción de dientes y obturaciones, pigmentación del dorso de la lengua y con menor frecuencia, descamación de la mucosa bucal, gusto amargo o modificación gustativa, sensación de quemadura, sequedad bucal e inflamación ocasional y transitoria de la parótida.<sup>4</sup>

En este sentido, la medicina tradicional, trata de buscar alternativas de solución a enfermedades bucales, con productos apícolas, económicos y prácticos. Dentro de estos productos, encontramos diversos estudios con propóleo, donde entre sus efectos cabe destacar: efecto antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiinflamatorio, analgésico, cicatrizante, estimulando y favoreciendo la regeneración tisular, sobre un importante número de microorganismos. Asimismo, algunos estudios ponen de manifiesto una gran susceptibilidad de ciertos patógenos a la acción del propóleo, esta actividad depende de su procedencia y de la especie bacteriana evaluada.<sup>5</sup>

El presente estudio se realizó in vitro, para determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de Propóleo a diferentes concentraciones, sobre las cepas de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*; de ahí que existe una gama de estudios que comprueban su acción antimicrobiana, atribuyendo dicho efecto a la presencia de principios activos como los flavonoides, flavononas.

De acuerdo con los resultados obtenidos, este estudio servirá como una alternativa, que beneficie a la población peruana en especial de bajos recursos económicos, además de eso presenta menos efectos adversos y es de fácil acceso para la preservación de la salud bucal, así como establecer una base en la futura elaboración de un producto aplicable en la práctica odontológica, empleando como en este caso un recurso abundante en nuestro país.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES

#### ANTECEDENTES INTERNACIONALES

**Carrillo y col. (2011), (Ciudad Valles, México).** Evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y acuosos de propóleos recolectados en la Huasteca Potosina, en México. Se usaron cepas de microorganismos Gram negativos: *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Klebsiella pneumoniae*; y microorganismos Gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus agalactiae*. La concentración mínima bactericida (CMB) de cada extracto se determinó con el método de dilución en tubo. La CMB del extracto etanólico fue 0.93 mg mL<sup>-1</sup> para las Gram positivas y 7.5 mg mL<sup>-1</sup> para las Gram negativas; en el extracto acuoso fue 20 mg mL<sup>-1</sup> para Gram positivas y 30 mg mL<sup>-1</sup> para Gram negativas. Los extractos etanólicos del Propóleo tienen una actividad antibacteriana significativamente mayor que los extractos acuosos, y esta actividad depende de su procedencia y de la especie bacteriana evaluada.<sup>6</sup>

**Madhubala y col. (2011), (Tamilnadu, India).** Evaluaron y compararon la actividad antimicrobiana del hidróxido de calcio, mezcla triantibiótica (MTA) y un extracto etanólico de propóleos, como medicamentos intracanal en conductos radiculares infectados por *Enterococcus faecalis*. Los experimentos fueron realizados utilizando 120 incisivos sanos permanentes de pacientes, y se realizó la preparación quimio-mecánica del canal radicular. Después de la esterilización de las muestras, se inocularon con un cultivo puro de *E. faecalis* y se incubaron. Las muestras se dividieron aleatoriamente en cinco grupos (n = 24), hidróxido de calcio (grupo 1), MTA (grupo 2), propóleos (grupo 3), etanol (grupo 4), y solución salina como el grupo de control (grupo 5). La eficacia antibacteriana de los diferentes medicamentos intracanal se registró mediante la determinación del porcentaje de reducción en los recuentos de colonias (% RCC) al final del día 1,



2, y 7. Se concluyó que el Propóleo fue más eficaz que el MTA contra *E. faecalis* en un periodo de tiempo de 2 días, y ambos eran igual de efectivos a los 7 días.<sup>7</sup>

**Mier y col, (2011), (La Habana, Cuba).** Evaluaron la efectividad del propóleos como irrigante en la terapia endodóntica. Fue estudio analítico de utilización del medicamento con el objetivo de evaluar los resultados del tratamiento de la tintura hidroalcohólico de propóleos al 5 % como irrigante en el tratamiento endodóntico de dientes monorradiculares. Se conformaron 2 grupos de pacientes de ambos sexos, entre los 20 - 39 años de edad; que acudieron a consulta en el período de enero 2010 al julio 2011. Al grupo estudio se irrigó el Propóleo al 5 % y al grupo control la clorhexidina acuosa al 0,2% Con la primera aplicación del medicamento en ambos grupos la mayoría de los pacientes experimentaron mejoría. A los 21 días de tratamiento todos los pacientes tratados tenían los conductos en condiciones de ser obturados. El estudio demostró la efectividad del propóleos como irrigante en tratamientos pulporradiculares de estos pacientes.<sup>8</sup>

**Bolla y col. (2012), (Guntur, India).** Compararon la eficacia de una pasta dental de clorhexidina y propóleos como medicamentos de conducto radicular contra *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*. Bajo estrictas condiciones de asepsia, el muestreo microbiológico se realiza utilizando métodos de difusión en agar y dilución en caldo de sensibilidad antibacteriana. Se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tres medicamentos utilizados contra *Enterococcus faecalis* y *Cándida albicans*. Por último, se concluyó que la odontopasta tiene mejor eficacia antibacteriana frente a *Enterococcus faecalis* seguido de la clorhexidina y el Propóleo muestra una eficacia parcial antifúngica contra *Cándida albicans*.<sup>9</sup>

**García y col. (2014), (Mérida, Venezuela).** Eliminación de *Cándida albicans* con Extracto Etanólico de Propóleo comercial de *Apis mellifera* del estado Mérida, en bases de Prótesis Parciales Removibles. El objetivo de esta investigación fue determinar la efectividad de los EEP comerciales en el estado Mérida, para la eliminación de *C. albicans* en muestras de resina acrílicas duras de PDR. Se probaron EEP de diferentes proporciones (20%, 30%, 40%). Se realizaron dos pruebas: la desinfección de las muestras de acrílico sumergidas en los diferentes EEP por 5min, 10min, 15min, 20min y 8 h, posteriormente se realizó

la difusión de agar con porcillo para determinar los halos de inhibición. Se encontró en un primer tiempo que en las placas de Petri se presentó crecimiento de *C. albicans* solamente en el control; en segundo tiempo de difusión en agar, el EEP al 20% formó el halo de inhibición de menor tamaño, los EEP al 30% y 40% produjeron halos inhibitorios de forma irregular y se evidenciaron crecimiento de *C. albicans* a partir de 24 h. Se encontró la efectividad de EEP en la inhibición de *C. albicans* con 5min de inmersión de las muestras de PPR. Los EEP al 20% mostraron una inhibición del crecimiento de *C. albicans* y al 30% y 40% tuvieron actividad antifúngica de tipo fungicida frente al *C. albicans*.<sup>10</sup>

### ANTECEDENTES NACIONALES

**Mayta- Tovalino y col. (2009), (Lima, Perú).** Evaluaron el efecto antibacteriano del extracto de Propóleo de Oxapampa- Perú, determinaron *in vitro* su acción antibacteriana frente al *Streptococcus mutans* y *Stafilococcus aureus* para enfrentarlas a las soluciones: 10% y 30% y compararlas con los testigos clorhexidina al 0,12%, 0,05%, listerine® y agua destilada, mediante el método de Kirby- Bauer. Se determinó que para el *Staphylococcus aureus*, el Propóleo al 30% presento mayor eficacia con una media de  $11,77\text{mm}\pm 0,19$  y se encontró que las dos concentraciones de Propóleo a las 24 y 48 horas mostraron diferencia significativa. Además, se determinó que para el *Streptococcus mutans* tanto el Propóleo al 10% y 30% a las 24 y 48 horas no mostraron diferencia significativa. Se concluyó que el Propóleo al 30% tuvo mayor efecto antibacteriano que el Listerine® contra el *streptococcus mutans*.<sup>11</sup>

**Calderon A. (2010), (Lima, Perú).** Actividad antibacteriana in vitro de soluciones de Propóleo etanólico sobre dos bacterias periodontopatogenas frecuentes en la enfermedad gingivoperiodontal. Determino la actividad antibacteriana in vitro de soluciones de Propóleo Etanólico a diferentes concentraciones sobre dos bacterias *Porphyromona gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* para comprobar la actividad antibacteriana del Propóleo a sus diferentes concentraciones del 5% -15% - 30%, Los resultados mostraron que todas las concentraciones de Propóleo Etanólico presentaron actividad antibacteriana; con promedios para el Propóleo Etanólico al 5% de 17.15 mm,



para el Propóleo Etanólico al 15% de 22 mm y en menor diámetro para el Propóleo Etanólico al 30% de 15.9 mm. Se concluye que el Propóleo Etanólico al 15% presentó una mayor actividad antibacteriana, mientras que al 30% se observó una disminución en esta, debido que a mayores concentraciones de Propóleo este tiende a saturarse y por lo tanto disminuir su actividad antibacteriana.<sup>12</sup>

**De la Cruz (2013), (Trujillo, Perú)** Evaluó la actividad antimicótica del extracto etanólico de Propóleo sobre el crecimiento in vitro de *Cándida albicans*. 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 *Cándida 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.<sup>13</sup>

**León y col. (2014), (Lima, Perú)** Efecto antifúngico in vitro sobre el crecimiento en *cándida albicans* ATTC 90028, *cándida glabrata* ATCC 90030 y *cándida krusei* ATCC 6258 expuestas al propóleos de Oxapampa a las 24, 48 y 120 horas. El presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto antifúngico del extracto etanólico del propóleos de Oxapampa in vitro sobre las cepas de *Cándida albicans* ATTC 90028, *Cándida glabrata* ATCC 90030 y *Cándida krusei* ATCC 6258, a las 24, 48 y 120 horas. Se utilizó el método de agar dilución en placas con controles negativo y positivo; y se realizaron lecturas a las 24, 48 y 120 horas. El extracto etanólico de Oxapampa, con una concentración mínima inhibitoria de 12 mg/ml al 5, 10, 15, 20, 25 y 30 %, presenta inhibición completa en el crecimiento in vitro contra las cepas de *Cándida albicans* ATTC 90028, e inhibición parcial en el crecimiento de los otros tipos *Cándida*, como *Cándida glabrata* ATCC 90030 y *Cándida krusei* ATCC 6258, observadas a las 24, 48 y 120 horas

( $p < 0,05$ ). En este estudio podemos concluir que el extracto etanólico de propóleos (EEP) de Oxapampa presenta actividad antifúngica in vitro contra las cepas de *Cándida albicans* ATTC 90028. <sup>14</sup>

**Jara R. (2014), (Lima, Perú).** Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de cinco propóleos peruanos sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). 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. 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”, 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. Resultados: El extracto metanólico de Propóleo de Oxapampa presentó halos de inhibición de mayor tamaño con una media de 33.15 + 3.26 mm frente a las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), para el *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) su media fue de 23.23 + 0.82 mm. En el caso de los 4 extractos de Propóleo comerciales, sólo 3 de ellos (Tintura de Propóleo Farmagel, Madre Natura y Kaita®), tuvieron actividad antibacteriana frente a las cepas estudiadas, en todos los casos la actividad antibacteriana es menor que el control (+). Conclusiones: 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). <sup>1</sup>

## ANTECEDENTES LOCALES

No se encontraron antecedentes.

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. CARIES DENTAL**

La caries es una enfermedad infecciosa, transmisible y multifactorial, que conduce a la pérdida de minerales de los tejidos duros susceptibles del diente, por acción de productos ácidos provenientes de la fermentación de los hidratos de carbono de la dieta por la actividad metabólica del biofilm adherido a la superficie dentaria.<sup>1</sup>

La OMS define a la caries dental como el reblandecimiento del tejido duro del diente que va evolucionando hasta la formación de una cavidad, afectando la salud general y la calidad de vida de los individuos, convirtiéndose en un problema de salud pública por la alta prevalencia a nivel mundial.<sup>16</sup>

#### **2.2.1.1. ETIOLOGÍA DE CARIES DENTAL**

Si bien es cierto que la caries dental es una enfermedad multifactorial, esta se fundamenta en las características e interrelaciones de los llamados factores básicos, etiológicos, primarios o principales: dieta, huésped y microorganismos. Posteriormente algunos autores, señalan que existen factores moduladores, los cuales contribuyen e influyen decisivamente en el surgimiento y evolución de las lesiones cariosas, entre ellos se encuentran: tiempo, edad, salud general, fluoruros, grado de instrucción, nivel socioeconómico, experiencia pasada de caries, grupo epidemiológico y variables de comportamiento.<sup>17</sup>

Los microorganismos, los carbohidratos fermentables y las alteraciones estructurales de los dientes, sumado a una susceptibilidad marcada del huésped son factores que interactúan en la aparición de lesiones cariosas.<sup>17</sup>

#### **2.2.1.2. FACTORES DE CARIES DENTAL**

La caries dental es una enfermedad multifactorial, consiste en un proceso dinámico de desmineralización-remeneralización (des-re) que involucra la interacción entre el calcio y fósforo, las estructuras dentales y la saliva (placa

fluida) en función de ácidos producidos por la fermentación de los carbohidratos, por acción de los microorganismos orales.<sup>17</sup>

Son aquellos factores cuya interacción se considera indispensable para la aparición de la enfermedad, ya que de otro modo es imposible que ésta se produzca (Figura N° 1).<sup>18</sup>



**Figura N° 1** Triada de Keyes. *Adaptado de:* Henostroza G. Caries dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. Primera Edición. Perú. Editorial Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007

#### **A.- DIETA**

Los nutrientes indispensables para el metabolismo de los microorganismos provienen de los alimentos. Entre ellos, los carbohidratos fermentables son considerados como los principales responsables de su aparición y desarrollo. Más específicamente la sacarosa, que es el carbohidrato fermentable con mayor potencial cariogénico y además actúa como el sustrato que permite producir polisacáridos extracelulares (fructano y glucano) y polisacáridos insolubles de la matriz (mutano). Está demostrado que la causa de caries dental es la frecuencia de consumo de carbohidratos fermentables más que la cantidad total de carbohidratos consumidos, teniendo mención especial la adhesividad del alimento que contiene los carbohidratos. La caries avanzará más rápidamente si el consumo frecuente de azúcares se mantiene durante mucho tiempo, o si existe una deficiencia grave de factores protectores naturales. En algunas circunstancias, la adición de ácidos muy erosivos puede exacerbar considerablemente el problema.<sup>17</sup>

## B.- HUÉSPED: SALIVA, DIENTE, INMUNIZACIÓN Y GENÉTICA

**Saliva.** Es un fluido propio de la región bucal y constituye el principal sistema de defensa del huésped contra la caries. Se ha demostrado que al disminuir el flujo salival, se incrementa el nivel de lesiones de caries dental. Además, este riesgo puede verse aumentado también en niños que presentan menor cantidad de flujo salival o mala calidad.<sup>18</sup> La cantidad de saliva que secretan las glándulas salivales está regida por el cerebro, es por ello que la salivación no estimulada normalmente se inhibe durante el sueño, el miedo o la depresión. Es por ello, que si además a esto se agrega el consumo nocturno de azúcares, el riesgo de Caries es mayor.<sup>18</sup>

