



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

TESIS

**“Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a
Candida albicans de pacientes con candidiasis
vulvovaginal en el año 2021”**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor:

**Br. RODRÍGUEZ LOYOLA, GINA ANDREA
(ORCID: 0000-0002-4907-1243)**

Asesor:

**Dr. COLLANQUE PINTO, JESÚS DANIEL
(ORCID: 0000-0003-2855-1632)**

Lima – Perú

2021

Dedicatoria

Por darme la vida, por priorizar mis necesidades, por su amor incondicional y por ser unos ejemplos a seguir, a ustedes mis padres, Ana Loyola y Emiliano Rodríguez.

A Don Andrés Loyola, mi abuelo, aunque hayas partido agradecida siempre contigo por encaminar mi vida, tu cariño y por tus grandes consejos.

Luis Rodríguez, mi hermano; por enseñarme a ser perseverante; por ser el mejor compañero y uno de los mejores apoyos.

Agradecida siempre estaré con ustedes, por ser parte de mi vida y mi crecimiento por ello se lo dedico cada uno de mis objetivos.

Br. Rodríguez Loyola, Gina Andrea

Agradecimiento

Agradecida con Dios por haberme otorgado a una familia, cubrir de amor a mi hogar, bendecir mis días y llenarme de fuerzas.

Al Dr. Jesús Daniel Collanque Pinto por compartir sus conocimientos, por despertar mi aprendizaje en la parte investigativa experimental, por dar lo mejor de usted y por dedicar su tiempo para el desarrollo de la presente tesis.

De igual forma agradezco a mi alma mater, la Universidad Norbert Wiener, mi segunda casa que me permitió ser partícipe de nuevas oportunidades y enriquecer mis conocimientos con los grandes maestros que transmiten sabiduría.

Br. Rodríguez Loyola, Gina Andrea

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
Introducción	10
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	11
1.1. Planteamiento del problema	11
1.2. Formulación del problema	14
1.2.1. Problema general	14
1.2.2. Problemas específicos	14
1.3. Objetivos de la investigación	15
1.3.1. Objetivo general	15
1.3.2. Objetivos específicos	15
1.4. Justificación de la investigación	16
1.4.1. Teórica	16
1.4.2. Metodológica	16
1.4.3. Práctica	16
1.5. Limitaciones de la investigación	16
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes de la investigación	18
2.2. Bases teóricas	23
2.3. Formulación de hipótesis	31

2.3.1. Hipótesis general	31
2.3.2. Hipótesis específicas	32
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	34
3.1. Método de investigación	34
3.2. Enfoque investigativo	34
3.3. Tipo de investigación	34
3.4. Diseño de la investigación	34
3.5. Población, muestra y muestreo	35
3.6. Variables y operacionalización	36
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	36
3.7.1. Técnica	36
3.8. Procesamiento y análisis de datos	37
3.9. Aspectos éticos	43
CAPÍTULO IV. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	44
4.1. Resultados	44
4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados	44
4.1.2. Prueba de hipótesis	46
4.1.3. Discusión	49
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1. Conclusiones	52
5.2. Recomendaciones	52
REFERENCIAS	53
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal representada mediante halos de inhibición. 44
- Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda representada mediante halos de inhibición. 45
- Tabla 3. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente representada mediante halos de inhibición. 46
- Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA) de los halos de inhibición (mm) generados en las cepas de *C. albicans* por efecto del extracto de propóleo y del fluconazol. 47
- Tabla 5. Comparación de la actividad antifúngica entre las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente mediante la prueba de significancia de Tukey. 47
- Tabla 6. Comparación de la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal mediante la prueba de significancia de Tukey. 48

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia	62
ANEXO 2. Operacionalización de variables	63
ANEXO 3. Ficha de recolección de datos para Candidiasis vulvovaginal aguda	64
ANEXO 4. Ficha de recolección de datos para Candidiasis vulvovaginal recurrente	64
ANEXO 5. Flujograma de la elaboración del extracto	65
ANEXO 6. Flujograma de la obtención de las cepas de <i>Candida albicans</i>	66
ANEXO 7. Identificación de las cepas de <i>C. albicans</i>	67
ANEXO 8. Flujograma de la identificación de <i>Candida albicans</i>	68
ANEXO 9. Flujograma de la prueba de tubo germinativo	69
ANEXO 10. Flujograma de la prueba API 20 C AUX <i>Candida</i>	70
ANEXO 11. Flujograma de preparación de los grupos controles	71
ANEXO 12. Flujograma de prueba de susceptibilidad antifúngica	72
ANEXO 13. Carta de autorización de ejecución de proyecto de investigación de la Clínica María del Socorro	73

