



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
ODONTOLOGÍA**

TESIS

**EFFECTO ANTIMICÓTICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
PROPÓLEO AL 25%, 55% Y 85% SOBRE CEPAS DE CANDIDA
ALBICANS AREQUIPA 2021**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

PRESENTADO POR:

**DIANA CORALI MARÍN CALLA
LENER JESUS ENCALADA RAMOS**

**HUANCAYO- PERÚ
2021**

AGRADECIMIENTOS

A la universidad por habernos permitido culminar como profesionales.

A los colaboradores la QF. Daynee Mendoza y Blga. Diana Manrique, por brindarnos su apoyo, y a todas las personas que fueron partícipes de este proceso.

Al Dr. Armando Carrillo Fernández, por su asesoría en la investigación y brindarnos su valioso apoyo.

A nuestro Jurado respectivo por su tiempo.

DEDICATORIA

A memoria de mi tío Juan Carlos, quien me apoyo durante toda mi carrera y mi vida siendo mi fortaleza e inspiración. A mi mamá por su incondicional apoyo y comprensión. A mi familia quienes han sido parte fundamental en este proceso.

A mis padres por todo el tiempo y comprensión que me brindaron en el transcurso de la carrera, y por todo el apoyo incondicional de ellos. A mi hermano que siempre compartió todo conmigo, muchas situaciones y muchas realidades. A la memoria de todos mis seres queridos que ya no están conmigo, que siempre me acompañan desde el cielo.

INDICE

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	ii
DEDICATORIA	iii
INDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	viii
CAPÍTULO I:	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
1.1 Planteamiento y formulación del problema	9
1.2 Objetivos	11
1.3 Justificación de la investigación	12
1.4 Hipótesis	13
CAPÍTULO II:	14
MARCO TEÓRICO	14
2.1 Antecedentes del problema	14
2.2 Bases teóricas	18
2.3 Definición de Términos Básicos	33
CAPÍTULO III:	34
METODOLOGÍA	34
3.1 Métodos de alcance de la investigación	34
3.2 Diseño de investigación	34
3.3 Población de estudio	34
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	34
CAPÍTULO IV:	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1 Resultados del tratamiento y análisis de la información	38
4.2 Prueba de hipótesis	42
4.3 Discusión de resultados	44
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 datos a las 24 y 48 hrs. Al 25%	38
Tabla 2 prueba.....	39
Tabla 3 datos a las 24 y 48 hrs. al 55%.....	39
Tabla 4 prueba.....	40
Tabla 5 datos a las 24 y 48 hrs. al 85%.....	41
Tabla 6 prueba.....	41
Tabla 7 prueba de homogeneidad de varianzas	42
Tabla 8 ANOVA	42
Tabla 9 pruebas post hoc	43

RESUMEN

El objetivo general de la investigación fue comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida Albicans*.

La investigación fue de tipo aplicada, de un nivel explicativo y diseño experimental, pre-experimental, longitudinal y prospectivo.

Para esta investigación, la población de estudio estuvo constituida por seis placas de patógeno micótico, en este caso fue escogida la *Cándida albicans*. Fue una muestra tipo censal, es decir con las seis placas. La técnica empleada para el presente trabajo de investigación es la de observación directa.

Se sembraron en Agar Sabouraud, e incubaron a 37°C en el periodo de 24 horas, con el fin de obtener colonias jóvenes. Posteriormente a las 24 horas, se colocaron en solución salina. Se incubaron las placas, a 37°C durante 24 y 48 horas. Las pruebas se realizaron para cada extracto etanólico de propóleo simultáneamente al 25%, 55% y 85% respectivamente. Se comprobó el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021, con un p valor = 0,000. Los resultados obtenidos fueron favorables ya que hubo sensibilidad de *Cándida albicans* ATCC 1023 frente a el extracto etanólico de propóleo a los porcentajes de 25%, 55% y 85% respectivamente.

Palabras claves: Antimicótico, extracto etanólico, propóleo, *cándida albicans*.

ABSTRACT

The purpose general of this research was to test the antifungal effect of 25%, 55% and 85% ethanolic extract of propolis on *Candida albicans* strains.

The research was of applied type, of an explanatory level and experimental, pre-experimental, longitudinal and prospective design.

For this research, the study population consisted of six mycotic pathogen plates, in this case *Candida albicans* was chosen. It was a census-type sample, i.e. with six plates. The technique used for this research work is that of direct observation.

They were seeded in Sabouraud Agar and incubated at 37°C for 24 hours in order to obtain young colonies. After 24 hours, they were placed in saline solution. The plates were incubated at 37°C for 24 and 48 hours. The tests were performed for each ethanolic extract of propolis simultaneously at 25%, 55% and 85%, respectively. The antifungal effect of the ethanolic extract of propolis at 25%, 55% and 85% on *Candida albicans* Arequipa 2021 strains was tested, with a p value = 0,000. The results obtained were favorable since there was sensitivity of *Candida albicans* ATCC 1023 to the ethanolic extract of propolis at the percentages of 25%, 55% and 85%, respectively.

Key words: Antimycotic, ethanolic extract, propolis, *candida albicans*.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones micóticas han aumentado en importancia y frecuencia en las últimas décadas, acompañadas de una alta recurrencia; las infecciones micóticas más severas son causadas en su mayoría por infecciones que están ya en el torrente sanguíneo, estas son ocasionadas por especies del género *Cándida* en un mayor porcentaje. En el ámbito odontológico los hongos en cavidad oral son muy comunes ya que estos son oportunistas, instalándose en personas con inmunidad baja es decir en personas que padecen enfermedades sistémicas como diabetes, VIH, a su vez en aquellas personas que reciben tratamiento farmacológico prolongado, también en personas que usan aparatos protésicos mal adaptados o con falta de higiene.

La *cándida* es un organismo oportunista que se encuentra dentro de la flora oral normal de un ser humano capaz de causar infecciones eventuales en cavidad oral al presentarse factores predisponentes siendo el microorganismo más predominante del género *cándida* la *Cándida albicans*. Es por ello que existe una búsqueda de agentes naturales que ayuden en el tratamiento de este tipo de infecciones siendo el propóleo uno de los elegidos ya que es considerado como un destacado producto natural por su gran efecto benéfico en la salud humana por sus diversos fines terapéuticos que posee. La importancia de la investigación radica en hallar nuevas fuentes terapéuticas para optar por una mejorada y más óptima remisión de las infecciones fúngicas evitando su propagación por agentes micóticos como la *cándida albicans*, pretendiendo que el estudio experimental el cual utiliza el propóleo optimice la terapéutica e incluso reemplace a un antimicótico químico al momento de eliminar las infecciones fúngicas que se instalan en cavidad oral, y/o cualquier parte del cuerpo, ayudando la aceleración y mejora del paciente, se busca poder emplearlo como una alternativa de tratamiento natural como fuente de ayuda para la población en general.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento y formulación del problema

El propóleo, producto natural apícola complejo, de apariencia variable, recogido y transformado por las abejas, siendo en una primera etapa de origen vegetal por la forma de su obtención. (1)

Es considerado como un destacado producto natural por su gran efecto benéfico en la salud humana por sus diversos fines terapéuticos que posee (2). En la actualidad, es utilizada por las propiedades propias de este producto, entre las cuales destacan: antibacteriano, antifúngico, antiinflamatorio, antiviral, anestésico, hipotensor y antioxidante. (3)

Dichas propiedades se van a encontrar asociadas con la composición del propóleo, teniendo hasta el momento alrededor de 200 compuestos identificados, de los cuales los grupos principales son los flavonoides, ácidos grasos, alcoholes, aminoácidos, vitaminas y minerales, siendo los primeros mencionados los principales responsables de los efectos beneficiosos del propóleo, los cuales se definen como

compuestos fenólicos procedentes de las plantas actuando en la acción y absorción de vitaminas, en procesos de curación de heridas como antioxidantes y jugando un papel importante antimicrobiano y modular del sistema inmune (4). Dentro del componente del propóleo, se encuentran los flavonoides los que tienen la actividad antimicótica principalmente, es por ello que es considerado un excelente producto natural antimicótico, que puede ser ampliamente explotado para la ayuda contra infecciones micóticas en pacientes con este tipo de patología. (3)

Las infecciones micóticas han aumentado en importancia y frecuencia en las últimas décadas, acompañadas de una alta recurrencia; las infecciones micóticas más severas son causadas en su mayoría por infecciones que están ya en el torrente sanguíneo, estas son ocasionadas por especies del género *Cándida* en un 20 a 50% en algunos casos (5). En el ámbito odontológico los hongos en cavidad oral son muy comunes ya que estos son oportunistas, instalándose en personas con inmunidad baja es decir en personas que padecen enfermedades sistémicas como diabetes, VIH, a su vez en aquellas personas que reciben tratamiento farmacológico prolongado, también en personas que usan aparatos protésicos mal adaptados o con falta de higiene. (6)

La *cándida* que es un organismo comensal se encuentra dentro de la flora oral normal de un ser humano, se ubica en un 30% a 70% de la población aproximadamente, y es capaz de causar infecciones eventuales dentro de la cavidad oral al presentarse factores predisponentes. (6)

El microorganismo más predominante del género *cándida* es la *cándida albicans* que es un hongo dimórfico por su forma de desarrollo, este patógeno es el más frecuentemente encontrado en las micosis en general ya que los hongos de este género se encuentran como habitantes habituales no solo en cavidad oral sino también en piel, sistema gastrointestinal y genitourinario teniendo como hospedero al ser

humano, por lo que son considerados agentes infecciosos endógenos específicos, transformándose en patógeno relacionado a la de predisposición local y sistémica o ambas produciendo infecciones, de allí que son considerados hongos oportunistas. (7)

Con el pasar de los años se establecieron agentes anti fúngicos de origen químico como lo es la nistatina, miconazol, fluconazol, entre otros, cuyo uso continuado trae consigo efectos secundarios no deseados, es por ello que se tiene la necesidad de una constante búsqueda de productos naturales que puedan contribuir benéficamente a los ya conocidos productos químicos que si bien ayudan a combatir microorganismos como es la *Cándida albicans*, son a su vez deletéreos en uso prolongado teniendo así limitantes que no favorecen a nuestro organismo.