**Diente.** Quienes presentan particularidades fuertemente relacionadas a favorecer el desarrollo de caries dental. Entre estas particularidades se encuentran la anatomía de sus superficies, la alineación de los dientes y su textura, que pueden favorecer la acumulación de la biopelícula dental y dificultar la higiene bucal.<sup>14</sup> También debemos tener en cuenta la solubilización de minerales que comienza en la parte más superficial del esmalte; a este nivel los prismas son ricos en fosfato de calcio y carbonatos de calcio, pero a medida que avanza la lesión al interior se va encontrando con presencia de carbonatos.<sup>17</sup>

**Inmunización.** Existen indicios que el sistema inmunitario es capaz de actuar contra la microflora cariogénica, produciendo respuesta mediante anticuerpos del tipo inmunoglobulina A salival y respuesta celular mediante linfocitos T como en otros ámbitos, las diferencias en la respuesta inmune a los microorganismos dependen tanto el antígeno como del huésped.<sup>17</sup>

**Genética.** Según la sociedad de la genética se estima que aproximadamente la contribución genética a la caries dental es de aproximadamente un 40%. Los factores predisponentes a la caries dental son sumamente variados lo que hace difícil que intervenga un solo gen. Una alternativa para identificar los genes candidatos como los principales es la revisión del genoma, ya que de otra forma no se podría asociar al proceso de caries dental. Los factores primarios no son los únicos causantes de la caries dental, existen otros factores como son los factores etiológicos modulares, los cuales si bien no causan directamente la enfermedad,

contribuyen con el riesgo a presentar la misma. A continuación se definirán solo algunos factores:

**Tiempo.-** Para que se desarrolle la caries, se necesita de la interacción de los factores primarios y su permanencia en un determinado tiempo.<sup>15</sup> Sin embargo existen otros factores adicionales a los factores etiológicos primarios mencionados, como son: Edad, salud general, grado de instrucción, nivel socioeconómico, experiencia pasada de caries, grupo epidemiológico y variables de comportamiento.<sup>18</sup>

**Edad.-** debido a que las piezas dentales deciduas tienen características diferentes las piezas permanentes y las piezas permanentes de una paciente senil generalmente presenta diferentes características a las de un adolescente.<sup>18</sup>

**Estado de salud general.-** ya que existen enfermedades y medicamentos que influyen en el flujo salival y/o en las defensas.<sup>18</sup>

**Fluoruros.-** debido a que en determinadas cantidades promueven la remineralización de los tejidos dentales, elevan el pH y ejercen una acción antibacteriana.<sup>17</sup>

### C.- MICROORGANISMOS

Entre los microorganismos relacionados a la caries dental se encuentra el *Streptococcus mutans*, al mismo que se lo analizará posteriormente.<sup>18</sup>

Los microorganismos son indispensables para la iniciación de la caries dental; es así como la cavidad oral del recién nacido no tiene cepas de microorganismo cariogénicos, los cuales se creen son transmitidos de la madre al bebé o de una persona muy cercana a él, mediante la saliva, ya sea por besos o por la utilización de los mismos elementos de alimentación.<sup>19</sup>

La cavidad bucal contiene una de las más variadas y concentradas poblaciones microbianas del organismo. Se estima que en ella habitan más de mil especies,



cada una de ellas representada por una gran variedad de cepas y que en  $1\text{mm}^3$  de biofilm dental, que pesa 1 mg, se encuentran  $10^8$  microorganismos. Entre las bacterias presentes en la boca se encuentran tres especies principalmente relacionadas con la caries: Streptococcus, con las especies *S. mutans*, *S. sobrinus* y *S. sanguinis* (antes llamado *S. sanguis*); Lactobacillus, con las subespecies *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum* y *L. oralis* y los Actinomicetes, con las subespecies *A. israelis* y *A. naslundii*.<sup>17</sup>

Entre las cuales las principales bacterias que intervienen en la formación de la caries dental son:

### 2.2.2. STREPTOCOCCUS MUTANS.

El *Streptococcus mutans* es uno de los microorganismos asociados a la caries dental, fue aislado por primera vez por Clarke en 1924, mientras analizaba dentina cariada.<sup>2</sup> Se caracteriza por ser Gram positivo, anaerobio facultativo que forman parte de la placa bacteriana, también se caracteriza por ser acidófilo, acidogénico y acidúrico, además tiene la capacidad de generar polisacáridos extracelulares y por ende favorecer la adhesión del mismo a las piezas dentales.<sup>4</sup>

Produce ácido láctico, propiónico, acético y fórmico al metabolizar la sacarosa, glucosa y fructosa, de tal forma que los mencionados ácidos circulan por la placa dental hasta el esmalte poroso, en donde liberan hidrogeniones, que disuelven el mineral del esmalte, formando calcio y fósforo que salen del esmalte, todo esto denominado como desmineralización.<sup>4</sup>

Los Streptococcus son bacterias que presentan forma de coco, crecen en cadenas o en parejas, no tienen movimiento, no forman esporas y generalmente reaccionan positivamente a la coloración de gram. El *S. mutans*, que ha sido el más aislado en lesiones cariosas en humanos, es el primero en colonizar la superficie del diente después de la erupción. Su nombre lo recibe de su tendencia a cambiar de forma pudiéndose encontrar como coco, de forma más alargada, como bacilo.<sup>17</sup>

El *S. mutans* presenta diferentes características que son determinantes en su cariogenicidad, entre éstas tenemos: la producción de polisacáridos extracelulares

a partir de la sacarosa, en especial los glucanos insolubles que son muy importantes en la colonización y mantenimiento de esta bacteria sobre el diente; posee elementos que determinan fenómenos de adhesión, agregación y congregación; la producción y metabolización de polisacáridos intracelulares, lo que le permite obtener energía y producir ácido durante largos períodos de tiempo; rápido metabolismo de los azúcares a ácido láctico y otros ácidos orgánicos; poder acidógeno, acidófilo y acidúrico; también puede conseguir un pH crítico para la desmineralización del esmalte de manera más rápida que otro microorganismo de la placa.<sup>19</sup>

#### 2.2.2.1. FACTORES DE VIRULENCIA

1. **Acidogenicidad:** El *S. mutans* puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. Esto hace que baje el pH y se desmineralice el esmalte dental.
2. **Aciduricidad:** Es capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.
3. **Acidofilicidad:** El *S. mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H)<sup>+</sup> fuera de la célula. esta condición hace que el microorganismo cambie su fisiología.<sup>2,4</sup>
4. **Síntesis de glucanos y fructanos:** Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa. Los glucanos insolubles pueden ayudar a la célula a adherirse al diente ser usados como reserva de nutrientes.
5. **Síntesis de polisacáridos intracelulares:** la célula almacena glucógenos que, ante la falta de ingreso de azúcar por vía exógena con la dieta, puede metabolizarse por la acción de la glucogenofosforilasa. Ante un incremento de productos intermediarios de la glucólisis.



6. **Producción de dextranasa:** además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano. La infección ocurre generalmente por miembros de la familia especialmente por la madre.<sup>2</sup>
7. **Adhesinas:** *S. mutans* presenta adhesinas de superficie de la familia de adhesinas Spa también llamada de antígeno I /II participan en el proceso de adherencia a las glicoproteínas salivales y a otros microorganismos.
8. **Proteína asociada a la pared celular (Wap A):** le permite adherirse a las caras libres de las piezas dentinarias y participar en la adherencia dependiente de la sacarosa, pero su papel en la cariogénesis no es claro.
9. **Bacteriocinas:** *S. mutans* produce diversas bacteriocinas, mutacinas, que participan de un proceso de competición microbiana. Las mutacinas inhiben a las microorganismos comensales competidores, como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, y aún a otras especies de streptococcus del grupo mutans juegan un papel importante, en la transferencia de cepas más o menos virulentas.<sup>2</sup>

**Lactobacillus.** Presentan poca afinidad por las superficies dentarias y, en consecuencia, no se los implica en el comienzo de las caries de esmalte; no obstante, son los primeros relacionados con el avance de las caries de dentina; actúan principalmente como “invasores secundarios” que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente en la lesión cariosa.<sup>2</sup>

**Actinomicetes.** Poseen en la capacidad de formar levanos a partir de la sacarosa; los levanos representan un elemento de nutrición más que de adherencia. Relacionados con lesiones cariosas radiculares, raramente inducen caries en esmalte, producen lesiones de progresión más lenta que los otros microorganismos.<sup>2, 17</sup>

### 2.2.3. CANDIDIASIS ORAL

Es la más común de las infecciones micóticas orales causadas por *Cándida*, un microorganismo obligado en humanos y constituyente normal de la flora del tracto digestivo y vaginal. Un síntoma muy común lo constituye la sensación de "quemazón" en la mucosa afectada. La candidiasis es una de las afecciones más comunes que afecta la mucosa oral. Tiene 4 formas clínicas de presentación: Pseudomembranosa, Eritematosa, Hiperplásica y candidiasis profunda.<sup>3</sup>

#### 2.2.3.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Las infecciones de *C. albicans* en la cavidad bucal presentan cuadros clínicos muy variados y suelen dividirse en candidiasis superficiales y candidiasis profundas,<sup>20</sup> la primera puede afectar a la mucosa bucal y labial, paladar duro y blando y a la lengua, en niños y adultos mayores, a esta infección se la denomina candidiasis pseudomembranosa, debido a que presenta pseudomembranas,<sup>21</sup> las cuales están formadas de células epiteliales descamativas y necróticas, numerosos micelios de *C. albicans*, presentan un color blanquecino cremoso, los cuales pueden removerse fácilmente con una gasa, dejando un fondo sanguinolento, por presentar ese aspecto también se lo llama muget.<sup>2</sup>

Otro tipo de candidiasis superficial es la candidiasis eritematosa que se localiza en la parte media dorsal de la lengua y en el paladar, cuando se localiza en el paladar se presenta como una zona roja generalizada de tejido atrófico que provoca una sensación de quemazón y cuando se presenta en la lengua tiene un aspecto liso y rojo carnosos debido a la hipotrofia de papilas filiformes, esta condición está asociada a la administración de antibióticos de amplio espectro y va a causar ardor y sensibilidad cuando se ingiera comida o líquidos calientes, ácidos, picantes o saladas.<sup>22</sup>

Las candidiasis profundas son aquellas que afectan a las mucosas del aparato digestivo, al aparato urinario, al peritoneo, pulmonar, oculares y al sistema nervioso central,<sup>20</sup> además la candidiasis puede presentar otras formas clínicas como son: queilitis angulares que es una infección bilateral de las comisuras

labiales que se presenta como manchas rojas o blancas y grietas que provocan la disminución de la dimensión vertical, otra forma en la que se presenta es la hiperplásica que es una placa de superficie lisa de color rojo con un punteado blanco amarillento y se localizan en el paladar, dorso y laterales de la lengua y en las comisuras labiales.<sup>22</sup>

#### **2.2.3.2. ETIOPATOGENIA**

La bibliografía moderna plantea que la candidiasis oral obedece a *Cándida albicans*, *Cándida tropicallis* y *Cándida glabrata*. Diversos estudios han demostrado que la infección ocurre por invasión tisular, ya sea por introducción de un estado hipersensitivo o por producción de una potente toxina. Existen factores predisponentes para la aparición de la candidiasis que incluyen la malnutrición, infecciones concurrentes, tratamiento con antibióticos e inmunosupresores, alteraciones sistémicas como resultado de una inmunodepresión y factores locales como prótesis mal ajustadas y maceraciones crónicas.<sup>3</sup>

La candidiasis puede afectar a personas de cualquier sexo y de cualquier edad, siendo la más común la candidiasis oral que en ocasiones se propaga por la faringe, laringe o por vía sanguínea, la cual puede producir cuadro grave al llegar a zonas profundas,<sup>2</sup> la transmisión entre personas es posible, como en el caso del muget del recién nacido que puede adquirirlo por la vagina materna y como también se la puede adquirir en el ambiente hospitalario, por lo que también se la conoce a esta infección como oportunista.<sup>22</sup>

#### **2.2.4. CÁNDIDA ALBICANS**

Los hongos del género *Cándida* son levaduras, las cuales no presentan pigmentación carotenoide o melánico, pueden producir pseudohifas o hifas verdaderas, podemos encontrarlas en la microflora oral normal de la cavidad bucal; en la lengua, paladar, mucosa oral; en el estómago, intestino, vagina y en el ambiente, los hongos de este género presentan células de forma redondeadas u oval de 3 a 5  $\mu\text{m}$ , son gram positivas, aerobias,<sup>19</sup> su medio de cultivo apropiado

es el agar de Sabourand con elementos nutritivos como la glucosa y la peptona, con un pH ácido de 5,6 a 7,2 y a una temperatura entre los 20°C y los 38°C.<sup>2</sup>

Estos microorganismos tienen la capacidad de crecer y multiplicarse fácilmente y además tienen diversas formas de cómo causar daño al hombre y a los animales, entre estas tenemos la liberación de toxinas que es de gran importancia debido a que estos tienen la capacidad de producir hepatotoxinas y neurotoxinas que son mortales y como también pueden causar alteraciones gastrointestinales, otra forma de dañar es la invasión y proliferación en los tejidos, produciendo una respuesta inmune a los antígenos fúngicos, y la última acción patógena es la sensibilización, con desarrollo de una respuesta alérgica frente a los antígenos del hongo.<sup>2</sup>

#### **2.2.4.1. ETIOLOGÍA**

Los hongos son huéspedes normales del ser humano, pero para que este microorganismo se transforme en patógeno es necesario que haya una alteración en la inmunidad del huésped, entre las causas que provocan estas alteraciones pueden ser intrínsecas que son propias del individuo como son la diabetes, SIDA, neoplasias, tabaquismo, drogadicción, embarazo, vejez y las extrínsecas son aquellas que necesitan un tratamiento prolongado de antibióticos, radiaciones, canalizaciones que favorecen la enfermedad.<sup>21</sup>

#### **2.2.4.2. DIAGNÓSTICO**

Cuando se sospecha la presencia de candidiasis es necesario realizar pruebas de laboratorio con técnicas directas como son exámenes microscópicos, cultivos e identificación, en el caso de realizar exámenes microscópicos de la cavidad bucal es necesario realizar un raspado en la zona de la lesión con un hisopo,<sup>2</sup> se puede utilizar cualquier tipo de tinción microbiológica, entre las más utilizadas está el cloruro de metiltioninio (azul de metileno), la cual va a permitir ver las células de las levaduras, y como también la tinción de Gram, además hay otra tinción hematológica que permite observar este tipo de células es la de Giemsa.<sup>20</sup>