Glosario de términos

CVV: Candidiasis vulvovaginal

OMS: Organización Mundial de la Salud

spp: Más de una especie sin nombre

ug/ml: Relación de miligramo por mililitro

ATCC: Colección de cultivo tipo americano

CMF: Concentración Mínima Fungicida

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

p/v: Peso de soluto y el volumen de la solución

mm: Milímetro

CMB: Concentración Mínima Bactericida

mg/ml: Relación de miligramo por mililitro

UI: Unidad Internacional

SAP: Proteasa, aspártica y secretada

ACOG: Colegio Americano de Ginec obstetricia

mg: Miligramo

C.: *Candida*

API: Índice Analítico de Perfil

CLSI: Institutos de estándares Clínicos y Laboratorios

RESUMEN

En la presente investigación se planteó como objetivo general evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a *Candida albicans* de pacientes con candidiasis vulvovaginal en el año 2021. La investigación presenta un enfoque cuantitativo con un diseño experimental, tuvo como población a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal que ingresaron al Servicio de Ginecología de la Clínica María del Socorro, distrito de Ate – Lima, de la cual se eligió una muestra de 34 cepas en total, cifra obtenida de la interacción entre 17 cepas de *C. albicans* (nueve de candidiasis vulvovaginal aguda y ocho de candidiasis vulvovaginal recurrente) y dos tratamientos, los cuales fueron el extracto de propóleo y el fluconazol y considerando tres repeticiones por cepa, se obtuvo 102 unidades experimentales. Se procedió a realizar la prueba de susceptibilidad antifúngica por el método de disco difusión en placa utilizando una sola concentración de extracto de propóleo, considerando como control positivo al fluconazol. En los resultados se mostró que, el extracto de propóleo logró inhibir la totalidad de las cepas de *C. albicans*, al igual que el fluconazol, siendo el efecto de este último, significativamente mayor en comparación con el del producto investigado. Se concluyó que, el extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a *C. albicans* de pacientes con candidiasis vulvovaginal en el año 2021.

Palabras clave: Extracto de propóleo, *Candida albicans*, Actividad antifúngica, Candidiasis vulvovaginal.

ABSTRACT

In this research, the general objective was to evaluate the antifungal activity of propolis extract against *Candida albicans* in patients with vulvovaginal candidiasis in 2021. The research presents a quantitative approach with an experimental design that had *C. albicans* isolated from patients diagnosed with vulvovaginal candidiasis admitted to the Gynecology Service of the Maria del Socorro Clinic, district of Ate - Lima, from which a sample of 34 strains in total was derived, a figure obtained from the interaction between 17 strains of *C. albicans* (nine acute vulvovaginal candidiasis and eight recurrent vulvovaginal candidiasis) and two treatments, which were propolis extract and fluconazole, and considering three repetitions per strain, 102 experimental units were obtained. The antifungal susceptibility test was carried out by the plate diffusion disk method using a single concentration of propolis extract, considering fluconazole as a positive control. The results showed that the propolis extract was able to inhibit all the strains of *C. albicans*, as well as fluconazole, the effect of the latter being significantly greater compared to that of the investigated product. It was concluded that the propolis extract does have antifungal activity against *C. albicans* in patients with vulvovaginal candidiasis in the year 2021.

Keywords: Propolis extract, *Candida albicans*, Antifungal activity, Vulvovaginal Candidiasis.

Introducción

Se organiza en cuatro capítulos la presente investigación:

El Capítulo I, se enfoca en la problemática desde lo internacional hasta la nacional, enfocándose siempre en el problema de la investigación. Aquí también se encuentra las formulaciones del problema, general y específicos; objetivos, describe las razones del estudio para la justificación y limitaciones de la investigación son temas que aborda en dicho capítulo.

El capítulo II, aquí se menciona el marco teórico detalladamente y antecedentes, estos documentos validados, enriquecen el conocimiento del estudio tomando información brindada de otros autores como referencias y que dan respaldo a la investigación; asimismo, se considera los conceptos de las bases teóricas a fin de comprender la investigación.

El capítulo III, se refiere a la metodología usada para la investigación, así mismo menciona el método, tipo y diseño a la cual corresponda. Además, menciona a la población, muestra y muestreo de la investigación; así también como las variables fueron detalladas.

Capítulo IV, se presenta los resultados, se muestra tablas; a fin de validar ello se trabaja con programas estadísticos, mencionados con posterioridad. Así mismo el armado de las discusiones va relacionadas a trabajos a fines al tema de investigación.

El Capítulo V, detalla las conclusiones del estudio y se brinda recomendaciones a fin de concientizar y familiarizar con investigaciones futuras relacionadas al presente trabajo.

CAPÍTULO I. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Datos encontrados a nivel mundial refieren que la candidiasis afecta a 138 millones de mujeres aproximadamente en el lapso de un año y es el segundo tipo de infección vaginal más frecuente (1,2), asimismo, en un estudio realizado a 6000 mujeres provenientes de distintos países obtuvieron como resultado que la prevalencia de contraer Candidiasis vulvovaginal (CVV) recurrente es del 9% y la posibilidad de que esta patología progresase es demasiado alta (3), aproximadamente el 75% de mujeres perciben un episodio de CVV durante sus años fértiles y alrededor del 40-50% experimenta por segunda vez una infección por CVV, asimismo de 5 - 8% de las mujeres adultas presentan cuatro o más episodios por año (4,5).

Los factores predisponentes para contraer esta patología son diversos, incluido el uso frecuente de antibióticos, uso de anticonceptivos hormonales, corticoesteroides, dispositivos intrauterinos y el aumento continuo de la incidencia de diabetes mellitus (2). Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera como una de las causas más recurrentes a *C. albicans*, porque es responsable del 80 a 92% de los casos de Candidiasis vulvovaginal (CVV) (6), y es una de las razones más frecuentes para acudir a consultas ginecológicas.