Por lo que los investigadores nos planteamos la siguiente pregunta:

Problema General:

¿Comprobar la eficacia del efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021?

Problemas Específicos:

¿Comprobar la eficacia del efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021?

¿Comprobar la eficacia del efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 55% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021?

¿Comprobar la eficacia del efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021?

1.2 Objetivos

Comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%,

55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.

Objetivos Específicos

Comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%
Sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.

Comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al
55% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.

Comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al
85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.

1.3 Justificación de la investigación

La relevancia de la presente investigación radica en el aumento de esperanza de vida de la población que se ha ido incrementando con la prevalencia de cirugías, laceraciones, infecciones, úlceras, etc., que son algunas de las principales causas de este aumento de heridas agudas, entre las cuales las infecciones fúngicas están consideradas como una de las más comunes por ser de carácter oportunista y de rápida propagación a costa del paciente, las cuales dicho tratamiento indicado supone un costo elevado muy aparte que los agentes químicos que se usan causan efectos colaterales en uso prolongado pues se sabe que en infecciones por micosis generalmente existe una causa principal o de fondo que se debe tratar principalmente retardando así la remisión inmediata de los incómodos agentes micóticos instalados ya sea en mucosas como cavidad oral o en cualquier parte del cuerpo donde se haya dado la infección micótica.

Con el propósito de hallar nuevas fuentes terapéuticas para optar por una mejorada y más óptima remisión de las infecciones fúngicas evitando su propagación por agentes micóticos como la *cándida*, es que se pretende realizar el presente estudio

experimental en el que utilizando el propóleo para optimizar la terapéutica e incluso reemplazar a un antimicótico químico al momento de eliminar las infecciones fúngicas que se instalan en cavidad oral, y/o cualquier parte del cuerpo, contribuyendo así en este proceso por las propiedades que el propóleo posee ayudando así a la aceleración y mejora del paciente , por ende se busca que para un futuro pueda emplearse como una alternativa de terapia natural como fuente de ayuda para la población en general.

Teniendo como objetivo que el presente trabajo sea a la vez un aporte científico y de ayuda en el área médica - estomatológica en general.

1.4 Hipótesis

Existe efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021

Variables y definición operacional

- ✓ Variable independiente : Propóleo
- ✓ Variable dependiente : Efecto antimicótico

CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del problema

Maureira et al. (8), el presente trabajo de investigación concluye que para el extracto etanólico de propóleo chileno que se obtuvo en la zona de Olmué tiene capacidad de inhibir crecimiento de *Cándida* spp. en agar Sabouraud in vitro, y este alcanza una acción fungicida de un 100 %.

Huaytalla et al. (9), la investigación concluye para el extracto etanólico de propóleo al 30% tuvo mayor efecto de inhibición in vitro para la cepa de *Lactobacillus acidophilus* en 48 y 72 horas al compararlo con gluconato de clorhexidina al 0,12%.

Elías. (10), en dicha investigación concluyeron que el extracto hidroetanólico mixto de miel y propóleo a 40% tiene un efecto similar antifúngico en *Cándida albicans* ATCC 10231, que el extracto hidroetanólico puro de propóleo. Pero la nistatina supero su efecto. El extracto hidroetanólico de miel de *Apis mellífera* al 40%, no presento efecto antifúngico sobre *Cándida albicans* ATCC 10231.

Mendoza (11), se concluye del extracto etanólico de la sierra liberteña presenta un efecto superior antifúngico que el presenta el de la costa liberteña frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 1023. Demostrándose que ambos extractos etanólicos de propóleos liberteños presentan actividad antifúngica sobre *Cándida albicans* ATCC 1023. Y en el caso de la Nistatina demostró un mayor efecto antifúngico que la del extracto etanólico de la sierra liberteña frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 1023.

Joya et al. (12), sus resultados son que los extractos etanólicos de propóleos muestran efecto fungistáticos y fungicidas sobre *C. albicans*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* y *C. tropicalis*; la *C. tropicalis* es la especie más resistente a la acción de propóleo y *C. krusei* y *C. guilliermondii* son las más sensibles; los extractos etanólicos de propóleos de Alemania e Italia tienen mayor efectividad contra las especies de *Cándida* spp. siendo excelentes candidatos en el tratamiento de la micosis en humanos.

Sforcin et al. (13), el resultado de *C. tropicalis* y *C. albicans* son susceptibles a una baja concentración de propóleo. Las levaduras analizadas, *C. albicans* con una mayor susceptibilidad a la concentración de 30% de propóleo. Con un efecto inhibitorio del etanol solo en la concentración del 10.0%, siendo muy diferido del obtenido del propóleo. Concluyendo que la actividad antifúngica se debe solo a componentes de propóleo.

Viloria et al. (14), se concluye que los extractos mostraron una actividad moderada, comparándola con el control, sobre hongos *B theobromae*, *F oxysporum*, y *C albicans*; siendo el microorganismo levaduriforme el que mayor sensibilidad mostro frente a los EEP in vitro. De igual forma, el método de recolección del propóleos evidencia solamente diferencias significativas en la concentración mínima inhibitoria que se encontró en *C albicans*.

Espinoza (15), Su efecto antifúngico en la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231

demonstró ser más efectiva con la sustancia química (Nistatina) y fue de menor efectividad para el extracto de propóleo ecuatoriano al 30% y al 15%.

Calla (16), se concluye con respecto a los extractos etanólicos de propóleos del sector de Arequipa, Cusco y Tacna; evidenciaron un efecto antimicrobiano contra la *Cándida albicans*, a su vez, se considera el estudio preliminar, demostrando la resistencia de *Escherichia Coli* y *Pseudomona aeruginosa*, siendo notoriamente el extracto de propóleos del sector Cusco el cual presenta un mayor efecto antimicrobiano.

Ramírez et al. (17), en su estudio concluyeron que el extracto etanólico de propóleo que presenta una mayor concentración demuestra mayor actividad inhibitoria con *Streptococcus mutans* y *Cándida albicans*. Pudiendo así observar que el propóleo tiene un mejor efecto antibacteriano que efecto antifúngico.

Gaitán (18), el resultado en este estudio es que el extracto hidroetanólico de propóleo al 100%, no demuestra un efecto antibacteriano in vitro sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Checalla et al. (19), el estudio de cromatografía en la capa delgada del EEP peruano indicó una combinación de metabolitos secundarios tales como terpenoidales, diterpenos y terpenos. Asimismo, el EEP presentó actividad antibacteriana en todas las aglomeraciones estudiadas siendo sensitivo y muy sensible frente a *Streptococcus mutans*, aun cuando los resultados fueron inferiores que los registrados para la CHX al 0,12 %. El própolis ha sido utilizado para curar muchas enfermedades en la medicina tradicional y considerando su poder frente a *S. mutans*, es considerado para mayores análisis con el objetivo de extender nuevas estrategias para la vigilancia de la caries y además entender completamente su bioactividad ya que el efecto del EEP sobre *Streptococcus mutans* puede ser deberse a un sinergismo entre sus elementos.

Manzo et al. (20), Demostró que el propóleo PTeco1 tuvo una relación positiva con respecto a la concentración y porcentaje de inhibición para el crecimiento de *M. fijiensis*, lo que significa que a mayor concentración del EEP, existe una mayor inhibición en el crecimiento micelial del fitopatógeno. En tanto los extractos PTeco2 y PYuc, no evidenciaron dicho comportamiento. En caso del extracto PYuc disminuyó la TCD in vitro de *M. fijiensis* en todas las concentraciones que se evaluaron, registrando mayor contenido de fenoles totales y dando valores menores de CE50 y CE90

Vásquez (21), en el presente trabajo de investigación concluyó que el efecto antifúngico in vitro de las 10 concentraciones del extracto etanólico de *Prosopis pallida* (algarrobo) evaluadas sobre *Cándida albicans* (ATCC 90028) es de tipo fungistático siendo positivo su efecto.