Los cultivos son realizados con las muestras orales, las cuales van a ser cultivadas en agar de la dextrosa Sabouraud, teniendo como ventaja que solo crecerán hongos de género *Cándida*, debido a que presenta un pH ácido.<sup>21</sup> La identificación de *C. albicans* se puede dar por una prueba de filamentación donde se va a observar la presencia de tubos germinativos, otra prueba es la formación de clamidosporas, aquí veremos un micelio verdadero y a lo largo de este aparecen clamidosporas.<sup>20</sup>

#### 2.2.4.3. MEDIO DE CULTIVO

El aislamiento del hongo en un cultivo inicia con una correcta toma de muestra, esta es diferente en zonas superficiales húmedas donde solo se requiere frotar con una torunda de algodón sobre la zona lesionada, mientras que en las zonas superficiales secas es necesario realizar un raspado de la zona lesionada con un instrumento de borde agudo.<sup>20</sup>

El medio de cultivo debe ser apropiado y contener agua, sales, nitrógeno que se obtienen de nitratos, sales de amonio y proteínas, además debe tener carbono que se obtiene de los 28 polisacáridos, disacáridos, monosacáridos o alcoholes, de igual forma debe presentar minerales como los fosfatos de sodio, fosfato de potasio, sulfato ferroso, sulfato de amonio, sulfato de magnesio y cloruro de sodio.<sup>2</sup>

De todos los medios de cultivo utilizados para aislar *Cándida* en micología se utiliza el medio convencional que es el agar de Sabouraud que contiene glucosa y peptona como elementos nutritivos, además tiene un pH ácido que ayuda a frenar el desarrollo de bacterias que puedan existir en la muestra, en este medio se puede o no utilizarse antibióticos, en el caso de utilizar antibióticos estos pueden ser cloranfenicol o gentamicina que impide el desarrollo de bacterias, además se puede añadir cicloheximida para evitar el desarrollo de hongos saprófitos ambientales.<sup>20</sup>

#### 2.2.4.4. TRATAMIENTO

Al saber que la candidiasis oral es una infección oportunista debemos identificarla y eliminarla, pero antes de esto debemos prevenirla y esto se da cuando recomendamos a los pacientes a que tengan una adecuada higiene oral, enseñarles a que le den una correcta limpieza a sus placas, prótesis o implantes dentales, si presenta xerostomía se recomendará la administración de saliva artificial e inclusive disminuir la ingesta de carbohidratos.<sup>2</sup>

El tratamiento recomendado es la utilización de antimicóticos polienos entre estos tenemos a la nistatina y la anfotericina B que son fungicidas y tienen un espectro muy amplio, se los puede administrar tópicamente, por vía oral en suspensiones, pastilla o intravenosa, otro tipo de antimicóticos son los azoles que son fungistáticos estos son fluconazol e itraconazol.<sup>21</sup>

Además, como un tratamiento alternativo tenemos las infusiones, la de té verde al presentar las catequinas va a provocar que haya una desorganización de los componentes de su pared celular, además las catequinas ECG y EGCG van a inhibir la enzima glucosiltransferasa bacteriana, responsable de la síntesis de glucanos, y estos a la vez son los responsables de la adherencia bacteriana a la superficie dental, ayudando de esta manera a que no haya adherencia de *Cándida albicans* a la placas Hawley.<sup>23</sup>

#### 2.2.5. PROPOLEO

Se da el nombre de Propóleo, debido a que en griego significa defensor de la ciudad, entendida esta como sinónimo de colmena. Se trata de una resina cética, de composición compleja y consistencia viscosa, que las abejas recolectan de los árboles y utilizan en la construcción, reparación, aislamiento y protección de su colmena.<sup>5</sup>

El Propóleo es una sustancia resinosa que las abejas *Apis mellifera* adultas producen para garantizar la total asepsia de la colmena. Entre las especies de abejas que producen propóleos están: *Apis mellifera*, *Melipona quadrifasciata*, *Melipona compressipes*, *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona sp.* Sin embargo



está demostrado que los propóleos de las abejas africanas (*Apis mellifera*) presentan mayor efectividad antimicrobianas que las abejas europeas.<sup>24</sup>

Las abejas (*Apis mellifera*), recogen con sus mandíbulas, partículas resinosas de las yemas, brotes y pecíolos de las hojas de diferentes vegetales (olmo, álamo, sauce, abedul, castaño de Indias, pino, abeto, roble y algunas herbáceas) que, una vez en la colmena, mezclan con cera y secreciones salivares para obtener el própolis, cuya producción anual (10-300 g/colmena) difiere en función de la variedad de abejas, el clima, la flora y el dispositivo de recogida.<sup>5</sup>

### 2.2.5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PROPOLEO

La composición química del propóleo es sumamente compleja y no se conoce totalmente porque depende de la flora de la región donde es recolectado; esto influye en la forma en que es utilizado dentro de la colmena ya que puede servir como sustancia embalsamadora o de recubrimiento de la colmena. Esto significa que distintas partes de la colmena tendrán diferente composición del propóleo, por lo que será muy difícil encontrar dos colmenas que produzcan propóleos idénticos aun cuando estén ubicadas en la misma zona geográfica, puesto que lo elaboran de acuerdo a sus necesidades y fuentes de materia prima disponibles.<sup>25</sup>

Esta sustancia resinosa es de composición heterogénea, entre los estudios realizados a ésta han sido identificados 150 a 180 sustancias distintas esto ha sido atribuido a que su constitución depende de la flora, ciclo evolutivo de la planta proveedora de la resina, microorganismos presentes en el entorno y factores climatológicos,<sup>26, 27, 28</sup> razones por las cuales cada colmena produce propóleos diferentes.

Esta resina se compone básicamente de; según:

- ❖ 50-55% de resinas y bálsamos.
- ❖ 30-40% de cera de abeja.
- ❖ 5-10% de aceites esenciales o volátiles.
- ❖ 5% de polen.
- ❖ 5% de materiales diversos (orgánicos y minerales) <sup>26</sup>

Los flavonoides son pigmentos vegetales, sintetizados a partir del aminoácido fenilalanina, que generalmente exhiben brillantes colores como el de los pétalos de las flores. La mayoría de las veces emiten fluorescencia cuando son excitados por la luz UV, y se localizan en las células de las plantas verdes. Los flavonoides son usados por los botánicos para clasificación taxonómica. Ellos regulan el crecimiento de las plantas e influyen en otras células biológicas de diversas maneras. Los flavonoides inhiben o destruyen muchas especies bacterianas, inhiben importantes enzimas virales, tales como la transcriptasa reversa y otras diversas proteasas, y además, destruyen algunos importantes protozoos. Poseen actividad antialérgica, antiinflamatoria, antioxidante, atrapadora de radicales libres, antimutagénica y moduladora de actividad enzimática.<sup>29</sup>

Además, se puede decir que aportan grandes beneficios para la salud al actuar como agentes quimiopreventivos en cáncer y prevención de ataques al corazón. Su toxicidad a células animales es baja. Muchos profesionales están incrementando el uso de flavonoides puros para tratar muchas importantes enfermedades, debido a su comprobada habilidad de inhibir enzimas específicas, simular algunas hormonas y neurotransmisores, y eliminar radicales libres.<sup>29</sup>

Según el instituto de Química Orgánica de Moscú, su análisis químico ha arrojado la presencia de un gran número de sustancias minerales y oligoelementos, primordialmente en forma de radicales libres o asociados a formas proteicas, entre los cuales se distinguen: aluminio, bario, boro, bismuto, cobalto, calcio, cobre, cromo, estaño, estroncio, fósforo, hierro, litio, manganeso, molibdeno, níquel, plata, plomo, potasio, selenio, silicio, titanio, vanadio, yodo y zinc. Muchas de estas sustancias desempeñan un papel importante a nivel de numerosas vías metabólicas celulares.<sup>25</sup>

#### **2.2.5.2. PROPIEDADES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

El propóleo es un producto de extraordinario interés para la medicina e industria farmacéutica, al que se atribuyen efectos antiinflamatorios, inmunoestimulantes, hepatoprotectores, carcinoestáticos, antimicrobianos, antivirales, antifúngicos,



antiprotozoarios, anestésicos, de regeneración tisular, antioxidantes y anticariogénicas.<sup>30</sup>

**CUADRO 1:** Propiedades farmacológicas del Propóleo

PROPIEDAD	RESPONSABLE	ACCIÓN
<b>Antimicótico</b>	Pinocembrina, Galangina, ácido acético y caféico	Efectivo sobre 24 géneros de Cándidas, especialmente Cándida albicans, también estimula macrófagos aumentando su fungosidad.
<b>Antibacterial</b>	Pinocembrina, Galangina, Kaemferol y ácido caféico	Bactericida y bacteriostático, frente a todos los Gram + y algunos Gram –, in vivo o in vitro, actúan frente a la motilidad bacteriana (flavonoides y compuestos cinámicos) e inactivación de hialuronidasas.
<b>Antiséptico</b>	Ácido Benzóico	Se puede emplear como antiséptico en el tratamiento preventivo de la Candidiasis bucal.
<b>Antiviral</b>	Ácido caféico, luteolina y quercetina	Reduce la síntesis del ARN Viral y su acción es frente al herpes tipo 1 y 2, poliovirus, el reovirus, la influenza y enfermedades virales zoonóticas (viruela vacuna, , fiebre del Valle de Rift enfermedad de Newcastle, infección bursal, y virus de la gripe Hong Kong)
<b>Inmunoestimulante</b>	Flavonoides	Estudios in vivo demostraron que inducen la activación de receptores específicos de membrana, comunicación intercelular, quimiotaxis, modulación en la secreción de inmunoglobulinas, proliferación, diferenciación y crecimiento celular.

PROPIEDAD	RESPONSABLE	ACCIÓN
<b>Antiasmático</b>		Esto se debe a su acción sobre el sistema inmune, así como por su capacidad de inhibir la liberación de histamina.
<b>antitóxico</b>	Ácido ferúlico, ácido cinámico y ácido coumárico	Modula la actividad enzimática y supresión genotoxicidad de muchos productos químicos, propuesto en el uso contra cáncer.
<b>Antiprotozoaria</b>		Inhibe las infecciones contra los macrófagos peritoneales y de las células miocárdicas, así como contra el Trypanosoma cruzi (parásito cardíaco).
<b>Antiparasitaria</b>		Refiriéndose a actividad coccidiostática, efectividad sobre la escabiosis en conejos (sarna producida por un ácaro)
<b>Citotoxicidad e inhibición de tumores</b>	Ácido Caféico, fenetil ester, quercetina y crisina	Propóleos verdes del área de Brasil.
<b>Anestésico local</b>	Pinocembrina y esterres de cafeato	Efecto mayor que la novocaína 1%, inyectado de forma local.
<b>Metabolismo de minerales</b>	Flavonoides,	Junto con el polen optimizan la digestión del Fe así como en la regeneración de la hemoglobina, principalmente en el período de recuperación de un síndrome anémico, también es favorable para el metabolismo fósforocálcico, manteniendo niveles óptimos de Magnesio
<b>Curación de heridas</b>	Ácidos Fenólicos y flavonoides	Cicatrizo acelerando la epitelización a través de la biosíntesis proteica y estimulando la mitosis (Arginina)

PROPIEDAD	RESPONSABLE	ACCIÓN
<b>Antioxidante</b>	ácido caféico y fenetil éster	Protegen a los aceites y lipoproteínas séricas de la oxidación esto se debe a su actividad antiradicalaria (radicales alcoxi y, en menor grado, superóxido) y al efecto inhibitor sobre el ión cuproso, iniciador de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, sus efectos los ejercen en el colon, disminuyendo la concentración de hidroxidrogenasas lipídicas, también algunos compuestos son absorbidos a la circulación, actuando de forma hidrofílica y aumentan la concentración tisular de vitamina C.
<b>Antiinflamatorio y analgésica</b>	Flavonoides (galangina, kaempferol y kaempferida) y ácido caféico	Actúan sobre la producción de eicosanoides (inhibe la vía de la lipooxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico), in vitro, suprimiendo la generación de prostaglandinas y de leucotrienos en macrófagos peritoneales, y in vivo, en la inflamación peritoneal aguda inducida por la zimosina. También disminuyen la actividad de la ciclooxigenasa en macrófagos.
<b>Promueve el desarrollo de colágeno y elastina</b>	Ácido ferúlico	Esto se debe a que en sangre aumenta la concentración sérica de vitamina C que permite su síntesis.

**Fuente:** (Farré, Sanchez, & Frasquet, 2004) y (Vázquez, 2010), los mismos que citaron a varios autores.<sup>5, 31</sup>

### 2.2.5.3. CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS

Chaillou y col. al analizar las propiedades físicas de una muestra de propóleo de Argentina, determinaron lo siguiente:<sup>30</sup>

#### 1. Características organolépticas:

El 100% presentó estructura homogénea, el 45% presentó un aspecto de trozos irregulares con brillo, el 30 % con poco brillo, y el resto trozos irregulares opacos. Los ensayos de consistencia mostraron que el 45% de las muestras eran poco blandas, el 40% duras y solamente un 15% blandas. Con respecto al color, el 65% de las muestras presentaron color marrón oscuro, un 20% marrón claro con tintes amarillos, un 10% con tintes castaños. El olor del 75% de las mismas fue resinoso, y el sabor de la totalidad de los propóleos fue picante.

#### 2. Punto de fusión:

Los valores encontrados para las diferentes regiones en estudio fluctuaron entre los 64°C y 89.5°C, con un promedio de 70°C. Su punto de fusión varía entre 60 ° C a 70 ° C, llegando en algunos casos hasta 100 ° C.

#### 3. Impurezas mecánicas, ceras y resinas:

El valor medio de impurezas mecánicas analizadas fue de 24,063%, contenido de cera promedio, de 30,048% y el porcentaje de resinas, 44,770%.