Además, se sabe que 492 millones de mujeres en edad fértil han presentado al menos un episodio de dicha enfermedad en su vida, como es el caso de las regiones de Europa y América Latina, ya que se encontró tasas de 20 a 25% con infecciones de naturaleza infecciosa, de ellas el 75% de mujeres adultas contrajeron *C. albicans* por lo menos una vez (7). Cabe resaltar que, esta patología es considerada como la segunda causa más común de las infecciones vaginales (8); además, las mujeres que

lo padecen sufren recurrentemente de episodios de 1 a 2 años y en otras ocasiones los síntomas pueden durar de 5 años a más (7).

Un estudio realizado en el Hospital de Atención Terciaria de la India de 180 pacientes tras someterse a pruebas microbiológicas obtuvo que la especie más frecuente en este tipo de patologías es *C. albicans*, representando un 76 a 89% de la población estudiada, además ninguna de las pacientes que tenía dicha cepa presentó resistencia al uso de fluconazol (9). En regiones de América, como es el caso de México se hizo un estudio en 412 personas sobre la CVV y se encontró que el 25% de ellas fueron positivos. En Estados Unidos, de los pacientes hospitalizados, el 65% presentaban infecciones por hongos, incluso se sabe que un 78% alcanzó cifras de mortalidad (10).

En nuestro país la especie causante de CVV más frecuente es *C. albicans*, con una prevalencia de 40 a 60% de pacientes adultas (11). Un médico gineco-obstetra del Instituto Especializado Materno Perinatal de Perú, tras realizar un estudio menciona que del total de los casos encontrados, el 50% presentan flujo vaginal debido a que padecen de CVV y en su gran mayoría, se debe a la automedicación y sobredosificación (12).

Asimismo, un estudio realizado en el Instituto Nacional Materno Perinatal de Lima, describió las características clínicas de la vulvovaginitis por *C. albicans* en 120 mujeres de edad reproductiva, que ingresaron a consulta externa en el servicio de Ginecología en el año 2018, demostrando que el 53,3% de casos se observó en personas de 20 a 34 años, de las cuales 53,3% eran amas de casa, que utilizaban Depo-Provera como anticonceptivo, además, los síntomas más concurrentes en estos

pacientes con CVV fueron: prurito vulvar (100%), flujo blanquecino (99,2%) e irritación (51,7%) (13).

Además, se halló en mujeres gestantes la prevalencia de CVV, en zonas de Monsefú (Chiclayo) en un 24% e Inkawasi (Ferreñafe) en un 29.8%; por lo que siempre se destaca como agente etiológico a *C. albicans* (11).

Otro estudio realizado en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza de Lima, menciona que de su población total investigada, el 42,2% presentaban prevalencia de infecciones vaginales, sin embargo, su estudio no fue tan profundo en cuanto al tipo de especie ya que no realizaron cultivos para confirmar el microorganismo causante (14).

Los regímenes actuales de tratamiento contra CVV han perdido relevancia ante los desafíos de la resistencia a los antifúngicos (15), debido a que el tratamiento de las infecciones micóticas como la CVV, carece de medicamentos específicos; a diferencia de las infecciones bacterianas. Estas deficiencias requieren la producción de un sistema de administración de fármacos por vía vaginal (VDDS) capaz de atenuar, tratar y eliminar la CVV clínicamente y eficazmente, evitando así el riesgo de recurrencia y prolongación de la enfermedad (16).

En la actualidad se consideran excelentes antifúngicos a la anfotericina B, siendo eficiente para combatir levaduras, pero su nivel de toxicidad es muy elevado conjuntamente con el fluconazol, asimismo, están los azoles, usados frecuentemente y con rápido acceso para tratar candidiasis, no obstante, su uso es deficiente debido al desarrollo de resistencia natural por cepas de *C. albicans* y *C. no albicans* (17).

Muchos estudios, consideran que la resistencia antifúngica se debe al uso inapropiado de medicamentos, dosis inadecuadas y tratamientos incompletos ya que, en los

últimos años, la resistencia a los fármacos antifúngicos ha ido elevándose hasta un 40% (17,18).

Estos datos son alarmantes además los síntomas, la recurrencia del mal uso de medicamentos, la automedicación (19), ciclos cortos de medicación o tratamientos incompletos de fármacos antimicóticos (20), que afectan a las mujeres que lo padecen ya que presentan una mala calidad de vida que es desfavorable para su salud (19), por ello se busca brindar una solución a este problema frecuente presente en las mujeres considerando el uso de alternativas provenientes de productos naturales.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda?
- ¿Cuál es la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente?
- ¿Existen diferencias significativas entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente?

- ¿Existen diferencias significativas entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

1.3.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.
- Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.
- Comparar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.
- Comparar la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

1.4. Justificación de la investigación

1.4.1. Teórica

A nivel teórico, la investigación se realiza con la finalidad de aportar al conocimiento ya existente sobre las propiedades antifúngicas del extracto de propóleo de manera experimental, cuyos resultados, servirán como base de futuros estudios para continuar investigando el tema tratado.