Barreto (22), En su resultado la vida útil del tratamiento T4 yogurt frutado al 1,6% del extracto etanólico de propóleo está dentro el límite máximo de 100 UFC/mL y pudiendo incrementar la conservación óptima de yogurt frutado comercial alrededor de 14 días, manteniéndolos a una temperatura de refrigeración de 4 - 5°C de acuerdo a la NTP.202.092, es así apto a los consumidores. En las pruebas microbiológicas, los flavonoides totales que presenta el extracto etanólico de propóleos (EEP), son realmente significativos como un conservante natural del yogurt frutado.

2.2 Bases teóricas

ANTIMICÓTICOS

A lo largo de la información hay una enorme variedad de enfermedades sistémicas y superficiales causadas por las variedades de hongos patógenos primarios y adaptables, cada una de ellas con características clínicas y condiciones específicas en cada hospedero. El tratamiento óptimo de estas enfermedades es tener opciones de tratamiento específicas con algunos complementos en todas las situaciones; En la búsqueda del antifúngico "ideal", una variedad de medicamentos; Han pasado la prueba del tiempo y a pesar de su envejecimiento en el mercado, continúan siendo efectivos, fáciles y económicos, son excelentes en algunas enfermedades, como la fórmula Whitfield, como los toques con una solución de yodo, para casos de enfermedades fúngicas en la superficie, mientras que la anfotericina B permanece siendo el fármaco de primera elección en determinadas micosis que ponen en riesgo la vida pese a su alta toxicidad, como como "mayor especificidad" contra el cual se confrontan los nuevos fármacos. De esta manera, se persiste en la investigación de nuevos fármacos antifúngicos "Ideales" con un amplio espectro y la mejor eficacia, menor tasa de resistencia, bajos efectos tóxicos y correlaciones medicamentosas; disponibilidad al público en todos los mercados. Los antimicóticos, llamados también antifúngicos, son diferentes fármacos que tienen acciones frente a los hongos productores de micosis superficiales, subcutáneas y profundas, en patógenos primarios adaptables. A los antimicóticos pueden dividirse por sus características, composición química, mecanismo de acción espectro de acción y tipo de micosis con la que es recomendado. (23)

CÁNDIDA ALBICANS

La *Cándida albicans* es una levadura, sin caroteno o pigmentos mixtos, pueden crear pseudohifas o hongos reales, podemos encontrarlos en el conjunto de microorganismos de la cavidad bucal; en el paladar, mucosa oral, lengua en el estómago, intestino delgado, grueso, la vagina y el ambiente en común, los hongos de esta clase tienen células redondas u ovaladas de 3 a 5 μm son gramopositivo, aerobias, su entorno apropiado para poder cultivarlo es agar Sabourland junto con elementos nutricionales tales como glucosa y polipéptidos, con un pH ácido de 5,6 a 7,2 y a una temperatura de veinte ° C - treinta y ocho ° C. (24)

Estos hongos pueden crecer fácilmente y también hay muchas maneras diferentes de causar daños causados a los humanos y los animales, entre estos, tenemos la más importante liberación de sustancias venenosas. Estos son capaces de crear hepatotoxicidad y sustancias neurotóxicas que son letales al igual que pueden producir cambios gastrointestinales, otra forma de perjudicar es la irrupción y proliferación en los tejidos, la cual produce respuesta inmune al antígeno fúngico, otra acción es la sensibilización, esto desarrolla de una respuesta hipersensible frente a los antígenos del hongo. (24)

Etiología

Los hongos son un huésped natural para los humanos, pero para que este microorganismo se convierta en patógeno, causar la enfermedad, se requiere un cambio en la inmunidad del huésped, entre las razones por las que estos cambios pueden ser: intrínsecos a cada individuo como la diabetes, el sida y el cáncer. El tabaquismo, la drogadicción, el embarazo, el envejecimiento y la cirugía son enfermedades que requieren un tratamiento prolongado con antibióticos, radiación. Esto hace que el individuo este inmunodeprimido y esto conduce a la enfermedad. (25)

Diagnóstico

Cuando se sospecha Cándida, es necesario realizar pruebas subclínicas con técnicas sencillas como microscopía, cultivo e identificación, y en el caso del examen microscópico, es necesario utilizar un hisopo de algodón para raspar la lesión. (24)

Se puede utilizar estas tinciones microbiológicas, entre las coloraciones más usadas se encuentra el colorante orgánico (azul de metileno), que permitirá ver la celdilla de levadura, así como la coloración de Gram, muy aparte tenemos una tinción hematológica que nos permite monitorizar ese tipo de célula es la ideada por el alemán Gustav Giemsa. (26)

El cultivo se realiza mediante muestras bucales, las cuáles son cultivadas en agar dextrosa Sabouraud, tiene la gran ventaja que solo desarrollara hongos del género Cándida, ya que tiene un pH ácido perfecto. (25)

El hongo albicans se puede identificar mediante una muestra de filtración de pigmentos, donde se observará la presencia de huecos cilíndricos germinativos, y otra muestra es la formación de esporas de clamidias, aquí miraremos un micelio legítimo y en todos estos aparecen esporas de clamidia. (26)

Medio de Cultivo

Para cultivar el hongo se aísla luego cuidadosamente seguimos con la toma de muestra, esta es diferente por cada zona superficies húmedas, basta solo frotar la herida con un hisopo de algodón, mientras que en áreas secas es necesario raspar el área afectada con un objeto con un borde afilado. (26)

El lugar de cultivo será adecuado y contendrá nitrógeno, agua y sales obtenido de proteínas, sales de amonio y nitratos, así como carbono obtenido de polisacáridos, disacáridos, monosacáridos o alcohol, de la misma forma que lo contenga. Contiene

minerales como fosfato de sodio, fosfato de potasio, sulfato ferroso, sulfato de amonio, sulfato de magnesio y cloruro de sodio. (24)

Entre los cultivos utilizados para aislar *Cándida* en micología, utilizamos el agar Sabouraud clásico, que contiene glucosa, lípidos y polipéptidos como nutrientes, que además tiene un pH ácido, puede inhibir el desarrollo de bacterias que están presentes. En la muestra, se pueden usar antibióticos en este medio o no, y si se usan antibióticos, puede ser cloranfenicol o gentamicina para prevenir el desarrollo bacteriano, además, se puede agregar cicloheximida para prevenir el desarrollo de hongo saprófitos en el lugar del cultivo. (26)

Tratamiento

Teniendo en conocimiento que la candidiasis bucal es una infección adaptable, debemos distinguirla y desecharla, pero antes debemos prevenirla y esto ocurre cuando les informamos a nuestros pacientes una adecuada limpieza bucal, y les enseñamos a limpiar adecuadamente la placa, las dentaduras postizas o los implantes. Si sufre de sequedad de boca, use saliva artificial e incluso se recomienda reducir los alimentos con muchos azúcares. (24)

El tratamiento más recomendado es el uso de antimicóticos poliénicos, de los cuales los más recomendados tenemos nistatina y anfotericina B, que son fungicidas con un amplio espectro, se pueden usar por vía tópica u oral como suspensiones, comprimidos o por vía I.V, otros fármacos antifúngicos son los antifúngicos azoles, que son fluconazol e itraconazol. (25)

PROPÓLEO

Las abejas son las encargadas de llevar a cabo la producción de esta sustancia (propóleo) de por si estos insectos himenópteros tienen una gran colaboración para

con la humanidad pues son uno de los encargados de la polinización proceso de importancia a la hora de dar lugar a la producción de semillas y frutos, estos maravillosos insectos también elaboran otros productos naturales como es el polen , la miel, jalea real, cera, veneno de la abeja y por supuesto el propóleo, que son importantes no solo para la humanidad sino que son utilizadas para su propia alimentación, protección y sobrevivencia (27). Se define el propóleo como un conjunto de resinas que son recogidas de las gemas apicales o de la corteza de los troncos de plantas y árboles resinosos. Esta sustancia será recolectada y seleccionada por la variedad de abejas que existen dentro de las cuales se encuentra la *Apis Mellifera*, para posteriormente ser mezclada con polen, cera y saliva, dentro de sus glándulas salivales con la finalidad de darle un aspecto y consistencia más moldeable con el propósito de usar el producto resultante para cubrir fisuras o grietas que puedan tener las colmenas esto como mecanismo de defensa y también de protección tanto para mantener un equilibrio térmico protegiéndolas del frío y de defensa contra agentes externos que quieran invadir la colmena siendo esta una especie de escudo que protege y mantiene un ambiente lo más hermético y estéril posible. (28)

No hay una sola variedad de propóleo, su diversidad dependerá de la variedad floral, el hábitat y clima de donde sean recolectadas.