#### 4. Índices de oxidación, compuestos fenólicos y flavonoides:

El rango de valores del índice de oxidación osciló entre los 4 y 18 Segundos, el promedio fue de 9,8 segundos.<sup>30</sup>

### 2.2.5.4. MECANISMO DE ACCIÓN

Es importante tener en claro el mecanismo con el cual se consigue la muerte bacteriana, motivo por el cual es interesante mencionar que esta propiedad depende mucho del disolvente, la concentración y del método de extracción que se usa, ya que modifica esta propiedad, los extractos etanólicos al 60-80% inhiben

el crecimiento microbiano, al 70- 80% tienen una mayor actividad antioxidante y al 80% inactivan en su mayoría la hialuronidasa.<sup>5</sup>

En otros estudios observaron que la acción antibacteriana utilizaba varios mecanismos, tales como la formación de complejos streptocócicos pseudomulticelulares, desorganización del citoplasma, de la membrana plasmática, y de la pared celular, bacteriolisis parcial, e inhibición de la síntesis de proteínas.<sup>30</sup>

En relación a la cualidad antibacteriana del propóleo describió claramente el mecanismo de acción y específicamente de los flavonoides pinocembrina (flavonone) y galangina (flavonoles), así también del fenil éster, ácido caféico, los cuales básicamente inhiben el ARN polimerasa bacteriana (Transcripción genética), mientras que la galangina específicamente degrada la membrana citoplasmática bacteriana, esto conduce a una pérdida de iones de potasio lo que provoca autólisis de la célula bacteriana, en cambio la quercetina, aumenta la permeabilidad de la membrana lo que disipa su potencial esto hace que la bacteria pierdan su capacidad de motilidad, transporte de membrana y síntesis de ATP, haciéndolas más vulnerables al ataque inmunológico y potenciando a los antibióticos. Aunque el mecanismo de acción del propóleo ha sido identificado con algunas de sus componentes, es mucho lo que falta por investigar así que cada una de sus propiedades se consideran como el resultado de una sinergia de todos sus componentes.<sup>32</sup>

#### **2.2.5.5. DOSIS**

La dosis terapéutica segura del propóleo en humanos para uso oral es de 5 mg/kg de peso/día. Para uso externo, se puede administrar ad libitum (a placer). No se han encontrado contraindicaciones.<sup>28</sup>

#### **2.2.5.6. EFECTOS ADVERSOS.**

Las reacciones adversas a la aplicación local de propóleo son escasas y se refieren generalmente a reacciones alérgicas de hipersensibilidad de tipo dermatitis de

contacto. Se han descrito hasta la fecha un total de 250 casos de alergias por dermatitis de contacto al propóleo. Los reportes generalmente se describen con dermatitis en las zonas palmares y dedos, correspondiente a la manipulación de partes de la colmena que contienen propóleo, o bien, se han visto reacciones alérgicas en la mucosa oral, mucositis orales agudas con ulceraciones, debido a la ingesta de grageas o gotas de propóleo.<sup>30</sup>

Existen criterios que consideran que el propóleo presenta actividad antialérgica y no debe ser considerado como alérgeno ya que es el flavonoide quercitina el agente que impide la desgranulación del mastocito y la reacción alérgica la atribuyen a los vehículos o sustancias con las que mezclan el propóleo, aunque no se debe descartar la presencia de restos del alérgeno apitoxina en el propóleo.<sup>27</sup>

#### 2.2.5.7. USOS EN ODONTOLOGÍA

Entre las aplicaciones que tiene en la especialidad de Maxilo Facial in vivo los propóleos Cubanos han sido usados a manera de colutorios dos veces al día con un porcentaje de éxito, en pacientes con gingivitis 96%, Alveolitis post extracción 100%, 20 estomatitis subprotésica palatina grado III (crio aplicación y electroexéresis) 100% en 24 horas, estomatitis 100%, también la aplicación de crema como cicatrizante con 50% de éxito.<sup>27</sup>

En relación (Farré, Sanchez, & Frasquet, 2004) citando a Giamalia I, Steinberg D, Grobler S, Gedalia I. (1999) mencionó un dato interesante y es que en estudios in vitro es remineralizante del esmalte dentario ya que incrementan significativamente el valor del test de dureza de Vickers, también el mismo autor refirió, citando a Bankova V. (2000), Santos F.A. et al. (2002), Koo H. et al. (2002) y (Koo, y otros, 1999), su uso como anestésico local también para tratar la periodontitis bacteriana, así como inhibidor de la glucosiltransferasa del *S. sanguis* y *S. mutans*, además que existe mayor actividad contra el género *Actynomices*.<sup>32</sup>

De la cruz M. realizó un estudio de la actividad micótica del extracto etanólico del Propóleo frente a la *Candida albicans* donde observo que la actividad del Propóleo a concentraciones elevadas tenia mejores resultados siendo la concentración al

100% la de mayor efecto antimicótico presento, pero este no fue superior al medicamento sintético nistatina utilizada como referencia.<sup>13</sup>

### 2.3. HIPÓTESIS

“Dado que a mayor concentración del extracto etanólico de Propóleo, tendrá mayor efecto inhibitorio sobre los microorganismos que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos que acuden a la Clínica Odontológica UNA Puno – 2016”

### 2.4. OBJETIVOS

#### 2.4.1. OBJETIVO GENERAL

-Determinar el efecto inhibitorio del extracto de Propóleo sobre los microorganismos de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos de la Clínica Odontológica, UNA Puno - 2016.

#### 2.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100 % frente a *Streptococcus mutans*.
2. Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100 % frente a *Cándida albicans*.
3. Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo entre *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* a las diferentes concentraciones.



### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. TIPO DE ESTUDIO

Esta investigación fue experimental, racional, de tipo prospectivo, con grupo control, transversal, y comparativo, orientada hacia la evaluación del comportamiento de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* bajo diferentes concentraciones del extracto de Propóleo. Empleando un tipo de muestreo no probabilístico por conveniencia.

#### 3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA DE INVESTIGACIÓN.

**POBLACION:** La población estuvo conformada por 40 pacientes con caries activa y portadores de prótesis dentales, que acudieron a la clínica Odontológica de la UNA- Puno que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.

**MUESTRA:** La muestra fue seleccionada por conveniencia en grupos de 5 pacientes hasta identificar los microorganismos de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*

##### **Criterios De Inclusión**

- Pacientes con alto índice de caries.
- Pacientes con caries profunda.
- Pacientes que no hayan tenido una limpieza dental por 3 días.
- Pacientes portadores de prótesis.

##### **Criterios de Exclusión:**

- Pacientes que estaban bajo tratamiento farmacológico hace 15 días.
- Pacientes bajo tratamiento con colutorios y/o geles de clorhexidina u otro antiséptico bucal, o flúor.
- Pacientes que consumían goma de mascar cuatro o más días a la semana.



**3.3. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.**

VARIABLE	DIMENSIONES	NATURALEZA DE LA VARIABLE	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
<b>INDEPENDIENTE</b> -Efecto antibacteriano del extracto de Propóleo	-Inhibir el desarrollo y crecimiento de microorganismos evaluados	-Diferentes concentraciones del extracto de Propóleo	-Directa	-Razón (25%, 50%, 75%, 100%)	-Concentración del extracto etanólico de Propóleo
<b>DEPENDIENTE</b> - <i>Streptococcus mutans</i> - <i>Cándida albicans</i>	- Concentración mínima Inhibitoria	-Cualitativa	-Directa	-Ordinal	-Halos de inhibición del crecimiento microbiano medido en milímetros de diámetro.

**3.4. INSTRUMENTOS**

Se utilizará como instrumento para la recolección de datos:

FICHA 1: “FICHA CLINICA DE SELECCIÓN”. Donde solo los pacientes ya seleccionados donantes de la muestra, consignan datos, antecedentes personales. (Anexo 1)<sup>13</sup>

FICHA 2: “CONSENTIMIENTO INFORMADO”. Importante ya que en este documento el paciente da su consentimiento y se compromete a cumplir lo indicado en dicho documento. (Anexo 2)<sup>13</sup>

FICHA 3: “FICHA DE APLICACIÓN” Elaborado por el investigador, donde los datos obtenidos en laboratorio serán registrados, todos estos de manera codificada. (Anexo 10)<sup>13</sup>

### 3.5. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

La recolección de datos estuvo a cargo de los investigadores, según los criterios de inclusión y exclusión, realizando previamente las coordinaciones con el Biólogo a cargo del laboratorio ORION. Las técnicas empleadas fueron con la supervisión y control continuo por parte del director de tesis y Biólogo del Proyecto de Investigación.

#### A. OBTENCION Y PREPARACION DE LA SOLUCION ETANOLICA DE PROPOLEO

##### **Recolección e identificación del Propóleo:**

Se realizó en las colmenas del bosque de la provincia de Sandía, departamento Puno, ubicada a una altitud de 2950 msnm, cuya foresta proporcionan fuente principal de resina a partir de las cuales las abejas elaboran el Propóleo.

Las abejas que residen en estas colmenas son del genero *Apis Mellifera* y la recolección fue mediante la “técnica del raspado” (con espátula).

Se almacenó el Propóleo en bolsas oscuras, para que no pierda sus propiedades.



**Figura N° 2** Panal de Abejas

**Fuente:** Investigación

**Traslado al laboratorio:**

Colocados de manera conjunta en bolsas oscuras alejados de la luz, se transportó hacia el laboratorio ORION.

**Selección y/o eliminación de impurezas:**

La materia prima debe estar libre de impurezas burdas (astillas, extremidades, tórax o alas de las abejas, así como de material de desecho).

**Congelado:**

Se congeló la masa de Propóleo a temperatura de  $-20$  A  $-40$  °C por 48 horas.

**Pesado del Propóleo:**

Se pesó la cantidad necesaria de Propóleo para obtener el extracto puro.



**Figura N° 3** Pesaje de los 100 mg del Propóleo

**Fuente:** investigación

**Maceración del Propóleo:**

Se colocó en matraz de 1000 ml la cantidad de 100mg de propóleo y 100ml de alcohol posteriormente bien cubierto con papel aluminio en un lugar seco y fresco, alejado de la luz, durante un periodo de 15 días, agitándolos varias veces en el día.<sup>13</sup>



**Figura N° 4** Mezcla del Propóleo y alcohol  
**Fuente:** investigación



**Figura N° 5** Envoltura del matraz con papel aluminio.  
**Fuente:** Investigación

### **Filtrado:**

Terminado el proceso de maceración, la solución etanólico sobrenadante se decanta cuidadosamente y se filtró previamente a través de papel de filtración rápida. Se somete a temperatura de refrigeración durante 24 h y se procedió a la filtración final con papel de filtración rápida, obteniéndose el EEP 100%.



**Figura N° 6** Maceración del Propóleo por 15 días  
**Fuente:** Investigación



**Figura N° 7** Decantación del Propóleo.  
**Fuente:** Investigación



**Figura N° 8** Filtración con Papel Whatman N° 04 del Propóleo  
**Fuente:** Investigación

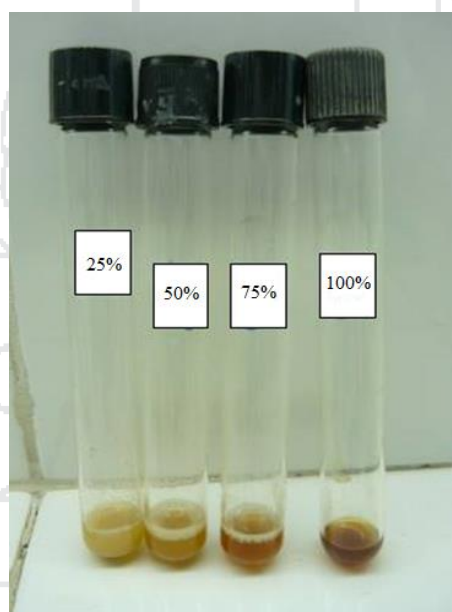


**Elaboración de las concentraciones del extracto de Propóleo:**

Las concentraciones extracto de Propóleo se diluyeron en etanol de 96°.

**CUADRO N° 2.** Concentraciones del extracto de propóleo

CONCENTRACIÓN	ALCOHOL ETANÓLICO	EXTRACTO DE PROPÓLEO
100%	0 $\mu$ l	100 $\mu$ l
75%	25 $\mu$ l	75 $\mu$ l
50%	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l
25%	75 $\mu$ l	25 $\mu$ l

**Figura N° 9** Concentraciones del Extracto de Propóleo

**Fuente:** Investigación

**B. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.**

La recolección de muestras fue de pacientes adultos de la Clínica Odontológica UNA- Puno, específicamente de la clínica de endodoncia, y de la clínica de Prótesis parcial y removible, que hayan cumplido los criterios de inclusión y exclusión.

### 1. Técnica de recolección de datos.-

Una vez obtenido el “consentimiento Informado” Ficha N°2 (Anexo 2), se procedió al llenado de la Ficha N°1, donde la técnica a realizar fue mediante la entrevista con preguntas cerradas y el examen clínico (Odontograma).

### 2. Procedimiento de recolección de muestra de saliva.-

Se solicitó que depositen saliva dentro de un recipiente estéril, cada recipiente se rotuló con el número de muestra. Las muestras de saliva obtenidas de esta manera se trasladaron refrigeradas al laboratorio ORION (4°C), para su inmediato procesamiento microbiológico. Se dio 30 min. Para el traslado.



**Figura N° 10** Recolección de la muestra de saliva.

**Fuente:** Investigación.

### 3. Procedimiento de recolección de muestra de dentina infectada

La muestra de dentina infectada se tomó de pacientes, previa autorización y firma del consentimiento informado. La muestra se extrajo con una cureta de dentina N° 57 estéril y se colocó en medio de transporte de biolitos, y se mantuvo refrigerado hasta su llegada al laboratorio donde se procedió a su cultivo e identificación.





**Figura N° 11** Recolección de la muestra de dentina.

**Fuente:** Investigación.

### **C. AISLAMIENTO DE LAS CEPAS DE *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*.**

#### **Siembra de la muestra salival y dentina infectada sobre Agar Sangre**

##### **Desarrollo**

1. Se desinfectó la zona de trabajo con alcohol y una gasa.
2. Se dividió la caja petri en cuadrantes.
3. Dentro de la zona de seguridad y con la ayuda de una micropipeta se tomó 20  $\mu$ l de la muestra salival y dentina infectada y se colocó en el cuadrante I, II, III, IV.
4. Se esperó a que la muestra salival y dentina infectada colocada sobre el Agar neutro.
5. Se colocó las cajas petri en la jarra de anaerobiosis improvisada por un frasco de vidrio, un vaso con 10 ml de agua con bicarbonato de sodio, ácido cítrico y ácido acetil salicílico además de una vela encendida, se cierra herméticamente el frasco y se coloca en la estufa de cultivo durante 24 horas a 37°C.
6. Después de incubar durante 24 horas se sacaron de la jarra improvisada de anaerobiosis las cajas petri y se contaron las colonias formadas.

7. Una vez que se han contado las colonias nuevamente se colocaron dentro de la estufa de cultivos durante 24 horas a 37 °C.
8. Después de cumplir las 24 horas en condiciones de aerobiosis se volvió a contar las colonias de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*.