1.4.2. Metodológica

El estudio se justifica a nivel metodológico, debido a que se ha ejecutado siguiendo protocolos establecidos por otros autores y/o guías de microbiología, lo cual, asegura resultados confiables para el respectivo análisis. Además, los métodos empleados pueden utilizarse en posteriores investigaciones y corroborar si los hallazgos que se encuentren cumplen con las expectativas esperadas.

1.4.3. Práctica

La presente investigación se justifica a nivel práctico, ya que busca generar acceso a nuevas estrategias para el uso del propóleo, como, por ejemplo, el desarrollo de productos farmacológicos que contengan dicho producto y de esta manera reducir cantidad de pacientes que pueden padecer de candidiasis vulvovaginal aguda y/o recurrente.

1.5. Limitaciones de la investigación

La presente investigación, por ser experimental, su ejecución demandó de un periodo de tiempo muy extenso, sobre todo, para evitar riesgos y errores en la obtención del extracto de propóleo y en el aislamiento de las cepas de *Candida albicans*, además de

solo trabajar con una única concentración. Asimismo, esta investigación carece de imágenes y/o fotografías del procedimiento completo, por el contexto de la pandemia por el virus, el cual impidió ingresar de manera presencial al laboratorio donde se llevó a cabo la investigación.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Antecedentes internacionales

Gavanji S. & Larki B. (2017), en su estudio realizada en Irán, mencionan como **objetivo**: “Determinar el efecto del propóleo sobre *Candida albicans* y compararlo con los efectos de algunos otros extractos de hierbas y antibióticos”. **Método**: Prepararon los extractos con *Caryophyllium aromaticus*, *Thymus vulgaris*, *Allium cepa*, *Echinophara platyloba* y *Cinnamomum zeylanicum*, de propóleo; estudiaron los efectos de los extractos sobre *C. albicans* ATCC 10231, usando el método de difusión en disco y con solución de microcaldo. Evaluaron la concentración mínima fungicida (CMF) y la concentración mínima inhibitoria (CMI), luego compararon los efectos antifúngicos del extracto con anfotericina B y nistatina en los tiempos de 24, 48 y 72 horas. **Resultado**: El extracto de propóleo posee la mayor actividad antifúngica en comparación a los demás extractos estudiados, resultando su CMI: 39 ug/mL y su CMF: 65 ug/mL; sin embargo, los resultados del extracto de *Thymus vulgaris* y *Allium cepa* fueron CMI: 169ug/mL y su CMF: 137 ug/mL respectivamente, por lo resultado tener un menos efecto frente a los hongos estudiados. Y respecto a la anfotericina B y nistatina resultados tener un mejor efecto al ser comparados con los demás extractos frente a *C. albicans*. **Conclusión**: El extracto de propóleo es eficaz ante *C. albicans* con respecto a los demás extractos trabajados, sin embargo, no presentan un mayor efecto al ser comparados con los antibióticos (6).

Capoci I. *et al.* (2015) en su investigación realizada en Brasil, en la que el **objetivo** fue: “Evaluar la influencia de una solución extractiva de propóleo en la producción de

biopelículas por *C. albicans* aislados en pacientes con candidiasis vulvovaginal (CVV)”. **Método:** Usaron pruebas de susceptibilidad para verificar la concentración mínima inhibitoria de la solución extractiva de propóleo, como control utilizaron: nistatina y fluconazol. Aislaron 29 películas vaginales de *C. albicans* y una cepa de referencia que fue expuesta al extracto. Evaluaron con tinción con cristal violeta y cuantificaron las proteínas y carbohidratos de la matriz de la biopelícula, también analizaron con microscopio electrónico de barrido. **Resultado:** La CMI del extracto de propóleo resultó 68,35 a 546,87 ug/ml del contenido total de fenol en ácido gálico. A una concentración de 546,87 ug/ml provocaron muertes de 75,8% **Conclusión:** La solución extractiva inhibió las biopelículas de *C. albicans* por CVV por lo tanto dicha solución puede presentar beneficios frente a tratamientos para pacientes con dicha infección (7).

Asimismo, Joya M. *et al.* (2017) en su presente investigación realizada en Venezuela, dan como **objetivo:** “Evaluar la actividad fungistática y fungicida de propóleo de Venezuela y de 3 lugares países más”. **Método:** Trabajaron con *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* y *C. krusei*; las cepas fueron enfrentadas a diferentes concentraciones del extracto etanólico de propóleo. **Resultado:** A concentración de 10,2 mg/mL la actividad fue mayor, resultando ser propóleos de Alemania e Italia; el de Venezuela con 15,6 mg/mL y España con 18,8 mg/mL. Los extractos etanólicos de propóleo alemán e italiano resultaron fungicidas al ser enfrentaos a las cuatro cepas con la concentración de 3,12 mg/dL. **Conclusión:** Sí presentan efecto fungistático y fungicida los extractos etanólicos empleados en cepas de *C. albicans* y demás mencionadas anteriormente, siendo la *C. tropicalis* la más

resistente al propóleo; y la *C. guilliermondii* la más sensible. El propóleo de Italia y Alemania presentan mayor efectividad frente a especies de *C. albicans* encontradas en pacientes venezolanos (3).