Antecedentes Históricos

El producto de las abejas fue utilizado desde la edad de piedra hasta hoy en la actualidad con un fin nutricional y curativo. En el antiguo Egipto donde era utilizado y reconocido por sacerdotes para realizar los embalsamientos de la época por el poder que tiene para la conservación de cadáveres. A la vez era usado en heridas como ungüentos para obtener una rápida cicatrización.

Los Griegos son los que lo denominaron (pro; delante de o en defensa) y (Polis; ciudad o colmena) (27). El destacado médico de la antigua Grecia Hipócrates denominó a la miel como "magistral medicación fortificante y dadora de larga vida" por otra parte Aristóteles filósofo y naturista, recomendaba la miel en los diversos tratamientos de llagas ya sea internas y externas, a su vez para las infecciones oculares y recomendaba la resina (propóleo) para el bienestar del ser humano ya que contribuía en zonas como: riñón, sangre y vías urinarias.

Galeno en el siglo II, aporta el propóleo en trabajos realizados destacando a la miel como medicina y complemento excepcional de fórmulas magistrales, prescribiéndolas en casos de envenenamiento e infecciones de mucosas. El famoso médico y filósofo persa del siglo XI Avicena habla sobre el propóleo que "tiene la cualidad de erradicar las puntas de flecha y espinas, limpiando fácilmente y las ablanda fuertemente"

En 1900 donde se dio paso a la guerra Anglo-Boer se daba en el cono sur africano dicha sustancia. En esos años aún no se tenía conocimiento de antibióticos y el empleo del propóleo en las heridas salvó a muchos soldados de la gangrena.

Los investigadores rusos fueron los que indagaron más en el uso de la miel y sus derivados de las abejas como terapia. Donde la investigación de Alexandrov, quien en 1909 publicó un informe titulado "El própolis como medicamento" con recomendaciones, así como eliminar los callos con propóleo.

Y ya hacia los 60 se realizarían diferentes estudios científicos que mostrarían propiedades y componentes más a profundidad del propóleo. (27)

Características Morfológicas

El propóleo tiene el aspecto en forma de granos, bloques, esto dependiendo de la relación con el lugar de origen, el clima y la técnica de cosecha empleada. Su estructura por lo general no es homogénea, es espesa, a veces con presencia de impurezas mecánicas y de cera, las cuales varían según el método de cosecha u recolección empleado. La tonalidad o Color son variados por lo general son ocre, rojo, pardo, marrón claro, verde oscuro, amarillo, amarillo-verdoso, pardo rojizo, pardo oscuro, hasta negro. Su consistencia puede ser gomosa, viscosa, en algunas ocasiones blanda o dura, esto va a depender de la temperatura en la que se encuentre a mayor temperatura más blanda mientras a menor temperatura es más dura y fácilmente quebradiza. Con un fuerte olor aromático a especias, amaderado esto dependerá de la zona de ubicación y la diversidad de vegetación que exista, como existen propóleos que no presentan aroma fuerte. Por otro lado, el sabor por lo general es amargo y picante. (27)

Físicas

Dentro de estas propiedades podemos mencionar lo siguiente:

Densidad: el propóleo tendrá una densidad mayor que la cera.

Punto de fusión: varían entre 60°, 80° hasta 100°C.

Solubilidad: en agua va a ser insoluble, teniendo solubilidad en solventes como acetona, soda cáustica, benceno y etanol, siendo este último el que más se recomienda. (27)

Composición Química

La composición química de los propóleos es compleja y variable, está influenciada por factores de entorno geográfico de acuerdo a la región, por las

necesidades y requerimientos de la colmena en un periodo determinado de tiempo, época de colecta, por el entorno ecológico y flora predominante de las cuales se extraen las resinas y sus compuestos. Aun sabiendo que las abejas son selectivas en la recolección de exudados de las plantas, las condiciones de extracción y beneficio inciden en la calidad del producto final. En otros términos, resultara dificultoso establecer una clasificación universal estándar para los diversos tipos de propóleos. (29)

Entre sus componentes fisicoquímicos una aproximación general se encuentra principalmente:

Las secreciones orgánicas de las plantas y bálsamos, que contienen ácidos fenólicos y flavonoides o sus ésteres (50%), contenido muy variable cera (7-35%), Aceites primordiales y oloroso volátiles (10%). Ácidos aceitosos mayormente natural de la cera y el resto de fuente vegetal (5%), sobresale la presencia del ácido undecílico (7%), el ác. neurónico (10%) y ácidos aceitosos poliinsaturados (38%), como el ác. linoleico, un ácido graso esencial.

El que proporciona proteínas y aminoácidos libres, como la arginina y la prolina. Polen (5%)

También compuestos minerales y microelementos, donde se encuentran con mayor frecuencia el zinc. el hierro, y vitaminas (niacina, ácido pantoténico, riboflavina, provitamina A y tiamina, algunas vitaminas del grupo B, como la B3).

Reducidas cantidades de terpenos, compuestos orgánicos olorosos, taninos, residuos de la segregación de las glándulas salivares de las abejas, etc.

Los esenciales componentes son los flavonoides (que incorpora flavononas, flavonoles, y flavonas), los ésteres y ácidos fenólicos. (29)

Propiedades

En la actualidad la necesidad de alternativas naturales para la terapéutica de diferentes enfermedades constituyo el impulso necesario para indagar en el tiempo y recurrir a los beneficios de productos y sustancias que aporta la naturaleza, como es en este caso el propóleo, el mismo que tiene diversas propiedades que sirven y son empleadas en el área de odontología a la vez que se le atribuyen características importantes como promotor de la salud aplicándolo a la medicina interna, la dermatología y hasta la cosmética que se han beneficiado de las propiedades regeneradoras y cicatrizantes de este producto recolectado por las abejas. Se realizaron numerosas investigaciones en las últimas décadas, enfocadas a determinar las propiedades biológicas de los constituyentes del propóleo a nivel mundial, permitiendo establecer y verificar que gracias a los compuestos fenólicos se les atribuye una acción farmacológica, quedando establecidas sus propiedades antibióticas, fungicida, antiviral, antioxidante, antiinflamatoria, anestésica, cicatrizante, inmunomodulador y antitumoral entre otras. (30)

Antibacteriana

Se comprobó que el mecanismo de acción del propóleo como antibacteriano es realizada por sus flavonoides que se están en esta sustancia, los cuales alteran el potencial de membrana de las bacterias, favoreciendo su disminución y así haciendo perder capacidad de la bacteria a sintetizar ATP, inhibiendo su motilidad e impide se desarrolle la infección y patogénesis de los microorganismos. Muestras analizadas, determinan que el propóleo a través de sus flavonoides, tienen similar actividad biológica bacteriana y actúa sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus-hemolítico*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, incluso frente a *Streptococcus pyogenes*

siendo resistente a los antibióticos. Los flavonoides además de eliminar células micóticas y bacterianas contrarrestan la propagación de las bacterias.

Antifúngica y Anti protozoaria

Se demostraron en estudios in vitro con extracto del producto natural de propóleo diversas propiedades antimicóticas cuyos resultados arrojan actividades antifúngicas favorables sobre dermatofitos, y especies de Cándidas (*Cándida albicans*, *Trichophytonverrucosa*) y algunos protozoos (*Trichomonasvaginalis*, *Giardialamblia*, *Trypanosomacruzi*). Esta cualidad de destruir hongos depende del origen del propóleo y del solvente que sea usado para su extracción y posterior utilización. (29)

Antiviral

Debido a los flavonoides del propóleo se estimula a la producción de Interferones (INFs), las proteínas que tienen varios efectos antivirales tienen efecto inhibidor al virus de la gripe y herpes zoster, incluyendo el fortalecimiento de la membrana celular. Es propóleo y derivados están en la capacidad de inhibir la propagación de los virus e incluso una acción virucida.

Antiinflamatoria y Cicatrizante

Está muy relacionada con la inhibición de enzimas con la degradación de tejidos. Ciertos componentes del propóleo, como el ácido cafeico, tienen un efecto antiinflamatorio ya que ejercen acción en la producción de eicosanoides, sustancias encontradas en los procesos de inflamación. Con excelentes virtudes siendo; antiséptico, astringente y reestructurante tisular. (29)

Anestésica local

De tres a cuatro veces más fuerte como anestésico que la propia cocaína, y por encima de la novocaína.