### Siembra de *Streptococcus mutans* en agar sangre

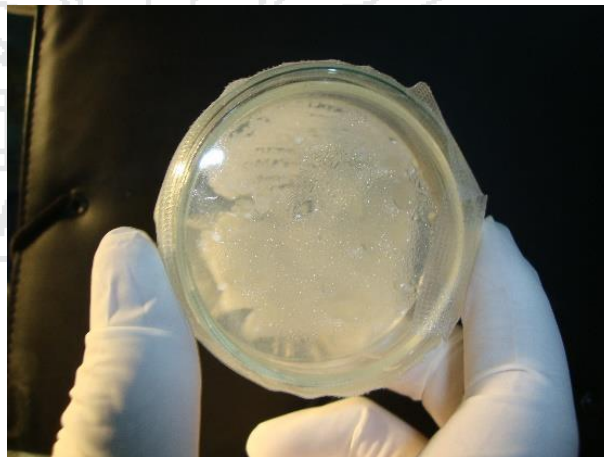
1. En una lámina porta objeto se colocó una gota de solución salina.
2. Mediante una asa de colle se obtuvo una porción de colonia del cultivo de agar sangre y se homogenizó en la gota de solución salina donde después se dejó secar al medio ambiente.
3. Se añadió colorante cristal violeta durante un minuto luego se lavó a chorro de agua suave, se añadió lugol y se esperó un minuto
4. Se añadió colorante alcohol acetona durante un minuto luego se lavó a chorro de agua suave, se añadió lugol y se esperó un minuto.
5. Se añadió colorante safranina durante un minuto luego se lavó a chorro de agua suave, se añadió lugol y se esperó un minuto para dejarlo secar a temperatura ambiente.
6. Se Observó al microscopio con objetivo de inmersión
7. Se visualizaron cocos de color rojizo el cual nos dio la confirmación de cadenas Gram positivos.



**Figura N° 12** Siembra del *S. Mutans* en Agar sangre.  
**Fuente:** Investigación

### Siembra de *Cándida albicans* en Agar Sabouraud Dextrosa

1. Se sembró en agar Sabouraud Dextrosa y se observó el crecimiento de 24 a 48 horas.<sup>14</sup>
2. Obtenido el crecimiento del hongo, se procedió a su identificación morfológica celular, mediante las técnicas de observación microscópica y mediante el uso de tinta china la cual se identificó y conservó hasta su procesamiento.<sup>14</sup>



**Figura N° 13** Siembra del *Cándida albicans* en Agar sangre.  
**Fuente:** Investigación

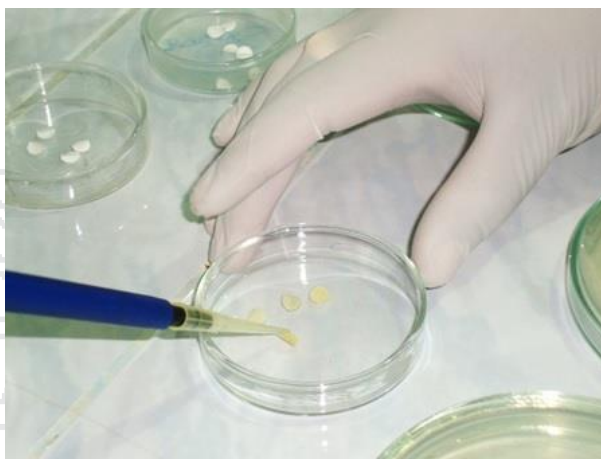
### D. PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD

1. Se obtuvieron discos a partir de papel filtro Whatman N° 4 con 6 mm de diámetro con un perforador y se colocaron en frascos estériles.



**Figura N° 14** Discos de sensibilidad.  
**Fuente:** Investigación

2. Los discos se empaparon con 20  $\mu$ l del extracto de Propóleo preparados a diferentes concentraciones (100 mg/ml, 75 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml), luego se dejaron secar. Posteriormente se colocaron en placas Petri estériles y diferenciaron las concentraciones de los discos de sensibilidad para evitar confusiones.



**Figura N° 15** Discos de sensibilidad con el extracto de Propóleo.  
**Fuente:** Investigación

3. Se colocó a T° ambiente y en un lugar seco hasta su uso.<sup>12</sup>

#### **E. PRUEBA DE LA INHIBICIÓN *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans***

##### **Método de difusión en agar según Kirby Bauer**

##### **Fundamento:**

Es un estudio de susceptibilidad por difusión en disco. Un disco que tiene una cantidad específica de antimicrobiano, es aplicado a una superficie de agar inoculado con un microorganismo. El antimicrobiano difundió desde el disco al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición en la cual una concentración crítica de antimicrobiano inhibió el crecimiento bacteriano, la zona de inhibición fue medida y se relacionó inversamente con la concentración mínima inhibitoria.<sup>12</sup>

##### **Procedimiento:**

1. Se preparó en medio agar Mueller hinton.



**Figura N° 16** Pesaje del agar Mueller hinton.  
**Fuente:** Investigación



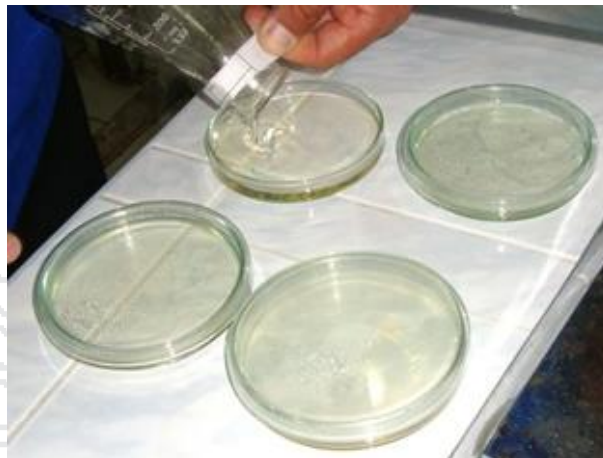
**Figura N° 17** Mezcla del agar con agua  
destilada.  
**Fuente:** Investigación



**Figura N° 18** Preparación del agar Mueller  
hinton.  
**Fuente:** Investigación



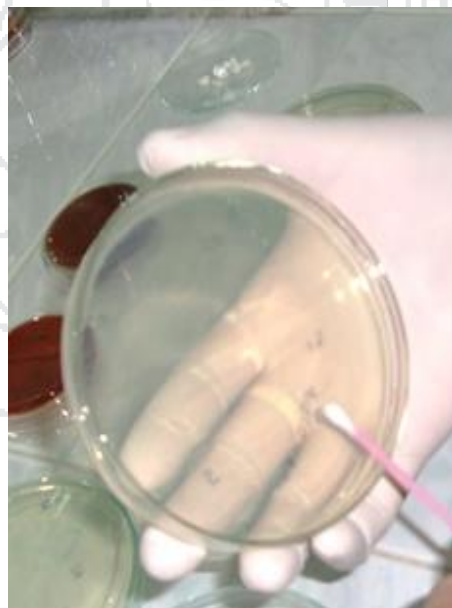
2. Se vertió el medio en placas Petri estériles aproximadamente 25 ml por placa, dejando endurecer y colocándolas en la incubadora por 24 horas.



**Figura N° 19** Verter el agar en placas Petri.

**Fuente:** Investigación

3. Una vez enfriado la placa, se procedió a inocular los microorganismos sobre la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estirando con el hisopo.



**Figura N° 20** Frotis de *S. mutans* en el agar Mueller hinton.

**Fuente:** Investigación

4. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos.
5. Luego se colocaron los discos de sensibilidad impregnados en extracto de Propóleo en sus diferentes concentraciones.



**Figura N° 21** Colocación de discos de sensibilidad impregnados en extracto de Propóleo.

**Fuente:** Investigación

6. Se colocaron las 40 placas Petri por especie a 37° C en la incubadora por 12 horas.



**Figura N° 22** Placas Petri por especie con los discos de sensibilidad

**Fuente:** Investigación

### 3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- La confianza es la base de la investigación ética. La dignidad y el bienestar de los individuos que participan en la investigación deben ser una preocupación central de cada persona involucrada en el proyecto de investigación. La persona que dirige la investigación es últimamente responsable por la conducta de la investigación, el rendimiento del proyecto y la protección de los derechos y el bienestar de los sujetos. El Institutional Review Boards (IRB) o Junta de



Revisión Institucional tiene la potestad para la aprobación de investigaciones, en caso que necesite ganar la aprobación de IRB como parte de la evaluación de su comunidad.

- La información recolectada fue manejada de manera confidencial por el investigador, así como su publicación y presentación de datos se efectuó en forma anónima.
- Al ejecutar la presente investigación se contó con la participación voluntaria, autorizada por escrito de los sujetos a estudio así como su información necesaria acerca de los fines, métodos, beneficios e incomodidades derivadas de la investigación. (ANEXO 2: “CONSENTIMIENTO INFORMADO”).
- En cuanto a lo social no se ocasionó ningún daño epidemiológico de los participantes, puesto que los materiales clínicos utilizados son estériles y desechables con lo cual se aseguró el bienestar de los participantes sin ninguna injuria por parte de los investigadores.

### **3.7. DISEÑO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

#### **Prueba de ANOVA**

Se procedió al plan de análisis de datos de acuerdo a la secuencia:

- 1.- Una vez elaborada la base de datos codificada se hizo los análisis, cruces de variables y pruebas estadísticas.
- 2.- La información recolectada se procesó mediante el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión en español de Windows. Utilizando además una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2007 para la representación gráfica correspondiente.

La prueba estadística ANOVA, es el análisis de varianza que nos ayuda a determinar diferencias significativas de una misma solución a diferentes concentraciones.

La representación gráfica fue expresada en gráficos de líneas, mientras que el análisis de datos se presentó en tablas en forma numérica y porcentual de acuerdo a las variables de estudio.

### 3.8. ÁMBITO GENERAL DE ESTUDIO

El departamento de Puno está situado en el sureste del país y comprende principalmente territorios de sierra en la meseta del Collao, así como una importante porción de selva y yungas al norte. Su ubicación geográfica es: latitud sur: 16° 00' 35" y longitud oeste: entre los meridianos 71° 06' 57" y 68° 48' 46". Limita por el sur con Tacna, por el este con la República de Bolivia, y por el oeste con Cusco, Arequipa y Moquegua. La región Puno se encuentra en el altiplano, entre los 3812 y 5500 metros sobre el nivel del mar, y entre la ceja de selva y la selva alta, entre los 4200 y 500 metros sobre el nivel del mar. Su capital, Puno, está ubicada a orillas del lago Titicaca.<sup>33</sup> El clima de Puno es frío, moderadamente lluvioso y con amplitud térmica moderada. La media anual de temperatura máxima y mínima es 14.4°C y 2.7°C, respectivamente. La temperatura promedio es de 8°C, alcanzado una máxima de 15°C y una mínima de 1°C, en el invierno.<sup>33</sup>



**Figura N° 23** Mapa de Puno  
**Fuente:** Investigación.

### 3.9. ÁMBITO ESPECIFICO

La Escuela Profesional de Odontología es una unidad académica de la Facultad de Ciencias de la Salud que desempeña actividades educativas del área de la Salud Médica Odontológica. Que se ubica dentro de la Universidad Nacional del

Altiplano Puno. Ofrece una formación académica en una variedad de especialidades, dirigidas por una plana docente de calidad y comprometidos con la educación universitaria.



**Figura N° 24** Clínica odontológica de la UNA  
**Fuente:** Investigación.

### **3.10. MATERIALES**

#### **A. RECURSOS HUMANOS:**

- Director:  
Dr. Jorge Luis Mercado Portal
- Nombre de los tesistas:  
Bach. Ramírez Arenas Tania  
Bach. Vilcapaza Condori Mayda Nidia
- Gerente del laboratorio ORION:  
Blgo. Flores Reátegui Herbert
  
- Estadista:  
Ing. William Paucarmayta

#### **B. RECURSOS MATERIALES:**

##### **Materiales de escritorio**

- Historia clínica dental
- Útiles de escritorio
- Anillados N° 5

- Impresiones de borrador

**Equipos**

- Laptop Toshiba
- Cámara fotográfica Sony
- Impresora Epson 450
- Estufa de cultivo
- Microscopio Revelation 3
- Cocina eléctrica Morilla

**Instrumentales de examen odontológico:**

- Espejos bucales N° 5 Economy
- Exploradores bucales Sahona
- Cureta de dentina N° 57 Maylefer
- Cajas metálicas
- Guantes Safary
- Mascarillas
- Vasos descartables
- Campos descartable
- Algodón

**Materiales de laboratorio para el procesado del Propóleo.**

- Matraz Pirex
- Probetas Pirex
- Cocina eléctrica Morilla
- Alcohol al 96%

**Materiales de laboratorio microbiológico.**

- Tubos de ensayo 2 y 5 ml con tapa rosca Pirex.
- Vasos de precipitados de 150 y 200 ml Pirex.
- Placas petri Pyrex
- Asa de siembra
- Pipetas de 1.5 y 10 ml Dragon Lab
- Matraces Erlenmeyer de 125, 250,500 ml Pirex.
- Probetas de 25, 100 y 250 ml Pirex.

- Gradillas
- Embudos Pirex
- Pinza porta Discos Economy
- Micropipeta calibrada.
- Laminas portaobjetos
- Hisopo.

**Medios de cultivo**

- Medios de cultivo de aislamiento: Agar universal
- Agar Mueller Hinton
- Agar Sabourand

**Sistema generador de Anaerobios**

- Jarras para anaerobiosis.

**Reactivos**

- Agua destilada
- Alcohol 96%
- Solución Fisiológica al 0.9%.