Por otro lado, Maureira N. *et al.* (2017), en su estudio realizada en Chile; donde mencionan como **objetivo:** “Determinar de forma *in vitro* la susceptibilidad de *Candida spp.* del extracto de propóleo etanólico procedente de Olmue”. **Método:** El trabajo de investigación fue experimental *in vitro*. Obtuvieron muestras de la cavidad oral para ser trabajadas con el extracto etanólico preparado al 30% de propóleo, para la determinación del efecto antifúngico. El estudio se realizó en 31 individuos diagnosticados con estomatitis subprotésica, con la técnica de difusión en agar de 48 horas. **Resultado:** Obtuvieron que el 100% de las muestras a una concentración de 0,1 ug/mL y 1,6 ug/mL observaron un grado de inhibición en el crecimiento de la cavidad oral; a una concentración de 0,4 ug/mL, la inhibición fue al 41,94% y a una concentración de 0,2 ug/mL, hubo una inhibición de 35%. **Conclusión:** El propóleo en extracto etanólico proveniente de Olmué-Chile si tiene la capacidad para inhibir de manera *in vitro* a la *Candida spp.* con el uso de agar Sabouraud a dosis independiente en pacientes con estomatitis subprotésica con un efecto de fungicida al 100% (1).

Antecedentes nacionales

Calla K. & Quispe D. (2016), en su investigación realizada en Arequipa, proyectaron a manera de **objetivo:** “Evaluar el efecto del extracto antibacteriano, según concentraciones inhibitorias minimas (CIMs), concentraciones fungicidas mínimas (CFM) o bactericidas (CBM), en dos diferentes concentraciones del extracto de 50 – 250mg/ml del departamento de Cusco, Tacna y Arequipa”. **Método:** Realizaron un

análisis fitoquímico para evidenciar taninos, terpenos y flavonoides. Al ser expuesto por el método de difusión en agar resultó ser sensible *C. albicans* y *Staphylococcus aureus*, así también como la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Trabajaron con propóleos de tres departamentos (Cusco, Tacna y Arequipa). **Resultados:** Las CMI's frente a *S. aureus* fueron $64,8 \pm 5,1$, $86,4 \pm 8,8$ y $83,0 \pm 10,10$ mg/mL y sobre las CBMs se obtuvo lo siguiente $68,2 \pm 6,5$, $95,5 \pm 15,1$ y $87,5 \pm 11,2$ mg/mL. Frente a *C. albicans* resultó lo siguiente: las CMI's fueron $70,5 \pm 8,4$, $85,2 \pm 7,5$ y $92,0 \pm 8,4$ mg/mL en el mismo orden y para los extractos de propóleo las CFMs fueron $89,8 \pm 7,5$, $104,5 \pm 6,3$ y $94,3 \pm 8,6$ mg/mL respectivamente, por lo tanto, determinó que la sensibilidad frente a la *C. albicans* y *S. aureus* será relacionado a la concentración del extracto de propóleo siendo este un 50 a 250 mg/mL. **Conclusión:** Los extractos de propóleo de los tres departamentos tienen efectos sobre *C. albicans* y *S. aureus* pero no frente a *E. coli* (11).

Mendoza E. (2019), en su investigación realizada en Trujillo; que presenta como **objetivo:** “Comparar el efecto antifúngico entre dos extractos etanólicos de propóleo de la diferentes lugares de un mismo departamento frente a cepas de *C. albicans* ATCC 10231”. **Método:** Usó cepas de *C. albicans* ATCC 10231 en doce placas, el cultivo de la cepa *C. albicans* fue liofilizado. Trabajó con el método Kirby Bauer, embebiendo los discos estériles con 30 uL de extracto etanólico a una concentración del 40%, estos fueron puestos sobre las placas de Müller-Hinton con inóculos de cepas de *C. albicans* ATCC 10231, luego incubó por 24 horas a 37°C, para luego proceder a medir los halos de inhibición. **Resultado:** Las medidas de los halos de inhibición fueron de 19,1 mm del propóleo de la sierra liberteña y 15,4 mm del

propóleo de la costa. **Conclusión:** El efecto antifúngico fue mayor al ser trabajado con el propóleo de la sierra liberteña (9).

De la misma manera, De La Cruz M. (2013), en su investigación realizada en Trujillo, se tuvo como **objetivo:** “Determinar el efecto de cuatro concentraciones con efecto antimicótico del extracto de propóleo, frente a *C. albicans* y compararlo con la Nistatina”. **Método:** Preparó el extracto de propóleo en cuatro concentraciones distintas 25, 50, 75 y 100% y Nistatina en solución a una concentración de 100 000 UI; ambas soluciones fueron trabajadas con microorganismos, utilizó el método Kirby Bauer y realizó la medición de halos. **Resultado:** Determinó el efecto antimicótico frente a *C. albicans*, el halo de inhibición es mayor a medida que la concentración aumenta por otra parte la actividad antimicótica no fue mayor que de la nistatina. **Conclusión:** El extracto de propóleo si presenta el efecto antimicótico frente a patologías asociadas a *C. albicans* pero este no es mayor al ser comparado con los efectos de la Nistatina (14).