Antioxidante

El propólis es la mejor fuente natural de antioxidantes, por poseer superior contenido en flavonoides, reconocidos como moléculas altamente antioxidantes que hay en el medio ambiente. (29)

Inmunomoduladora

Puede ser tanto inmuno estimulante como inmunodepresor. En el que favorecerá la endocitosis y la formación de glucoproteínas del grupo gamma e indirectamente elevara su resistencia global para infecciones en general. (30)

Antitumoral

La actividad antitumoral del propóleo es dada a su vez por los flavonoides y afirmando que estos se interponen en el metabolismo energético, crecimiento, la división y apoptosis celular, además de la reparación y transcripción de genes, la inflamación, transmisión neuronal y el estrés. (28)

Implicaciones Odontológicas

Principalmente el propóleo puede ser utilizado en el área odontológica como un agente anti-caries muy eficaz, por sus propiedades anticariogénicas que posee, ya que se comprobó que tiene una acción que inhibe bacterias gram positivas principalmente el *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*. Además, que ya de tiempo atrás se ha venido utilizando como agente anti-caries, sugiriendo que tiene dos mecanismos que van relacionados con las propiedades anticariogénicas/ antiplaca del propóleo que vendrían a ser la actividad

antimicrobiana contra bacterias cariogénicas ya mencionadas e inhiben enzimas glucosil transferasa. (31)

El efecto antimicrobiano que tienen los extractos estará ligado al solvente utilizado, el lugar de donde proviene el propóleo y la bacteria que será analizada, siendo los (EEP) extractos etanólicos los más efectivos. En la composición química del propóleo muestra componentes farmacológicos activos de importancia como los flavonoides, diversos compuestos fenólicos, terpenoides y aromáticos. De los cuales los (flavonoides) y (terpenoides) demostraron poseer mejores propiedades antimicrobianas frente a *Streptococcus mutans*, esto se basa porque puede inhibir las glucosiltransferasas con un efecto bactericida.

Periodoncia

El efecto sobre el periodonto es satisfactorio puesto que demostró actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, cicatrizante y anestésica, en patologías como la gingivitis crónica y úlceras bucales recurrentes e inespecíficas; favoreciendo el tratamiento periodontal, más si compromete la pérdida dental irreversible como consecuencia. En la actualidad se han elaborado productos como enjuagues bucales, por ser un agente antiséptico, antimicótico, antiinflamatorio y bacteriostático, es por ello que se ha visto que inhibe la formación de placa supragingival ya que investigaciones revelan que tiene efecto sobre los gérmenes Gram positivos de la placa supragingival, ayuda en la halitosis, reduce sangrado de las encías y atribuye un efecto positivo en la enfermedad periodontal, puesto que se ha utilizado a forma de irrigante a nivel subgingival en bolsas profundas generando una epitelización de la zona, por estas propiedades el propóleo es considerado útil en el tratamiento de la enfermedad periodontal. Al actuar como antiinflamatorio, el propóleo inhibirá la síntesis de

prostaglandinas, viéndose favorecido el sistema inmune en promover la actividad fagocitaria y estimular a la inmunidad celular. (32)

Cirugía

Para los tratamientos postquirúrgicas luego de extracciones dentarias únicas o múltiples, empleándolas en los alveolos la solución de extracto del propóleo al 10% y solución hidroalcohólica pura, evaluando el efecto en la epitelización y aceleración de la cicatrización, para ayudar en el proceso de cicatrización encontrando así efectos satisfactorios con una pronta recuperación. Usado en úlceras aftosas, estomatitis, teniendo efectos positivos viendo que el propóleo disminuye la incidencia de úlceras aftosas recurrentes y secunda la pronta recuperación de los tejidos intervenidos por su efecto antiinflamatorio.

Endodoncia

Ayuda como cicatrizal en exposición pulpar y estimula a formar dentina reparativa, actúa en los túbulos dentinarios dando respuesta de una obliteración parcial y minimizando sensibilidad dental. Se ha usado como un tipo de irrigante en conductos radiculares en tratamientos de endodónticos asemejando el efecto desinfectante del hipoclorito de sodio, es factible usarlo como material obturador y siendo benéfico por no pigmentar la corona. A la vez cumple como un medio de almacenamiento, con efecto similar a la de la solución salina, o leche después de la avulsión de una pieza dentaria.

Radiología

Otro beneficio del propóleo es eliminar el daño causado en radiación ionizante en cromosomas, por su propiedad anti-oxidante da una protección en tanto a la radiación Gamma.

Contraindicaciones

Es de importancia indicar que como toda sustancia y/o producto así sea natural el ser humano puede generar reacciones alérgicas muy aparte de sus múltiples beneficios del propóleo en el campo de la salud, este pequeño porcentaje de población que puede ser alérgica a este compuesto y demás productos derivados de la abeja (polen, jalea real, miel, veneno) ya tiene una contraindicación para poder utilizar y ser beneficiados con el producto natural (54,55). Es por ello que es trascendente realizar a los pacientes pruebas de alergia provocada antes de comenzar algún tratamiento con propóleo y/o derivados. Estas reacciones adversas al propóleo surgen generalmente en personas que presentan alergia a las abejas es decir a su picadura, también se pueden considerar dentro de este grupo a personas que tienen ya antecedentes de alergias sobre todo del aparato respiratorio y cavidad oral. (31)

Toxicidad

El uso del propóleo data de miles años atrás por la humanidad, esto por sus propiedades benéficas ya demostradas que posee y es de gran ayuda antibacteriana, antimicótica, antiviral, antiinflamatoria, cicatrizante, anticariógeno, etc. Se investigó mucho acerca de las propiedades benéficas de esta sustancia natural pero sobre una posible toxicidad los estudios hallados son limitados mismo por todas las bondades que el propóleo brinda, sin embargo en estudios in vitro en células periféricas del ser humano se encontró una significativa muerte celular esto siendo susceptible de cambio al interactuar in vivo en el propio organismo ya que serían diluidas en el sistema humano siendo así mínimo casi nulo el efecto toxico encontrado sobre as células. (32)

Métodos de Recolección del Propóleo

Se reconocen dos técnicas para la recolección del propóleo, la primera consiste en una recolección más artesanal la cual será recolectada de lugares como bordes de

la colmena en las tapas de la misma, entre las rejillas y marcos, se realiza un raspado con una espátula generalmente de metal por la facilidad que esta brinda el desprender el propóleo adherido a la superficie, la facilidad de esta será dependiendo del clima en la que se encuentre es decir la temperatura a la que se recolecte será la que facilite o dificulte la recolección siendo a temperaturas altas que el propóleo se torna viscoso y más fácil de retirar que a temperaturas bajas que se torna friable y endurecido y se necesitara más destreza y fuerza al raspado, esta técnica será la que este más expuesta a impurezas ya que al raspar se puede sacar trozos de madera, insectos que se quedan atrapados entre el material, cera mezclada, etc, esto dependerá íntegramente de la destreza y delicadeza del apicultor en remover y reconocer las impurezas del propóleo que se recolecte para así tener como producto final un propóleo de calidad y este no se vea afectado. (28) La segunda técnica se basa en la recolección del propóleo por medio de un sistema de malla plástica con múltiples agujeros, la cual será ubicada en la parte superior de la última alza, en las cajas de la colmena para poder inducir a que las abejas obreras cubran y sellen por completo con propóleo todos estos espacios que existen en la malla. Estos agujeros de la malla no deben superar los 4mm de diámetro ya que de ser así las obreras podrían confundirlos con lugares de acceso y en vez de sellarlas con propóleo serían considerados como un lugar de paso. Estas mallas facilitan de alguna manera la recolección del propóleo ya que son dejadas por un periodo aproximado de tres meses más menos para asegurar el sellado de las mismas, siendo en este plazo en el que el apicultor ira a descubrir las colmenas y simplemente sacar las mallas del alza de la colmena para llevárselas a limpiarlas en su totalidad, existen algunos apicultores que recomiendan colocarlas a refrigeración por un tiempo prudente para que estas se congelen y endurezcan tanto que con unos simples golpes se desprendan más rápidamente por esta técnica, ahorrando así tiempo y siendo una manera algo más estéril de recolección de propóleo ya que por este método es mucho más difícil que queden

atrapadas las mismas abejas o insectos o que se puedan quedar trozos de madera ya que no se utilizara método de raspado y están completamente separadas de la caja de la colmena. (27)

2.3 Definición de Términos Básicos

Cándida albicans: Un hongo unicelular que brota y que es la principal especie patógena causante de la candidiasis. (33)

Antimicótico: Destructivo para los hongos, o que suprime su reproducción o crecimiento eficaz contra las infecciones fúngica. (33)

Propóleo: Conjunto de resinas recogidas y seleccionadas, por abejas, de las gemas apicales o de la corteza de los troncos de plantas y árboles resinosos. (28)

Cepa: Grupo de organismos emparentados, como las bacterias, los hongos o los virus, cuya ascendencia común es conocida. (34)

CAPÍTULO III:

METODOLOGÍA

3.1 Métodos de alcance de la investigación

La presente investigación será desarrollada por el método científico.

El tipo de investigación es aplicada.

El nivel de investigación es explicativo.

3.2 Diseño de investigación

Diseño experimental, pre-experimental, longitudinal, prospectiva.

3.3 Población de estudio

Para el presente trabajo la población de estudio estará constituida por seis placas de patógeno micótico, en este caso será la *Cándida albicans*.

La muestra es de tipo censal, es decir con las tres placas.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada para el presente trabajo de investigación es la de observación directa.

Como instrumento empleado para la presente investigación utilizamos una ficha de recolección de datos experimentales con un Check List.