**C. RECURSO INSTITUCIONAL:**

- Universidad Nacional del Altiplano –Puno
- Clínica Odontológica de la U.N.A
- Laboratorio ORION Puno.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADO

TABLA N° 1

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACION DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**

		Antibiótico				Total	
		Clorhexidina	Propóleo 25%	Propóleo 50%	Propóleo 75%		Propóleo 100%
<b>Tamaño de halo <i>Streptococcus mutans</i></b>	<b>6</b>	0 ,0%	10 5,0%	0 ,0%	0 ,0%	10 5,0%	
	<b>8</b>	0 ,0%	30 15,0%	0 ,0%	0 ,0%	30 15,0%	
	<b>10</b>	0 ,0%	0 ,0%	30 15,0%	15 7,5%	45 22,5%	
	<b>12</b>	0 ,0%	0 ,0%	10 5,0%	16 8,0%	26 13,0%	
	<b>14</b>	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	9 4,5%	44 22,0%	
	<b>16</b>	3 1,5%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	5 2,5%	8 4,0%
	<b>18</b>	37 18,5%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	37 18,5%
	<b>Total</b>	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	200 100,0%

Fuente: Los investigadores

$F_c = 659.627$ ,  $gl = 4$ , **Sig. 0.000**

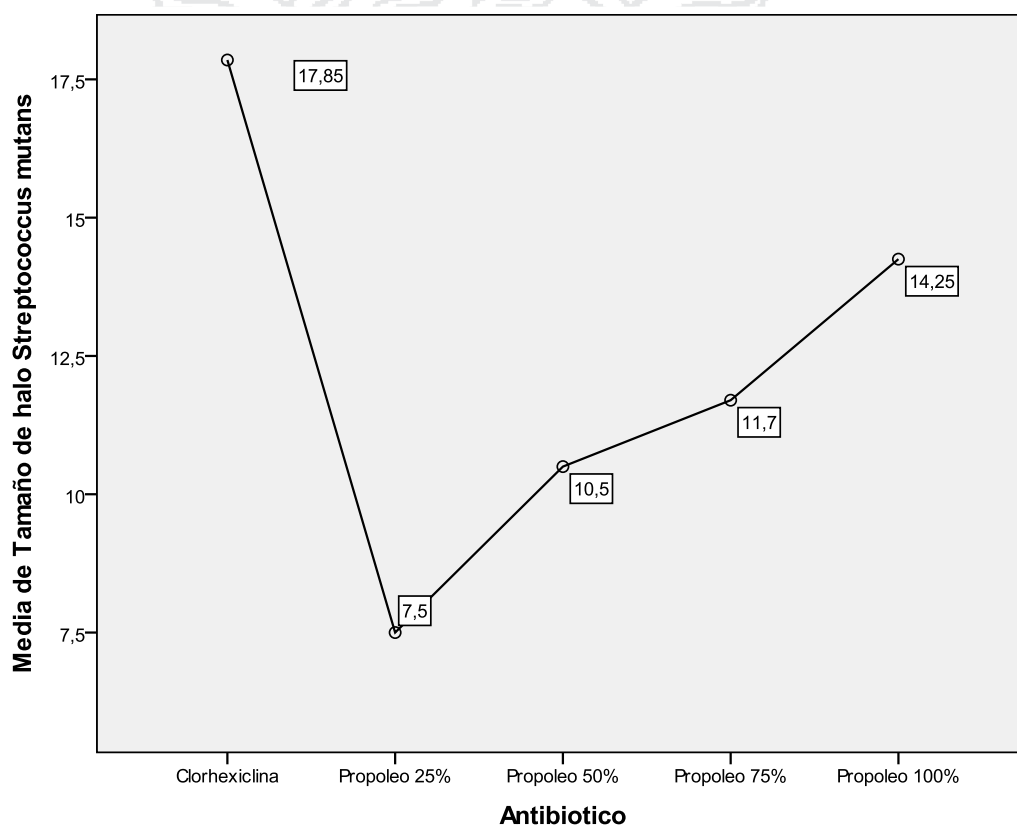
#### Interpretación:

Como puede observarse, los puntos que representan a las medias de cada grupo aparecen dispersos a diferentes niveles; sobre todo la media del grupo control clorhexidina donde tuvo una media de halos de inhibición de 17.85 mm. Las medias de cada población son distintas, para el propóleo de 25%, 50%, 75%, y 100% las medias de halo de inhibición fueron de 7,5 mm, 10,5 mm, 11,7 mm y 14,25mm respectivamente, el gráfico, por tanto, sugiere cinco poblaciones con distintas medias.

La prueba estadística de  $F_c = 659.627$ , con  $P = 0.000 < a 0.05$  nos señala que el resultado es significativo, y por lo tanto concluimos que las medias de las poblaciones son distintas.

GRAFICO N° 1

**MEDIAS DE TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**





CUADRO N° 3

**TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016 (Pruebas Post Hoc)**

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Antibiótico	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Propóleo 25%	40	7,50				
Propóleo 50%	40		10,50			
Propóleo 75%	40			11,70		
Propóleo 100%	40				14,25	
Clorhexidina	40					17,85
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Los investigadores.

**Interpretación:**

Una vez que se ha determinado que existen diferencias entre las medias, las pruebas de rango post hoc y las comparaciones múltiples por parejas permiten determinar qué medias difieren. En la tabla 02 se aprecia las diferencias según Tukey en las medias de las poblaciones, siendo significativamente diferentes.

TABLA N° 2

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**

		Antibiótico				Total	
		Fluconazol	Propóleo 25%	Propóleo 50%	Propóleo 75%		Propóleo 100%
Tamaño de halo <i>Cándida albicans</i>	6	0 ,0%	38 19,0%	23 11,5%	4 2,0%	0 ,0%	65 32,5%
	8	0 ,0%	2 1,0%	15 7,5%	22 11,0%	0 ,0%	39 19,5%
	10	0 ,0%	0 ,0%	2 1,0%	12 6,0%	10 5,0%	24 12,0%
	12	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	2 1,0%	23 11,5%	25 12,5%
	14	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	7 3,5%	7 3,5%
	16	40 20,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	40 20,0%
	<b>Total</b>	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	40 20,0%	200 100,0%

Fuente: Los investigadores.

$F_c \equiv 605.078, gl = 4, Sig. 0.000$

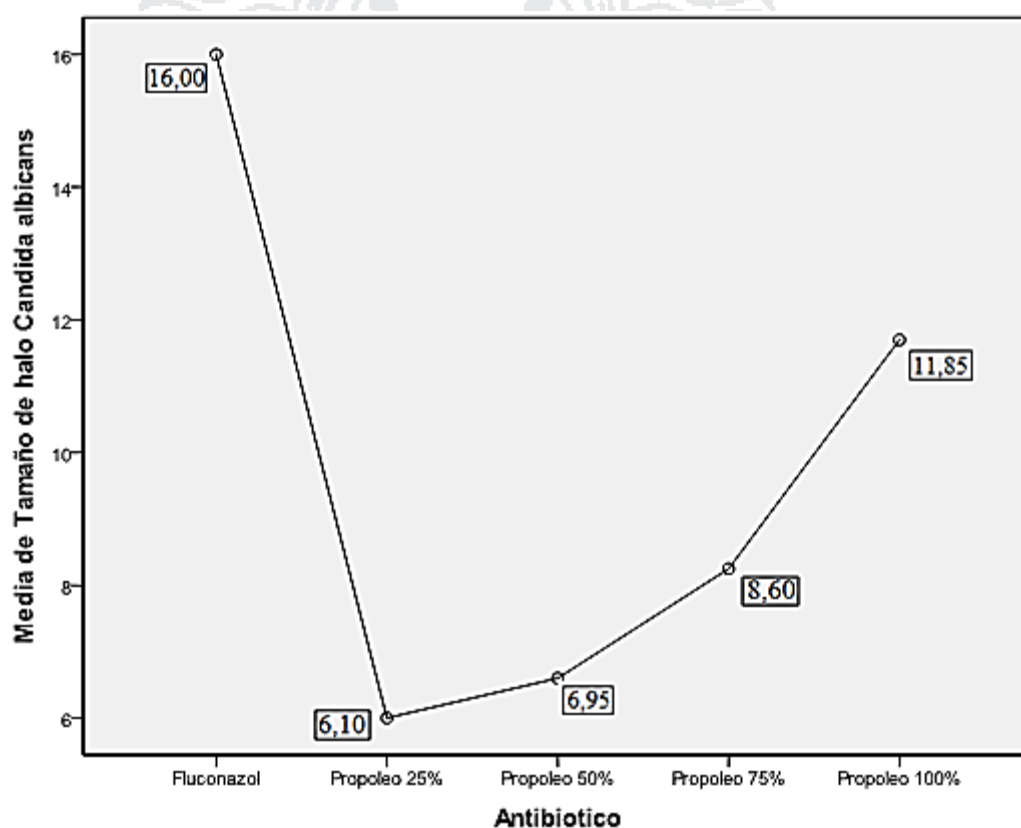
**Interpretación:**

Como puede observarse, los puntos que representan a las medias de cada grupo aparecen dispersos a diferentes niveles; sobre todo la media del grupo definido por el factor Fluconazol donde tuvo una media de halos de inhibición de 16 mm. Las medias de cada población son distintas, para el propóleo de 25%, 50%, 75%, y 100% las medias de halo de inhibición fueron de 6,10 mm, 6,95 mm, 8,6 mm y 11,85 mm respectivamente, el gráfico, por tanto, sugiere cinco poblaciones con distintas medias.

La prueba estadística de  $F_c \equiv 938,881,$  con  $P = 0.000 < a 0.05$  nos señala que el resultado es significativo, y por lo tanto concluimos que las medias de las poblaciones son distintas.

GRAFICO N° 2

**MEDIAS DE TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACION DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**



CUADRO N° 4

**TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016 (Pruebas Post Hoc)**

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Antibiótico	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Propóleo 25%	40	6,10				
Propóleo 50%	40		6,95			
Propóleo 75%	40			8,60		
Propóleo 100%	40				11,85	
Fluconazol	40					16,00
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Los investigadores.

**Interpretación:**

Una vez que se ha determinado que existen diferencias entre las medias, las pruebas de rango post hoc y las comparaciones múltiples por parejas permiten determinar qué medias difieren. En la tabla 04 se aprecia las diferencias según Tukey en las medias de las poblaciones, siendo significativamente diferentes.

TABLA N° 3

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**

	Antibiótico										Total
	Clorhexi dina para <i>Streptoco ccus mutans</i>	Flucona zol para <i>Cándida albicans</i>	Propóleo 25% para <i>Cándida albicans</i>	Propóleo 50% para <i>Cándida albicans</i>	Propóleo 75% para <i>Cándida albicans</i>	Propóleo 100% para <i>Cándida albicans</i>	Propóleo 25% para <i>Streptoc occus mutans</i>	Propóleo 50% para <i>Streptoc occus mutans</i>	Propóleo 75% para <i>Streptoc occus mutans</i>	Propóleo 100% para <i>Streptoc occus mutans</i>	
<b>Tamaño 6 de halo</b>	0 ,0%	0 ,0%	38 9,5%	23 5,8%	4 1,0%	0 ,0%	10 2,5%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	75 18,8%
<b>8</b>	0 ,0%	0 ,0%	2 ,5%	15 3,8%	22 5,5%	0 ,0%	30 7,5%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	69 17,3%
<b>10</b>	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	2 ,5%	12 3,0%	10 2,5%	0 ,0%	30 7,5%	15 3,8%	0 ,0%	69 17,3%
<b>12</b>	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	2 ,5%	23 5,8%	0 ,0%	10 2,5%	16 4,0%	0 ,0%	51 12,8%
<b>14</b>	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	7 1,8%	0 ,0%	0 ,0%	9 2,3%	34 8,5%	50 12,5%
<b>16</b>	40 10,0%	40 10,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	0 ,0%	6 1,5%	86 21,5%
<b>Total</b>	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	40 10,0%	400 100,0%

Fuente: Los investigadores.

**F c = 543.636, gl = 9, Sig. 0.000**

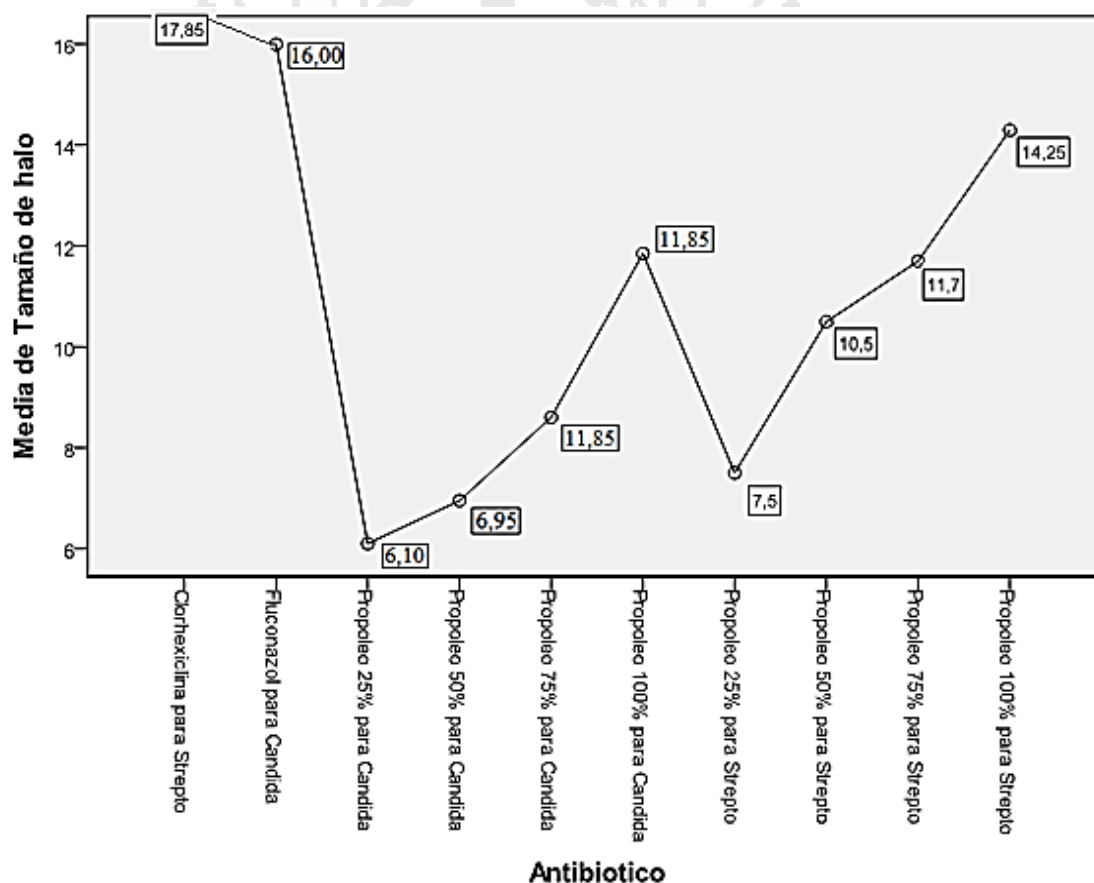
**Interpretación:**

Como puede observarse, los puntos que representan a las medias de cada grupo aparecen dispersos a diferentes niveles; sobre todo la media del grupo definido por los grupos control Clorhexidina y Fluconazol las cuales tienen 17,85 mm y 16,80 mm que representan los grupos con mayores halos de inhibición. Las medias de cada población aparentan ser distintas, el propóleo a la concentración del 100% tuvo mayor efecto antibacteriano con un halo de inhibición de 14,25 mm, mientras que el propóleo al 100% tuvo menor efecto antifungico con un halo de inhibición de 11,85 mm. Concluyendo que el propóleo al 100% tiene mejores resultados con las bacterias que con los hongos.

La prueba estadística de  $F_{c=543.636}$  con  $P = 0.000 < a 0.05$  nos señala que el resultado es significativo, y por lo tanto concluimos que las medias de las poblaciones son distintas.