Asimismo, Huaytalla R. et al. (2018), en su investigación realizada en Lima; dieron como **objetivo:** “Determinar de manera *in vitro* la eficacia del efecto inhibitor del extracto de propóleo y comparar con el gluconato de clorhexidina frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus*.” **Método:** Trabajaron con cepas comerciales de *L. acidophilus*, las muestras las cultivaron en 30 placas Petri con agar base Sangre, colocaron discos embebidos con extracto etanólico de propóleo en concentraciones de 15% y 30% a la vez usaron gluconato de clorhexidina al 0,12% y alcohol de 70°, como control positivo y negativo respectivamente, en los tiempos 48 y 72 horas de incubación. Usaron el método Kirby Bauer en condiciones anaeróbicas. **Resultado:**

Al trabajar con concentraciones de 15% y 30% del extracto de propóleo obtuvieron a las 48 horas un efecto inhibitor promedio de 8,15 mm y 11,75 mm y al pasar las 72 horas obtuvieron un efecto de 11,40 mm y 14,25mm. Respecto a los resultados del halo de inhibición respecto al uso de gluconato de clorhexidina a concentración de 0,12% después de haber transcurrido 48 y 72 horas fue de 6,55 mm y 8,00mm.

Conclusión: El extracto de propóleo a una concentración de 30% tiene mayor efecto en comparación con clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *L. acidophilus* (10).

León G. et al. (2014), en su investigación realizada en Lima, tuvieron como **objetivo:** “Evaluar el extracto de propóleo de Oxapampa in vitro sobre las cepas de *C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 90030 y *C. krusei* ATCC 6258, a las 24, 48 y 120 horas a fin de conocer el efecto antifúngico.” **Método:** Trabajaron con placas de control positivo y negativo, usando el método de dilución en agar; lo realizaron en tres lecturas la primera fue a las 24 horas, la segunda a las 48 horas y la tercera a las 120 horas. **Resultado:** La CMI fue 12 mg/mL al ser trabajada al 5, 10, 20, 25, 30% de la concentración del extracto etanólico, al ser trabajadas con las cepas de *C. albicans* ATCC 90028 presentó una inhibición completa, sin embargo, las otras cepas de *Candida* como *C. glabrata* y *C. krusei* presentaron una inhibición menor pese a que fueron trabajadas en los mismos tiempos. **Conclusión:** El propóleo de Oxapampa al ser elaborado como extracto etanólico tiene actividad antifúngica y al ser trabajada con las cepas de *C. albicans* llega a presentar inhibición completa (12).

2.2. Bases teóricas

Candida

- **Definición**

Históricamente, se conoce aproximadamente desde 400 a.C. informado por Sócrates (21). Tienen un hábitat natural ubicuo y está compuesto por más de 150 especies, la característica principal es la forma sexual, de ellas solo doce especies se adaptan a una temperatura de 37 °C. En su gran mayoría, estos microorganismos se encuentran en las vías respiratorias, la flora del tracto gastrointestinal y genitourinario, y pueden causar infecciones en personas con un sistema inmunológico inmunodeprimido (22); un 10% de estas son infecciones están asociadas a factores predisponentes del huésped, por ello, *Candida* es considerado como un microorganismo patógeno oportunista (23), porque estas infecciones pueden ser superficiales o invasivas poniendo en peligro la vida (22).

Las enfermedades causadas por *Candida* son la cuarta causa principal de infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo. Las especies de *Candida* que residen en huéspedes sanos incluyen *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* (24,25). Algunas de estas especies producen suficientes cantidades de alcohol a partir de azúcares con cinco carbonos (d-arabitol) en los tejidos afectados, y las concentraciones de este compuesto se encuentran elevadas, en la mayoría de personas infectadas por *Candida* (26). En su mayoría, las cepas de *Candida*, de interés médico, son susceptibles *in vitro* a la anfotericina B y antifúngicos azólicos como el fluconazol, itraconazol, y voriconazol (26–28).

Candida albicans

Clasificada taxonómicamente como (29):

Reino: Fungi

Clase: Saccharomycetes

Orden: Saccharomycetales

Familia: Saccharomycetaceae

Género: *Candida*

Especie: *Candida albicans*

Candida albicans es un microorganismo aerobio (30), se reproduce asexualmente por gemación, constituyendo la principal causa de candidiasis invasiva (33,34). Para el desarrollo de la patogenicidad es importante la transición de la levadura a hifa, sabiendo que tras la invasión de los tejidos se producen las hifas (33,34), pero existen estímulos ambientales que bloquean o desencadenan la conversión, como por ejemplo el pH: A un pH mayor a 7 crece como hifa y a un pH menor a 6 crece como levadura (35). Se estima que, de las levaduras patógenas, un 63 a 89% corresponden a *C. albicans* y un 15% pertenecen al mismo género pero son otras especies (7,36). Además, se ha detectado que entre un 80 a 90% están asociadas a la candidiasis vulvovaginal (35). Es la más frecuente que se presenta en el organismo, esto se debe a los atributos que posee ya que tiene una habilidad de evadir mecanismos de defensa del hospedador, de esta manera resiste al tratamiento antifúngico y es capaz de lesionar células hasta podría llegar a invadir tejidos (35,37).

C. albicans puede remodelar su pared celular en respuesta a las condiciones ambientales para evadir los mecanismos de eliminación del huésped y establecer la infección en nichos, como la mucosa oral y vaginal (38). Se presenta de manera asintomática en personas aparentemente sanas, mayormente se encuentra localizada en los tractos genitourinario y gastrointestinal.