Recolección y obtención del propóleo:

Se realizaron las coordinaciones pertinentes con los apicultores de las diferentes zonas en las cuales se realizó la recolección del propóleo. Los propóleos son recolectados en los apiarios localizados en Sigvas-Chuquibamba provincia de Arequipa. Todos ellos se caracterizan por ser estacionales, por no practicar la trashumancia y por poseer amplia vegetación silvestre que garantice de esta manera no estar en contacto con algún tipo de pesticida. La recolección de los propóleos se realiza por el equipo de investigación usando como protocolo estandarizado: el uso de espátulas de plástico de bisel activo con filo y mallas de plástico, para luego llevar las muestras a recipientes de vidrio estéril con tapa hermética, obteniendo aproximadamente 900 gramos de todo el sector. Para ser transportadas a su procesamiento estas fueron envueltas debidamente en plástico oscuro y selladas con cinta de embalaje asignándoles un código que identifico al final del estudio cada muestra recolectada, para garantizar el cegamiento en el estudio.

Preparación del extracto etanólico de propóleo:

La elaboración de los extractos brutos se realizó en laboratorio privado de la ciudad de Arequipa, una vez que se obtenidos los propóleos se fracciono en trozos de 2 cm aproximadamente finamente cortados, pasando por un proceso de purificación para ser colocado a refrigeración de 0 °C por 24 horas y así solidificarlos. Posteriormente se pulverizo con ayuda de un mortero de porcelana hasta obtener polvo. Seguidamente, el polvo se tamiza con ayuda de un set de tamices para poder uniformizar las partículas que se obtienen, y son macerados con etanol grado P.A (Para Análisis) con un volumen aproximado de 500 a 600 ml por cada muestra de

propóleo. Esto se hizo por una semana hasta ver la solubilización de los propóleos. A la segunda semana se procedió a filtrar la primera maceración, mediante un embudo de vidrio de 20cm de diámetro y algodón y un refractario de vidrio para su recolección y posteriormente el filtrado se llevará a campana de extracción. Seguidamente se gradúan frascos de color ámbar, se vierte el polvo graduado a cada concentración que corresponda y son almacenados listos para la posterior utilización.

Procesamiento de las cepas de cultivo:

Como microorganismo utilizamos las cepas de *Cándida albicans* (ATCC 10231) las cultivamos y empleamos en el proceso experimental conjuntamente con el extracto etanólico preparado al 25%, 55% y 85% de concentración.

Las cepas de *C. Albicans* ATCC 10231 para la prueba se reactivaron sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5ml de agar Sabouroud y se incubo a temperatura ambiente por 24 a 48 horas para así estimular el crecimiento, después las replicamos en caldo BHI por 24 horas a temperatura ambiente y finalmente fueron suspendidas en caldo Sabouroud hasta que alcanzaron la turbidez adecuada.

Las cepas de *C. albicans* en Caldo BHI y Agar Sabouraud se sembraron en Agar Sabouraud, e incubaron a 37°C en el periodo de 24 hrs, con el fin de obtener colonias jóvenes. Posteriormente de las 24 horas cada colonia de *C. albicans* ATCC 10231 se colocaron en solución salina fisiológica estéril y se hizo suspensiones con una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 bact./mL)

En los minutos siguientes a la regulación de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 bact/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton suplementado con 2 % de glucosa (AMHG), con hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión de la

levadura en tres direcciones para asegurar una igualdad del inóculo en la placa, se eliminó el exceso de humedad a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos.

Se incubaron las placas, a 37°C durante 24 y 48 horas. Las pruebas se realizaron para cada extracto etanólico de propóleo simultáneamente al 25%, 55% y 85% respectivamente.

Medición de los halos de inhibición:

Sobre la superficie de la placa inoculada se colocó discos de papel de filtro whatman número 4 estériles los que con una micropipeta fueron impregnados con 30 ul de las concentraciones del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85%, este se difundió de forma radial y posteriormente se incubó la placa durante 24h y 48h a 37°C, seguidamente pasamos a medir los halos de inhibición del desarrollo para cada concentración, interpretando así los resultados que los expresamos como: S (sensible) - M (moderado) y R (resistente). El tamaño del desarrollo del halo de inhibición vario dependiendo la concentración, la sensibilidad micótica, la difusión del extracto, el tiempo y temperatura de incubación, el pH y composición del medio, profundidad del medio en placas y el tamaño del inóculo previamente ya sembrado en las placas.

Lectura de los Resultados:

Pasado 24 y 48 horas de incubación se examinó placa por placa y se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición (mm) del crecimiento alrededor de cada disco. Para lo cual se utilizó una regla milimetrada Vernier digital, abarcando el diámetro del halo.

CAPÍTULO IV:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del tratamiento y análisis de la información

Tabla 1 datos a las 24 y 48 hrs. al 25%

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
24 horas	5	6.0840	.01817	.00812
48 horas	5	6.3840	.02074	.00927

Interpretación:

En la tabla 3, se tienen las medias a 24 y 48 horas al 25%. Se observa que luego de 24 horas el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 6.0840 ± 0.01817 , y luego de 48 horas, el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 6.3840 ± 0.02074 .

Tabla 2 prueba t de muestras emparejadas

	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	.000	1.000	-24.333	8	.000	-.30000	.01233	-.32843	-.27157
No se asumen varianzas iguales			-24.333	7.864	.000	-.30000	.01233	-.32852	-.27148

Prueba de hipótesis

Si $P\text{-valor} = < \alpha$, se rechaza la H_0 (Se acepta H_1).

Si $P\text{-valor} > \alpha$, no se rechaza la H_0 (Se acepta H_0).

Interpretación:

En la tabla 2 se observa $P\text{-valor} = 0,000 < \alpha = 0,05$ inferior a Sig. 0,05. Por lo tanto, el propóleo es efectivo al 25% tanto a las 24 como a las 48 horas.

Tabla 3 datos a las 24 y 48 hrs. al 55%

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
24 horas	6.7860	.21513	.09621	6.7860
48 horas	7.1840	.01817	.00812	7.1840

Interpretación:

En la tabla 3, se tienen las medias a 24 y 48 horas al 55%. Se observa que luego de 24 horas el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 6.7860 ± 0.21513 , y luego de 48 horas, el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 7.1840 ± 0.01817 .

Tabla 4 prueba t de muestras emparejadas

	F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
Se asumen varianzas iguales	10.154	.013	-4.122	8	.003	-.39800	.09655	-.62065	-.17535
No se asumen varianzas iguales			-4.122	4.057	.014	-.39800	.09655	-.66459	-.13141

Prueba de hipótesis

Si $P\text{-valor} < \alpha$, se rechaza la H_0 (Se acepta H_1).

Si $P\text{-valor} > \alpha$, no se rechaza la H_0 (Se acepta H_0).

Interpretación:

En la tabla 4 se observa $P\text{-valor} = 0,000 < \alpha = 0,05$ inferior a Sig. 0,05. Por lo tanto, es efectivo el propóleo al 55% tanto a las 24 como a las 48 horas.

Tabla 5 datos a las 24 y 48 hrs. Al 85%

	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
24 horas	5	7.3960	.02966	.01327
48 horas	5	7.5940	.02408	.01077

Interpretación:

En la tabla 5, se tienen las medias a 24 y 48 horas al 85%. Se observa que luego de 24 horas el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 7.3960 ± 0.02966 , y luego de 48 horas, el halo de inhibición tiene un diámetro promedio de 7.5940 ± 0.02408 .

Tabla 6 prueba t de muestras emparejadas

	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
Se asumen varianzas iguales	.028	.871	-11.587	8	.000	-.19800	.01709	-.23741	-.15859
No se asumen varianzas iguales			-11.587	7.676	.000	-.19800	.01709	-.23770	-.15830

Prueba de hipótesis

Si $P\text{-valor} < \alpha$, se rechaza la H_0 (Se acepta H_1).

Si $P\text{-valor} > \alpha$, no se rechaza la H_0 (Se acepta H_0).

Interpretación:

En la tabla 6 se observa $P\text{-valor} = 0,000 < \alpha = 0,05$ inferior a Sig. 0,05. Por lo tanto, es efectivo el propóleo al 85% tanto a las 24 como a las 48 horas.

4.2 Prueba de hipótesis

H0: Las medias poblacionales son iguales al 25%, 55% y 85%

H1: Al menos dos medias poblacionales son distintas

Tabla 7 prueba de homogeneidad de varianzas

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
4,002	2	27	,030

Interpretación:

La tabla 7 nos permite contrastar la hipótesis de igualdad de varianzas poblacionales. Ya que el nivel crítico (sig.) es menor a 0,05, debemos rechazar la hipótesis de igualdad de varianzas.

Tabla 8 prueba ANOVA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8,040	2	4,020	121,255	,000
Dentro de grupos	,895	27	,033		
Total	8,935	29			

Interpretación

La tabla 8, que nos ofrece el estadístico $F=121.255$ con su nivel de significación $\text{Sig.} = 0.000$. Ya que el nivel de significación es menor a 0.05, rechazamos la hipótesis de igualdad de medidas.