GRAFICO N° 3

**MEDIAS DE TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016**



**CUADRO N° 5**

**TAMAÑO DE HALO DE INHIBICION DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO A LAS CONCENTRACIÓN DE 25%, 50%, 75%, 100% FRENTE A *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO – 2016 (Pruebas Post Hoc)**

HSD de Tukey<sup>a</sup>

Antibiótico	N	Subconjunto para alfa = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Propóleo 25% para <i>Cándida albicans</i>	40	6,10							
Propóleo 50% para <i>Cándida albicans</i>	40		6,95						
Propóleo 25% para <i>Streptococcus mutans</i>	40		7,50						
Propóleo 75% para <i>Cándida albicans</i>	40			8,60					
Propóleo 50% para <i>Streptococcus mutans</i>	40				10,50				
Propóleo 75% para <i>Streptococcus mutans</i>	40					11,70			
Propóleo 100% para <i>Cándida albicans</i>	40					11,85			
Propóleo 100% para <i>Streptococcus mutans</i>	40						14,25		
Fluconazol para <i>Cándida albicans</i>	40							16,00	
Clorhexidina para <i>Streptococcus mutans</i>	40								17,85
	<b>Sig.</b>	1,000	,285	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Los investigadores.

**Interpretación:**

Una vez que se ha determinado que existen diferencias entre las medias, las pruebas de rango post hoc y las comparaciones múltiples por parejas permiten determinar qué medias difieren. En la tabla 06 se aprecia las diferencias según Tukey en las medias de las poblaciones, a excepción del sub grupo número 2, numero 5. Siendo el resto diferentes.



## 4.2. 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 caries dental como es el *Streptococcus mutans*, y *Cándida albicans* como el primer agente causal de la candidiasis oral.

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 antibacteriana, la cual se le atribuye fundamentalmente a los flavonoides.<sup>11</sup>

Existen diversos métodos que permiten evaluar el efecto antibacteriano de los extractos naturales. El más utilizado es la técnica “difusión de 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 bacteriana, para luego medir los halos de inhibición, concluyendo que el extracto etanólico de propóleo al 30% tuvo mayor efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* con un halo de inhibición de 11,57 mm. Lo que difiere con los resultados obtenidos en esta investigación en la cual el extracto etanólico de propóleo a la concentración de 100% tuvo mayor efectividad antibacteriana con un halo de inhibición de 14, 25 mm, por lo que existe diferencia significativa.

En el estudio de Jara R. (2014). Se comparó el efecto antibacteriano de cuatro marcas comerciales de propóleo y un extracto metanólico de Propóleo de Oxapampa. El extracto metanólico de Propóleo elaborado en el laboratorio tiene mayor actividad antibacteriana que los extractos comerciales frente a las cepas *Streptococcus mutans* con una media de 33.15 mm. (10) Lo que difiere con nuestra investigación ya que se obtuvo un halo de inhibición de 14,25 mm con la concentración máxima, puede ser que se deba al solvente utilizado que fue el alcohol etílico en lugar de metílico. Otro factor el lugar de donde se extrajo el propóleo, siendo este, un factor determinante en la composición del propóleo.

Por otra parte Bolla y col. en el 2012 compararon la eficacia de una pasta dental, clorhexidina y propóleos como medicamentos de conducto radicular contra *Cándida albicans*. Se concluyó que el Propóleo muestra una eficacia parcial antifúngica contra *Cándida albicans*<sup>9</sup>. Los resultados son similares a nuestra investigación, encontrando como resultado una mínima actividad antifúngica. Mientras que García y col. en el 2014, determinaron que los Extracto EP al 20% mostraron una inhibición del crecimiento de *C. albicans* y al 30% y 40% tuvieron actividad fungicida frente al *C. albicans*<sup>10</sup>, también concuerda con la investigación de León y col. (2014) que evaluaron el efecto antifúngico in vitro sobre el crecimiento en *cándida albicans*, *cándida glabrata* y *cándida krusei*, expuestas al extracto etanólico de Oxapampa, con una concentración mínima inhibitoria de 12 mg/ml al 5, 10, 15, 20, 25 y 30 %, que presentaron inhibición completa en el crecimiento in vitro contra las cepas de *Cándida albicans*, e inhibición parcial en el crecimiento de los otros tipos *Cándida*. En nuestro estudio la concentración máxima de extracto de propóleo al 100% fue el que ejerció mayor efecto antimicótico frente a *Cándida albicans* con un promedio de halo de inhibición de 11.85 mm. Hallando una diferencia significativa.

Así mismo al igual que la investigación de De la Cruz (2013), donde indicó que la actividad antimicótica del extracto etanólico de Propóleo sobre el crecimiento in vitro de *Cándida albicans* 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.<sup>13</sup> Se puede decir que se obtuvieron resultados similares a las mismas concentraciones del extracto etanólico de propóleo, presentando halos de inhibición desde la concentración de 50% con un promedio de 6.95 mm, de 75% un promedio de 8.60 mm de halos de inhibición, llegando hasta la máxima concentración de 100% con un promedio de halo de inhibición de 11.85 mm, pero no mayor a nuestra muestra de fluconazol con un halo de inhibición promedio de 16 mm.

De esta manera, los resultados evidencian que el propóleo podría constituir, después de mayores estudios, un agente importante en el control de la caries y de

la candidiasis, que son las patologías bucales más comunes, que se presentan en la cavidad bucal de un adulto parcialmente desdentado.

Finalmente esta investigación nos permite demostrar que debemos tener en cuenta que la composición química del propóleo es heterogénea y depende de la vegetación que predomina alrededor de la colmena, la estación del año, así como de su origen geográfico. Y esta sería una de las causas que el Propóleo de las colmenas de la provincia de Sandia departamento de Puno en Perú, tenga un rango de inhibición diferente a los extractos de propóleos de otros lugares como Oxapampa, Trujillo, Lima hasta países como India y Venezuela.



## V. CONCLUSIONES

Concluimos que:

1. Los extractos de Propóleo presentan un efecto inhibitorio sobre la cepa de *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* de modo que puede ser usado como un agente en el control de la caries dental y candidiasis oral.
2. El extracto de propóleo en la concentración de 25% y 50% posee un efecto inhibitorio bajo frente a *Streptococcus mutans*, con un promedio en halos de inhibición de 7.5 mm y 10.5 mm respectivamente. Al 75% posee un efecto inhibitorio mediano frente a *Streptococcus mutans*, con un promedio en halos de inhibición de 11.7 mm. Al 100% posee un efecto inhibitorio frente a *Streptococcus mutans*, con un halo de inhibición de 14,85 mm. Por lo tanto se concluye que, a mayores concentraciones de extracto de propóleo, presenta mejor efecto inhibitorio frente a *Streptococcus mutans*.
3. El extracto de propóleo en la concentración de 25% y 50% posee un efecto inhibitorio menor frente a *Cándida albicans*, con un promedio de halos de inhibición de 6.1 mm y 6.95 mm respectivamente. Mientras que al 75% y 100% posee un efecto inhibitorio mediano, con un promedio en halos de inhibición de 8.6 mm y 11.85 mm respectivamente. Por lo tanto se concluye que a mayores concentraciones de extracto de propóleo, presenta mejor efecto inhibitorio frente a *Cándida albicans*.
4. Comparando el efecto inhibitorio del propóleo entre *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans* a las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. El extracto de propóleo presenta mayor efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans* con un halo de inhibición de 14.25 mm al 100%. En cuanto al halo de inhibición del propóleo frente a *Cándida albicans* al 100% fue de 11.85 mm. Demostrando así que el extracto de propóleo tiene mayor efecto antibacteriano que antifúngico.

## VI. RECOMENDACIONES

1. A las personas relacionadas con el campo de la investigación, se recomienda que repitan y amplíen esta experiencia, debido a que en el presente trabajo se realizó in vitro y puedan aplicarlo directamente en personas o animales.(In vivo) para la prevención de caries dental y poder elaborar un producto.
2. Se debería recomendar a los pacientes el uso de productos apícolas, como el propóleo, ya que resulta efectivo, barato y de fácil acceso.
3. Realizar estudios de investigación con otros microorganismos específicos tomados de pacientes que acudieran a la clínica estomatológica la UNA-Puno y que sean causantes de afecciones medico estomatológicas.
4. Se recomienda tomar en cuenta los diferentes factores que tal vez puedan estar interviniendo en el bajo efecto inhibitorio, y que en este presente trabajo no se tuvieron en cuenta.
5. A la escuela profesional de Odontología, se le recomienda tomar en cuenta los diferentes estudios realizados con las nuevas alternativas de la medicina natural e incorporar en la currícula de estudios.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fontana, M.; Young, D. A.; Wolff, M. S.; Pitts, N. B. & Longbottom, C. Defining dental caries for 2010 and beyond. *Rev. Dent. Clin. North Am.* 2010; Vol. 54(3):423-40.
2. Negroni, M. *Microbiología Estomatológica*. 2da ed. Buenos Aires: Ed. Medica panamericana; 2009.
3. Polsigua T. *Antibioticoterapia en el manejo de las patologías de los tejidos blandos de la cavidad bucal*. [Tesis]. Universidad de Guayaquil; 2014.
4. Alvarez P. *Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de cáscara y semillas de cacao (theobroma cacao L.) Sobre cepa de Streptococcus mutans. Estudio in vitro*. [Tesis]. Quito: Universidad Central de Ecuador; 2015
5. Farre R Frasquet I, Sanchez A. *El propolis y la Salud*. *Ars Pharmaceutica*. 2004; 45(1): 21-43.
6. Carrillo M, Castillo L, Rosalba M. *Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la Huasteca Potosina*. *Inf. Tecnológica*. 2011; vol. 22(5): 21-28.
7. Madhubala M, Srinivasan N, Ahamed S. *Comparative Evaluation of Propolis and Triantibiotic Mixture as an Intracanal Medicament against Enterococcus faecalis*. *Rev. J Endod*. 2011; vol. 37(9): 1287-9.
8. *Odontología-online.com* [Internet]. La Habana: *Odontologia-online*; 2014 [actualizado 14 Feb 2014; citado 19 mayo 2016]. Disponible en: <http://www.odontologia-online.com/publicaciones/endodoncia/3051-efectividad-del-propoleos-como-irrigante-en-la-terapia-endodontica-policlinico-13-de-marzo-habana-del-este-2010-2011.html>
9. Bolla N, Kavuri S, Tanniru H, Vemuri S, Shenoy A. *Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of odontopaste, chlorhexidine and propolis as root canal medicaments against Enterococcus Faecalis and Candida Albicans*. *Int Dent J*. [Internet]. 2012 [citado 17 may 2016]; 5(1): 14-25. Disponible en: <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/intdental/article/viewFile/5000053045/5000050370>
10. García A. Ucar A., Ballester L. *Eliminación de Candida albicans con Extracto Etanólico de Propóleo comercial de apis mellifera del estado Mérida, en bases*



- de Prótesis Parciales Removibles. Rev. Odont de los Andes. 2014; vol. 9 (1): 4-14.
11. Mayta Tovalino F, Sacsquispe Contreras SJ. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propoleo de Oxapampa- Perú sobre cultivos de Streptococcus mutans CATCC 25175 y Staphylococcus aureus CATCC 25923. Rev Estomatol hered. 2010; vol. 20 (1): 19-24.
  12. Calderon A. Actividad antimicrobiana in vitro de soluciones de propóleo etanólico sobre bacterias periodontopatogenas frecuentes en la enfermedad gingivoperiodontal. Hospital Militar Central, Lima 2010. [Tesis]. Puno: UNA; 2010.
  13. De la Cruz L. Actividad antimicótica del extracto etanólico de propoleo sobre el crecimiento in vitro de candida albicans.[Tesis] Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2013.
  14. León G, Sacsquispe S, Zurita S. Efecto antifúngico in vitro sobre el crecimiento en candida albicans ATCC 90028, candida glabrata ATCC 90030 y candida krusei atcc 6258 expuestas al propóleos de oxapampa a las 24, 48 y 120 horas. Rev. Investigación de la Univ. Norbert Wiener [Internet]. 2014 [citado 20 may 2016]; vol. 3(1): 23-29.
  15. Jara R. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de cinco propóleos peruanos sobre cepas de Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556). [Tesis]. Lima: UPC; 2014.
  16. Espinoza M, León R., Prevalencia y experiencia de caries dental en estudiantes según facultades de una universidad particular peruana. Rev estomatol herediana. 2015; Vol. 25(3): 187-198.
  17. Alegría A, Prevalencia de caries dental en niños de 6-12 años de edad atendidos en la clínica pediátrica de la Universidad Alas peruanas utilizando los criterios ICDAS II. [Tesis]. Peru: Universidad Alas Peruanas; 2010.
  18. Henostroza G. Caries dental: Principios y procedimientos para el diagnóstico. Primera Edición. Perú: Editorial Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2007.
  19. Centurión K. Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Streptococcus mutans ATCC 35668. [Tesis de maestria]. Trujillo: UPAO; 2015
  20. Liébana U. Microbiología oral. 2da ed. España: Editorial Mc Graw Hill; 1995

21. Marsh P. Microbiología oral. 5ta edición. Venezuela: editorial AMOLCA; 2011
22. Ceccotti E. El diagnostico en clínica estomatológica. 1ra edición. Buenos Aires: Editorial médica panamericana; 2007.
23. García K. Efecto antibacteriano de una infusión de *Camellia sinensis* (té verde) usada como colutorio sobre placa bacteriana y saliva. Rev. Pueblo cont. 2013; vol. 24(2): 349-356.
24. Gil M, Perelli A, Alvarado R, Arias Y, Blumenthal E. Actividad bacteriostática de la tintura de propoleo sobre bacterias enteropatógenas. Rev. Salus De la facultad de ciencias de la salud de la Universidad de Carabobo. 2012; Vol. 16(3):21-25.
25. Premoli G, Laguado P, Diaz N, Romero C, Villareal J, Gonzales A. Uso del propoleo en Odontología. Rev. Odontologica Venezolana. 2009; Vol. 48(2):1-13.
26. Bedascarrasbure, E., Maldo, L., & Alvarez, A. Propóleos: Un Valioso Producto de la Colmena. Horizonte Agroalimentario [Rev. En línea] 2011 [consultado el 26 de septiembre de 2016]; Vol 1 (4). Disponible en : <http://inta.gob.ar/documentos/propoleos-un-valioso-producto-de-la-colmena/>
27. España: Slideshare; [página principal en internet]. Cuba: Nicolas Alzaga; c2011 [Actualizado 2011 Agosto 3; citado 28 sep 2016]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/aloeverasantander/el-propleo>
28. Angulo Vaca, J. B. Caracterización y actividad antioxidante de propóleos de diferentes zonas apícolas de la provincia de chimborazo utilizados en la empresa apicare - riobamba. [Tesis]. Riobamba-Ecuador: escuela superior politécnica de Chimborazo; 2014
29. Solorzano D. Estudio comparativo in vitro sobre el efecto antibacteriano del extracto de propoleo, paramonoclorofenol alcanforado e hidróxido de calcio en necrosis pulpar. Huanuco 2011. [Tesis]. Universidad de Huánuco; 2011
30. Chaillou L. Estudio del propóleos de Santiago del estéreo, Argentina. Cienc tecnol. Aliment campinas. 2004. 24(1): 011- 015.
31. Vázquez J. Caracterización botánica de los propoleos producidos en distinto origen geografico en la region apicola i - cuenca del salado, pcia. de Buenos Aires. [Tesis doctoral]. Valencia; 2010

32. Vallejo V. Evaluación Antibacteriana In Vitro Del Extracto Etanólico De Propóleo Ecuatoriano al 10, 20 Y 30 %, En colonizadores primarios del Biofilm Dental. 2015. [Tesis], Universidad Central del Ecuador; 2015.
33. Wikipedia enciclopedia libre.com [Internet]. San Francisco (California): Wikipedia; 2016.[actualizada el 30 de Octubre del 2016; citado 4 de Nov. Del 2016]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Puno>





## ANEXO 01

### Ficha Clínica de Selección

**FECHA:**

**I. FILIACION**

Nombre:.....Edad:.....Sexo:...