Candidiasis vulvovaginal

- **Definición**

Vaginitis sintomática, por lo general afecta a la vulva provocando eritema e hinchazón (39). Teniendo como sintomatología dolor, ardor, irritación, inflamación e hipersensibilidad de las membranas de la mucosa (40) y suelen ir acompañados de disuria o dispareunia, esto se ve empeorado en la semana anterior a la menstruación (41), sin embargo, la infección sintomática puede ser el resultado de una mucositis primaria causada principalmente por el crecimiento excesivo de hongos vaginales y la posterior invasión epitelial y producción de efectos inflamatorios (42), presentando principalmente secreción prurito y ardor (43). Además, se estima que la CVV, se ubica en el puesto número dos como enfermedad frecuente de vaginitis después de la vaginosis bacteriana (44). La candidiasis vulvovaginal (CVV) es causada principalmente por la cepa *C. albicans* en humanos, causando serios problemas de salud en mujeres, en casi todo el mundo, aproximadamente el 7% de las mujeres que acuden a consulta médica de ginecología padecen de CVV (36,45), aunque la CVV es común, según su epidemiología es variable, con una tasa de infección que oscila entre un 12,1% y 57,3%, en algunos países (46,47).

- **Clasificación y sintomatología**

Candidiasis vulvovaginal aguda (CVV aguda)

Es la más común, se presenta una vez al año y se caracteriza clínicamente por presentar prurito, ardor vulvar, dolor vaginal, olor desagradable, disuria y dispareunia, este se incrementa durante los días de la menstruación (19,48).

Candidiasis vulvovaginal crónica (CVVR)

La candidiasis vaginal crónica o recurrente (CVVR), es una causa común de enfermedad crónica en las mujeres, años atrás estaba asociada con el comienzo de menopausia (49), una proporción relativamente pequeña, entre el 6 y el 8% de las mujeres desarrollarán candidiasis vulvovaginal recurrente (CVR) (46). Caracterizada por presentar cuatro o más episodios por año (50), siendo sus síntomas iguales a la aguda sin embargo esta manifestación clínica es más duradera y persistente (51), afectando negativamente la calidad de vida, salud mental y actividad sexual (52). Se ha informado que la incidencia de CVVR en las mujeres en la etapa reproductiva es de 23,5% (53).

- **Factores predisponentes**

- Diabetes: Por alteración de la barrera mucocutánea, desbalance hormonal o nutricional.
- Leucemia: Por disminución de la cantidad de células fagocitarias.
- Contracepción: Anticonceptivos orales de primera generación, esponja contraceptiva y dispositivo intrauterino.
- Antibióticos: Uso frecuente de metronidazol o clindamicina.

- **Etiología y epidemiología**

Esta patología es considerada como la segunda infección más común que padecen las mujeres, el 75% del sexo femenino presentaron al menos una vez en su vida esta enfermedad (54). Uno de los factores que contribuye a la candidiasis es la presencia de hongos comensales en el tracto gastrointestinal (55). Un 85 a 95% de los episodios son causados por el género *Candida*, siendo más frecuente la especie *Candida*

albicans y un 5 a 20% son relacionadas a otro tipo de especie *Candida no albicans* (56).

Las tasas de infección generalizada por *Candida* siguen incrementándose en todo el mundo, las personas que presentan defensas bajas, es decir su sistema inmune está debilitado, son aquellas que tienen mayor riesgo de contraer *Candida* (42).

- **Diagnóstico**

Por lo general, el diagnóstico clínico se basa en la observación y sintomatología del flujo vaginal, sin embargo, este requiere de un diagnóstico de laboratorio que consta del examen directo en microscopio y el cultivo microbiológico, el cual puede realizarse utilizando agar Sabouraud o medios especiales como el CHROM Agar (57).

- **Tratamiento**

La duración del tratamiento para CVV aguda y CVV recurrente es diferente, el cumplimiento del mismo dependerá del paciente y aquí el costo de los medicamentos es determinante (57,58).

Tratamiento para Candidiasis vulvovaginal Aguda (CVVA)

Regímenes farmacológicos cortos o de dosis única:

- Nistatina 100 000 U, una tableta u óvulo vaginal, durante 14 días.
- Fluconazol 150 mg por vía oral, única dosis.

El resultado de alivio y cultivo negativo es de un 80% y 90%; sin embargo, esto se consigue solo si el paciente completa el tratamiento (58).

Tratamiento para Candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR)

Hasta hoy en día no existe una vacuna o alguna inmunoterapia para contrarrestar infecciones fúngicas (59), sin embargo hay algunas maneras establecidas para tratar candidiasis.

- Nistatina 100 000 U, una tableta u óvulo vaginal, durante 14 días o cada 21 días.
- Fluconazol 100 mg, 150 mg o 200 mg por vía oral, una sola dosis cada tercer día (días 1,4 y 7).

Tratamiento de mantenimiento:

- Fluconazol 100 mg, 150 mg o 200 mg vía oral, una sola dosis por semana, durante 6 meses (58,60).