Tabla 9 pruebas post hoc

		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
85%	55%	,51500*	.08143	.000	.3131	.7169
	25%	1,26100*	.08143	.000	1.0591	1.4629
55%	85%	-,51500*	.08143	.000	-.7169	-.3131
	25%	,74600*	.08143	.000	.5441	.9479
25%	85%	-1,26100*	.08143	.000	-1.4629	-1.0591
	55%	-,74600*	.08143	.000	-.9479	-.5441

Interpretación

En la tabla 9 se muestran las pruebas post hoc, donde se encuentran diferencias significativas al 5% en los siguientes casos: las medias de propóleo al 85% y 55%, 85% y 25% y con 55% y 85%.

4.3 Discusión de resultados

En este estudio se observó la presencia de efectividad antimicótica del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* a las 24 y 48 hrs. Respectivamente, con el objetivo comprobar el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo a dichos porcentajes sobre cepas de *Cándida albicans*. Como se aprecia de los resultados obtenidos, en todos los casos se evidenció diferencias sobre el efecto en *Cándida albicans* como antimicótica entre los diferentes porcentajes evaluados del propóleo, las diferencias encontradas de cada porcentaje a las 24 y 48 hrs. Fueron considerables según el porcentaje del propóleo, siendo estadísticamente significativas, por lo tanto podemos afirmar que existe efecto antimicótico del extracto de propóleo al 25, 55 y 85% sobre *Cándida albicans*.

Según Maureira et al, el trabajo de extracto etanólico de propóleo chileno que se obtuvo en la zona de Olmué inhibe el crecimiento de *Cándida spp.*, y el resultado fue una acción fungicida al 100 % que se puede comparar con el resultado del trabajo que presenta efectividad frente a *Cándida albicans* a un 25%, 55% y 85% del extracto etanólico respectivamente.

Según Mendoza, llegó a la conclusión que el extracto etanólico de la sierra liberteña presentó un efecto superior antifúngico que el de la costa liberteña frente a cepas de *Cándida albicans* ATCC 1023. Demostrándose que ambos extractos etanólicos de propóleos liberteños presentan actividad antifúngica sobre *Cándida albicans* ATCC 1023. Validando con nuestra presente investigación que afirma un efecto antimicótico del extracto etanólico a las tres concentraciones utilizadas.

Según Sforcin et al., en su investigación obtuvieron que *C. tropicalis* y *C. albicans* son susceptibles a una baja concentración de propóleo. Las levaduras, *C. albicans* tuvieron mayor susceptibilidad a la concentración de 30% de propóleo. Concluyendo que la actividad antifúngica se debió solo a componentes de propóleo. Se valida con la presente investigación la efectividad del extracto etanólico de propóleo a una concentración del 25%.

Según Espinoza, El efecto antifúngico sobre la cepa *Cándida albicans* ATCC 10231 demostró ser más efectiva con la sustancias química (Nistatina) y fue de menor efectividad para el extracto de propóleo ecuatoriano al 30% y al 15%, se puede comparar con la presente investigación que a las concentraciones de 25% y 55% el extracto etanólico de propóleo son efectivas sobre *cándida albicans* no haciendo comparación con un producto antimicótico alternativo.

CONCLUSIONES

1. Se comprobó el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021, con un p valor = 0,000.
2. Se comprobó el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25%, sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.
3. Se comprobó el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 55% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.
4. Se comprobó el efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 85% sobre cepas de *Cándida albicans* Arequipa 2021.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Crea P. Propoleo y demas productos de la colmena. en Español ed. Continente , editor. New York: Continente; 1993.
2. Ishtiaq S, Ullah A, Ali K. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences. 2019 November; Volume 26,(7).
3. Przybyłek I, Karpiński T. Antibacterial Properties of Propolis. MDPI Journals. 2019 May; 24(11).
4. Herrera M. Caracterización química y actividad biológica de propóleos producidos en el estado de Yucatán. Tesis. Merida , Mexico: Centro de Investigaciones científicas de Y.A., Posgrado en Ciencias Biológicas; 2019.
5. Chaitow L. Candida Albicans: Natural Remedies for Yeast Infection: SimonSchuster: Healing Arts; 2016.
6. Juzbašić, Matij, Talapko. Candida albicans—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. Journal Fungi (Basel) Pubmed. 2021 January 22; 7((2)).
7. Nobile C, Gulati M. Candida albicans biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Microbes and Infection. 2016 May; 18(5).
8. Maureira N, Viera P, Fernandez A, Urrejola M, Bravo C, Mardones F, et al. Susceptibilidad de Cepas de Candida Oral a Extracto Etanólico del Propóleo Chileno de Olmué. Int. J. Odontostomat. 2017 Setiembre; 11(3).
9. Huaytalla RM, Gálvez CM, Carhuapoma M, Alvarez MA, López S. Efecto inhibidor in vitro del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de Lactobacillus acidophilus. Revista Estomatologica Herediana. 2018 Enero; 28(1).
10. Elias E. Estudio comparativo del efecto antifúngico entre el extracto hidroetanólico mixto de miel y propóleo de apis mellifera vs. Extracto hidroetanólico de propóleo sobre cepas de candida albicans ATCC 10231, Trujillo - 2018. Tesis Pregrado. Trujillo: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la Salud; 2018.
11. Mendoza M. Estudio comparativo del efecto antifúngico del extracto etanólico de propóleos de la sierra y costa liberteña sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231, Trujillo - 2018. Tesis Pregrado. Trujillo: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Escuela Profesional de Odontología; 2018.
12. Joya M, Gil M, Bastidas G. Fungistatic and fungicidal activity ethanolic propolis extracts on the in vitro growth of strains of Candida. Tecnología en Marcha. 2017 Julio; 30(3).

13. Sforcin JM, Fernandes Júnior A, Lopes CAM, Funari SRC, Bankova V. Seasonal effect of brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J. Venom. Anim. Toxins*. 2020 Abril; 7(1).
14. Viloria J, Gil J, Durango D, Marín J, Correa G. Actividad In Vitro De Extractos Etanólicos De Propóleos Del Bajo Cauca Antioqueño Sobre Dos Hongos Filamentosos Y Uno Levaduriforme. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 2016 julio; 9(2).
15. Espinoza PA. Efecto Antifúngico In Vitro Del Extracto De Propóleo Ecuatoriano Comparado Con La Nistatina Sobre La Cándida Albicans. Tesis Pregrado. Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Odontología; 2017.
16. Calla KK, Quispe DK. Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del propolis "Propóleos de Tres Regiones del Sur del Perú sobre el crecimiento de *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Tesis Pregrado. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas; 2016 Abril.
17. Ramirez T, Vilcapaza MN. 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. Tesis Pregrado. Puno: Universidad Nacional Del Antiplano, Escuela Profesional De Odontología; 2016.
18. Gaitán EA. Comparacion in vitro del efecto antibacteriano entre el hipoclorito de sodio y extracto hidroetanólico de propóleo contra *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Tesis Pregrado. Pimentel: Universidad Señor de Sipán, Escuela Académico Profesional de Estomatología; 2019.
19. Checalla JL, Sánchez M. Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a *Streptococcus mutans*. *International journal of odontostomatology*. 2021 Marzo; 15(1).
20. Manzo G, Pérez R, Chan W, Silva E, Sánchez JC, Ayala MÁ, et al. Actividad antifúngica de extractos etanólicos de propóleo contra *Mycosphaerella fijiensis*: un estudio in vitro. *Scientia fungorum*. 2018 Junio; 47.
21. Vasquez LY. Efecto Antifungico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis Pallida* (algarrobo) sobre *Candida albicans* ATCC 90028. Tesis Pregrado. Piura: Universidad César Vallejo., Escuela Académico Profesional De Estomatología; 2017.
22. Barreto I, Constantino J. Caracterización de los Propóleos del Distrito de Huaraz y su Efecto Conservante en Yogur Frutado. Tesis de Maestria. Lima: Universidad Federico Villareal, Escuela Univeresitario De Posgrado; 2019.
23. Bonifaz A. *Micología médica básica*. 4th ed.: McGraw-Hill interamericana; 2012.

24. Negroni M, Molgatini S. Microbiología Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 3rd ed. Panamerica M, editor. Buenos Aires: Medica Panamerica; 2018.
25. Marsh P, Martin M, Lewis M, Williams D. Oral Microbiology. 6th ed. Amolca , editor. Caracas: Churchill Livingstone; 2016.
26. Liébana J. Microbiología oral. 2nd ed. McGraw-Hill , editor.: McGraw-Hill; 2002.
27. Salamanca GG. Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo. 2nd ed. Tolima , editor. Ibagué: Sello Editorial Universidad del Tolima, 2017; 2017.
28. Cramp D. A Practical Manual of Beekeeping: How to Keep Bees and Develop Your Full Potential as an Apiaris. 9th ed. Books SH\HT, editor. NY: Spring hill house; 2009.
29. Alvarez JM. Bee Products - Chemical and Biological Properties. 3rd ed. Alvarez-Suarez JM, editor. Quito: SPRINGER; 2017.
30. Ghosh , Mukherjee PK. Natural Medicines: Clinical Efficacy, Safety and Quality Dilip Ghosh PKM, editor.: CRC Press; 2019.
31. Munro M. Treatment With Propolis. Edición Kindle ed. Lulu Press I2, editor. NY*: Unlimited; 2015.
32. Cardoso , Silva AMS. Chemistry, Biology and Potential Applications of Honeybee Plant-Derived Products. Bentham Science Publishers ed. Cardoso SM, editor.: Bentham eBooks; 2016.
33. Philip P. Candida albicans a medical dictionary, bibliography and annotated research guide to internet references. 10th ed. James Parker PP, editor. San Diego: ICON health publications; 2004.
34. Española AAdAdL. DEL. [Online].; 2022 [cited 2022 Junio Lunes. Available from: <https://dle.rae.es/cepa>.