Teléfono:..... Dirección:.....

**II. ANTECEDENTES SISTEMICOS**

1. Quirúrgicos:.....

2. Medicamentosos:.....

3. Patológicos:.....

**III. ENFERMEDAD SISTEMICA ACTUAL:**.....

**IV. HIGIENE BUCAL**

¿Cuántas veces al día cepillas tus dientes?    1    2    3    ninguna

¿Qué utilizas para limpiar tus dientes?

- a) Cepillo dental    b) pasta dental    c) enjuague bucal    d) hilo dental
- e) palillos dentales    f) solo agua    g) bicarbonato    h) ninguno

**V. ODONTOGRAMA**

The odontogram consists of a central vertical line representing the midline. Above and below this line are two rows of boxes for recording tooth status. The upper row has 16 boxes on each side, and the lower row has 16 boxes on each side. Below the boxes are two rows of tooth icons, each with a number. The upper row of icons is numbered 48 to 11 from left to right, and the lower row is numbered 18 to 11 from left to right. Each tooth icon has a small square box next to it for recording.

## ANEXO N° 02

## Consentimiento Informado

Yo .....identificado con D.N.I  
(otros) N°.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado, así como he sido informado por las estudiantes de la carrera profesional de Odontología acerca del Trabajo de investigación titulado **“Efecto Inhibitorio del Extracto de Propóleo sobre los microorganismos de *Streptococcus Mutans* y *Candida Albicans* que colonizan la cavidad oral en Puno- 2016”** los mismos que serán realizados en el laboratorio ORION, la cual va a consistir en una revisión clínica de la cavidad bucal y obtención de muestra salival, no poniendo en riesgo la salud, cuyos datos obtenidos serán consignados en la ficha de registro.

Se me ha informado de las ventajas y los beneficios que se va a obtener, realizándome preguntas que considere oportunas, todas las cuales han sido absueltas y con respuestas que considero suficiente y aceptables.

Tomo el compromiso de cumplir con las indicaciones que señale para la toma de muestras.

Por lo tanto en forma consiente y voluntaria doy mi consentimiento para formar parte de este estudio.

Los datos obtenidos serán totalmente confidenciales.

Puno, Perú Fecha:

.....  
Firma de la Tesista

.....  
Firma del Paciente



## ANEXO N° 03



**LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN, ANÁLISIS Y DIAGNÓSTICO CLÍNICO**  
**Laboratorios "ORION"**  
 Análisis de Sangre, Orina, Heces, Microbiológicos, Histopatológicos, ADN

Jr. Lima N° 208 II piso Of. 09 \*\* Movi 951599873 – RPC 951753481- TelFax 051551561  
 www.laboratorioorionpuno.blogspot.com – helarry@hotmail.com  
 RUC N° 10013180861 \*\* RNP S016165 \*\* Certificación D.S. 023-87/SA \*\* LM N° 001202 \*\* REMYPE - 0001260600

CONVENIOS
Laboratorio ROE
Biogenómica
Arias Stella
Suzalab
A&CAM S.R.L.
Centro de Investigaciones
Colihua Home

CONSTANCIA

HERBERT LARRY FLORES REATEGUI, GERENTE DEL LABORATORIO ORION

## HACE CONSTAR QUE:

Las señoritas Bach. TANIA RAMIREZ ARENAS y MAYDA NIDIA VILCAPAZA CONDORI de la Escuela profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano Puno, realizaron las pruebas de laboratorio de su proyecto de investigación titulado: " EFECTO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLÓGICA, UNA - PUNO - 2016" en este laboratorio ubicado en la ciudad de Puno.

Se expide la presente constancia a solicitud de las interesadas para los fines que creen por conveniente.

Puno, octubre del 2016



**GERENTE**  
**CBP 4441**

## ANEXO N° 04

“Año de la consolidación del Mar de Grau”

SOLICITO: AUTORIZACION PARA OBTENER  
MUESTRAS PARA NUESTRO PROYECTO DE  
INVESTIGACION.

SEÑOR DIRECTOR DE ESTUDIOS DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGIA



Yo, Tania Ramírez Arenas, identificada con código de matrícula N° 103407, Domiciliada en el Jr: Miguel Iglesias N° 128. Yo Mayda Nidia Vilcapaza Condori, Identificada con código de matrícula N° 083625, Domiciliada en el psj. Aruba N° 218. Nos presentamos ante Ud. Y exponemos.

Que, al haber sido aprobado nuestro proyecto de investigación, que titula “EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPOLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS DE *Streptococcus mutans* Y *Candida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PERSONAS ADULTAS, PUNO - 2016”, solicitamos la debida autorización para que realicemos la obtención de muestras de caries de dentina y saliva en personas adultas que acudan a la clínica odontológica de la UNA-Puno.

Por lo Expuesto:

Consciente de su compromiso con la educación, seguros estamos de poder contar con su receptividad para fortalecer los procesos de formación de los futuros profesionales de la escuela profesional que usted dignamente dirige.

Atentamente:



Tania Ramirez Arenas  
Cod. N°103407



Mayda N. Vilcapaza Condori  
Cod. N° 083625

## ANEXO N° 05

27 de Junio de 2016

**COORDINADOR DE LA CLÍNICA ODONTOLÓGICA UNA-PUNO.**

Dr. Fernando Chávez Fernández:

Quien suscribe, Tania Ramírez Arenas y Mayda Nidia Vilcapaza Condori, quienes solicitaron autorización para la obtención de muestras de caries de dentina y saliva de la Clínica Odontológica para su Proyecto de investigación titulado **“Efecto inhibitorio del extracto de propoleo sobre los microorganismo *streptococcus mutans* y *candida albicans* que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos que acuden a la clínica odontológica UNA- Puno, 2016”**, autorizo el permiso para que puedan utilizar nuestras instalaciones para tal fin.

Por nuestra parte, en todos los casos en que hemos mantenido relación con las tesis han cumplido fielmente las condiciones establecidas.

Confiamos en que esta respuesta les sea de utilidad para iniciar sus gestiones y ejecución

Atentamente,



Dr. Fernando Chávez Fernández

FIRMA

## ANEXO N° 06

### Preparación de Extractos Etanólicos de Propóleo



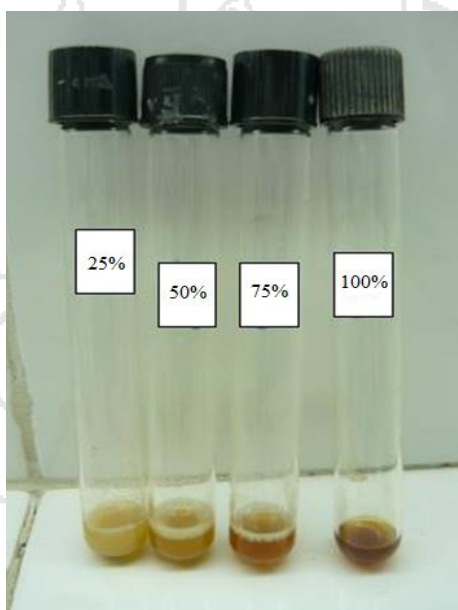




**ANEXO N° 07**

**Extracto etanólico de propóleo en las a las concentraciones de  
25%, 50%, 75%, 100%.**

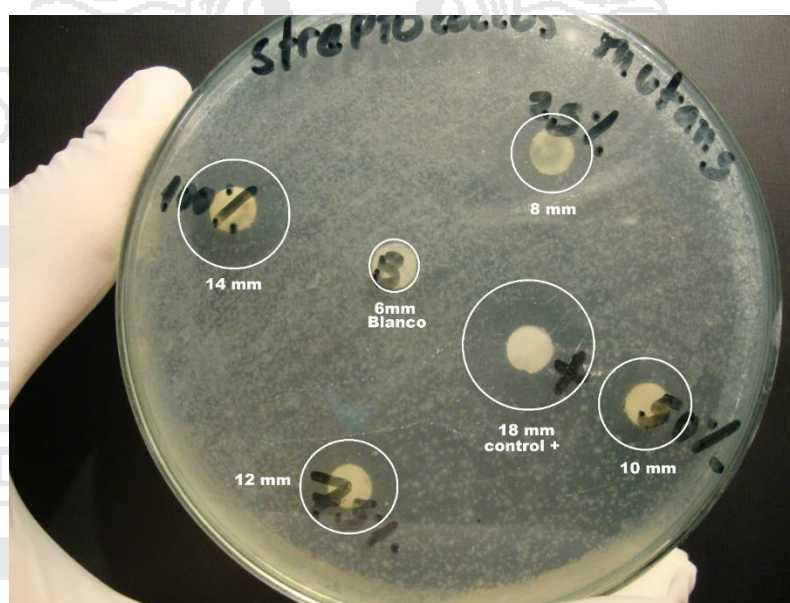
<b>Concentración</b>	<b>Alcohol etanólico</b>	<b>Extracto de Propóleo</b>
100%	0 $\mu$ l	100 $\mu$ l
75%	25 $\mu$ l	75 $\mu$ l
50%	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l
25%	75 $\mu$ l	25 $\mu$ l





## ANEXO N° 08

**Halos de inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans* a las concentraciones de de 25%, 50%, 75%, 100%. De propóleo y control positivo (X: Clorhexidina 0.12%) y negativo (B: Blanco).**



## ANEXO N° 09

**Halos de inhibición de crecimiento de *Candida albicans* a las concentraciones de de 25%, 50%, 75%, 100%. De propoleo y control positivo (X: Clorhexidina 0.12%) y negativo (B: Blanco).**



## ANEXO N° 10

### Matriz de Datos

	STREPTOCOCCUS						Clorhexiclina	CANDIDA					
	B	25	50	75	100	B		25	50	75	100	Fluconazol	
1	6	8	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
2	6	8	10	14	14	18	6	6	6	8	12	16	
3	6	8	10	12	14	18	6	6	8	10	14	16	
4	6	6	10	12	14	18	6	6	6	8	12	16	
5	6	6	10	10	14	18	6	6	8	10	12	16	
6	6	8	12	12	14	18	6	6	8	10	14	16	
7	6	8	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
8	6	8	10	14	16	16	6	6	6	8	12	16	
9	6	8	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
10	6	8	10	10	14	18	6	6	8	8	10	16	
11	6	8	10	10	14	16	6	6	8	10	12	16	
12	6	8	12	14	14	18	6	6	6	8	10	16	
13	6	6	10	12	14	18	6	6	6	8	10	16	
14	6	6	10	12	14	18	6	6	6	6	10	16	
15	6	6	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
16	6	8	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
17	6	8	10	12	16	18	6	6	6	6	10	16	
18	6	8	10	12	14	18	6	6	8	10	14	16	
19	6	6	10	12	14	18	6	6	6	8	12	16	
20	6	8	10	12	14	18	6	6	6	8	12	16	
21	6	6	12	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
22	6	8	10	12	14	18	6	6	8	10	10	16	
23	6	8	10	10	16	16	6	6	8	8	10	16	
24	6	8	10	14	14	18	6	6	6	8	10	16	
25	6	8	10	10	14	18	6	6	6	6	12	16	
26	6	8	10	10	14	18	6	6	6	8	12	16	
27	6	6	12	10	14	18	6	6	6	8	10	16	
28	6	6	10	14	14	18	6	6	6	6	14	16	
29	6	6	10	12	14	18	6	6	6	10	12	16	
30	6	8	12	12	14	18	6	6	6	8	12	16	
31	6	8	10	10	14	18	6	6	8	8	12	16	
32	6	8	10	10	14	18	6	6	8	8	12	16	
33	6	8	10	12	14	18	6	6	6	8	10	16	
34	6	8	12	14	16	18	6	8	10	12	14	16	
35	6	8	12	14	16	18	6	6	8	10	12	16	
36	6	8	12	12	14	18	6	6	8	10	12	16	
37	6	8	10	12	14	18	6	6	8	10	14	16	
38	6	8	10	12	14	18	6	8	10	12	14	16	
39	6	8	12	14	14	18	6	6	8	10	12	16	
40	6	8	12	14	14	18	6	6	8	10	12	16	

## ANEXO N° 11

## MATRIZ DE CONSISTENCIA

**EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO SOBRE LOS MICROORGANISMOS *Streptococcus mutans* Y *Cándida albicans* QUE COLONIZAN LA CAVIDAD ORAL EN PACIENTES ADULTOS DE LA CLINICA ODONTOLOGICA, UNA PUNO - 2016**

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
-Caries dental -Infecciones micóticas -Elevado costo de productos farmacéuticos -Mayor acceso a productos naturales	<p><b>GENERAL</b> Determinar el efecto inhibitorio del extracto de Propóleo sobre los microorganismos de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i> que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos de la Clínica Odontológica, UNA Puno - 2016.</p> <p><b>ESPECIFICOS</b> 1.- Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100 % frente a <i>Streptococcus mutans</i>. 2.- Determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100 % frente a <i>Cándida albicans</i>. 3.- Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico de propóleo entre <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i> a las diferentes concentraciones.</p>	Dado que a mayor concentración del extracto etanólico de Propóleo, tendrá mayor efecto inhibitorio sobre los microorganismos que colonizan la cavidad oral de pacientes adultos que acuden a la Clínica Odontológica a UNA Puno – 2016	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> -Efecto antibacteriano del extracto de Propóleo</p> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> - <i>Streptococcus mutans</i> - <i>Cándida albicans</i></p>	<p>-Fue realizada en la Clínica odontológica</p> <p>-Muestra de microorganismos de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Cándida albicans</i></p> <p>-Investigación de tipo experimental, racional, de tipo prospectivo, transversal, comparativo y grupo control.</p> <p>-Procedimientos Elaboración del extracto etanólico de propóleo a las diferentes concentraciones Aislamiento de los microorganismos Siembra de microorganismos Pruebas de sensibilidad Obtención de halos de inhibición</p>