ANEXOS

Cepa de *Cándida albicans* ATCC 10231

CODIGO	PRODUCTO
H03918-A	KWIK-STIK <i>Candida albicans</i> derived from ATCC® 10231™ Marca: Microbiologics Cod. Proveedor: 0443P

Sabouraud 4%



Cultivo liofilizado



Sembrado del cultivo liofilizado en tubo con 5 ml de caldo sabouraud



**Suspensión de la levadura
Obtenida**



Inoculación y Preparación de los discos con el extracto etanólico de propóleos de *Apis mellifera*

Inoculación placas de Müller Hinton



Discos de papel filtro whatman número 3 estériles

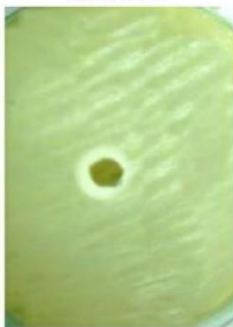


HALOS DE INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO

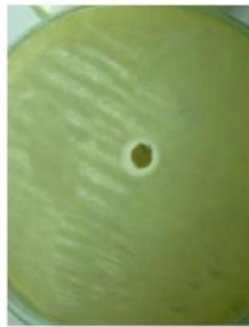
25% a 24 H.



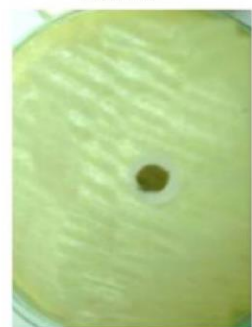
55% a 24 H.



85% a 24 H.



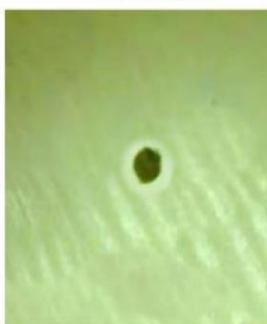
25% a 48



55% a 48 H.



858% a 48 H.



RECOLECCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO: obtención de propóleo



Cultivo liofilizado



Quitando la rejilla de la trampa

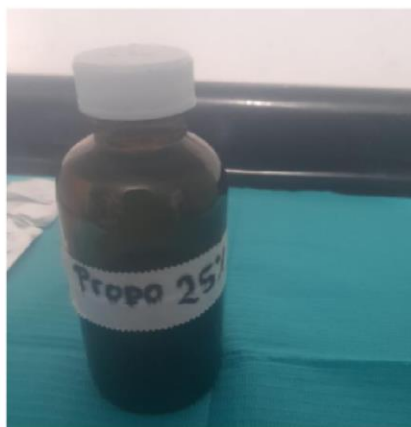


Recolectando

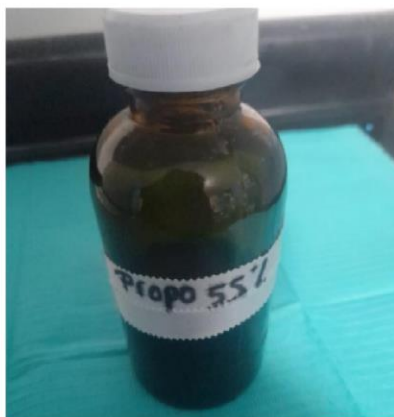


**Lugar donde obtuvimos
propóleo**

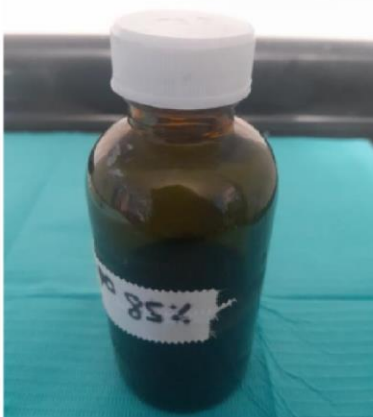
Obtención del extracto etanólico de propóleo al 25%, 55% y 85%



Extracto etanólico de
propóleo al 25%



Extracto etanólico de
propóleo al 55%



Extracto etanólico de
propóleo al 85%

Anexo 5

Factura de compra: *cándida albicans* ATCC 10231



Gen Lab del Perú S.A.C
 Jr. Capac Yupanqui N°. 2434
 Lince - Lima - Perú
 Central Telefónica
 (51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501
 Email : ventas@genlabperu.com
 Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260
FACTURA
ELECTRONICA
F002-002045

Page 1 of 1

Fecha emisión : 14/01/2022

Orden Compra: 052340

Fecha Vcto : 14/01/2022

Guia de Remisión :

Cliente: UNIVERSIDAD CONTINENTAL SOCIEDAD ANONIMA CERRADA

N° Pedido : 030019

Dirección: AV. SAN CARLOS NRO. 1980 URB. SAN ANTONIO

HUANCAYO - HUANCAYO - JUNIN - Peru

Tipo Mov. : ANTICIPOS

Anticipo: F002-001965

RUC : 20319363221

Lugar de destino : PASAJE 7 DE JUNIO 219- MARIANO MELGAR AREQUIPA

Código	Descripción	Cant	U/M	Precio Unit.	Dscto	Sub-Total
H03918-A	KWIK-STIK Candida albicans derived from ATCC® 10231™	1	UND	459.2800	0.00	459.28



CONTADO

Cuotas	Forma Pago	Importe	Fecha Venc.
1	Contado	S/ 525.69	14/02/2022
	Retención(3.00%)	S/ 16.26	
	Detracción		
	Penalidad		
	Monto Pendiente de Pago	S/ 525.69	

Sub-Total	459.28
Anticipo	376.40
Op. Gravada S/	459.28
IGV 18%	82.67
Importe Total S/	541.95

QUINIENTOS CUARENTA Y UNO CON 95/100 SOLES

Representación Impresa de la Factura Electrónica
 Consulte : <http://cpe.genlabperu.com>

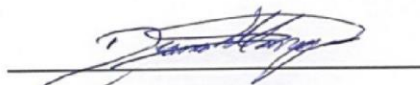
CONSTANCIA

Yo, Diana Lizeth Manrique Godoy identificada con DNI
N° 41613134 con CBP: 6215.

Por el presente hago constar el asesoramiento de la parte laboratorial del trabajo de investigación con el título de: El efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25, 55 y 85% sobre cepa de *Candida albicans* Arequipa 2021, presentado por los bach. Encalada Ramos Lener Jesús con dni.46655287 y bach. Marín Calla Diana Corali. Con dni. 72948527. Haciendo constar que los resultados del trabajo de investigación fueron: a las 24hrs. al 25% (7,6mm), 55% (8,5mm) y al 85% (8,9mm), a las 48 hrs. al 25%(7,9mm), 55% (8,7mm) y a las 85%(9,1mm) de halos de inhibición.

Arequipa 6 de febrero del 2022.

Atentamente;


FIRMA

Bióloga. Diana Lizeth Manrique Godoy
CBP: 6215

GOBIERNO REGIONAL DE AREQUIPA
GERENCIA REGIONAL DE SALUD
RED DE SALUD AREQUIPA CAYLLOMA
C.S. BUENOS AIRES DE CAYMA


Coordinadora Laboratorio
CBP: 6215

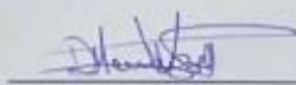
CONSTANCIA

Yo, DAYNEE CARMEN MENDOZA PARI identificada con DNI N° 45857310 con CQFP: 21419. Por el presente hago constar el asesoramiento de la parte laboratorial del trabajo de investigación con el título de: El efecto antimicótico del extracto etanólico de propóleo al 25, 55 y 85% sobre cepas *Candida albicans* Arequipa 2021, presentado por los bach. Encalada Ramos Lener Jesús con dni.46655287 y bach. Marín Calla Diana Corali. Con dni. 72948527. Haciendo constar el procesamiento del extracto etanólico del propóleo a los porcentajes de 25, 55 y 85%.

Se expide la presente constancia para los fines que estime por conveniente.

Arequipa 6 de febrero del 2022.

Atentamente;



Q.F. DAYNEE CARMEN MENDOZA PARI
CQFP: 21419