Agentes fitoterapéuticos

Apis mellifera

Son insectos sociales que se han colonizado con éxito en la mayoría de los ecosistemas a nivel mundial (60). *Apis mellifera* es una especie de abejas que se encargan de recoger propóleo, lo recolectan de lugares centrales, y pueden alimentarse a varios metros de su colmena (61). Originarias de Europa, África y Asia y también fueron introducidas en América y Oceanía. Las abejas en sus mandíbulas llevan las resinas que brotan de la flor y de la hoja, lo llevan a las colmenas, al llegar las abejas propolizadoras ayudan a descargar el propóleo para proceder al propolizado; este es usado para cubrir los panales para que puedan colocar sus huevos la reina (62).

- **Clasificación taxonómica de *Apis mellifera***

Clasificada taxonómicamente como (63):

Reino: Animalia

Filo: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Hymenoptera

Sub orden: Apocrita

Superfamilia: Apoidea

Familia: Apidae

Subfamilia: Apinae

Género: *Apis*

Especie: *Apis mellifera*

Propóleo

Es una sustancia pegajosa que consta de resinas y bálsamos (45-55%), aglutinantes, aceites grasos (5%), ceras (8-35%), aceites esenciales aromáticos (5-10%), polen (5%) y compuestos polares como el flavonoides que tiene antioxidantes (64,65). El polen es recolectado de las yemas de árboles, resinas, savia y otras fuentes vegetales (51); posee propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas (66). Su composición es compleja ya que depende de su flora local, debido a que sus propiedades varían de acuerdo a su origen geográfico (67). Como antimicrobiano resulta favorable contra bacterias como *Enterococcus faecalis* y hongos como la *C. albicans* y enfermedades crónicas (68).

La composición química del propóleo es compleja, hasta hoy en día se han identificado más de 420 componentes presentes en muestras de propóleo en todo el mundo (65), estos compuestos pueden variar de acuerdo a la flora del lugar de

origen y depende de la temporada de cosecha (65,66). El propóleo presenta potente actividad inhibidora y actividad fungicida (69,70), en los últimos años varios estudios han revelado información acerca de propiedades que presenta el propóleo sobre la actividad antimicrobiana (71), la actividad antifúngica que posee el propóleo se puede aprovechar para tratar flujo vaginal anormal (72).

Generalmente su composición depende de la zona que ha sido extraído, en regiones cálidas contiene flavonas, flavanonas, ácidos aromáticos y ésteres, en regiones tropicales, el propóleo contiene diversos compuestos fenólicos derivados de ácido p-cumárico, ácidos cafeoilquínicos, flavonoides, benzofenonas y terpenos, estos compuestos hacen que el propóleo tenga elevado potencial terapéutico antifúngico (73). Las propiedades antimicrobianas que presenta el propóleo es utilizado para combatir microorganismos como bacterias, hongos, virus, levaduras y parásitos (74), según los estudios realizados coinciden que el propóleo tiene una potente actividad antimicrobiana ante bacterias Gram positivas, pero solo una actividad limitada contra las bacterias Gram negativas (75).

La actividad antifúngica de los extractos de propóleos se visualiza por inhibición del crecimiento y proliferación en diferentes levaduras como es el complejo de *C. albicans* y *C. glabrata* por la posible acción del ácido cafeico, la pinocambрина y la pinobanksina. La terapia con propóleos resulta económica y no tiene ningún efecto secundario, siendo la dosis máxima diaria de 1400 mg/kg, en ratones no indica efectos adversos, sin embargo, a consumos mayores produce náuseas por lo general (57).

2.3. Formulación de hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

H1: El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

H0: El extracto de propóleo no presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

2.3.2. Hipótesis específicas

- **H1:** El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.

H0: El extracto de propóleo no presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.

- **H1:** El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.

H0: El extracto de propóleo no presenta actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.

- **H1:** Existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

H0: No existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

- **H1:** Existe diferencia significativa entre los halos de inhibición de las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

H0: No existe diferencia significativa entre los halos de inhibición de las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación

Según Arias & Covinos (2021), el método empleado es deductivo, ya que las conclusiones son brindadas en base a premisas que se asumen como verdaderas (76).

3.2. Enfoque investigativo

Según Hernández R. *et al.* (2004), la investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que se midieron los valores de las variables, obteniendo datos numéricos y, de acuerdo a ello, se analizó e interpreto los resultados mediante métodos estadísticos (77).

3.3. Tipo de investigación

Según Supo J. (2016) es de tipo básica, debido a que se inicia bajo conceptos de marco teórico a fin de aumentar información científica de un tema ya establecido, sin embargo este aun no es contrastado con el aspecto práctico. (78).

3.4. Diseño de la investigación

Según Palella S. y Martins F., definen al diseño experimental como aquella investigación cuya variable se puede manipular, siendo esta no comprobada con anterioridad; bajo condiciones controladas estrictamente. Este tiene como objetivo describir “por qué la causa produce dicho fenómeno” para con ello elaborar pronósticos y ser confirmados con el fin de encontrar tendencias para posibles estudios posteriores y mejorar la educación (79).

Por lo mencionado anteriormente se puede decir que la presente investigación es de diseño experimental, debido a que se busca evaluar la actividad antifúngica del

extracto de propóleo frente a cepas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

3.5. Población, muestra y muestreo

Población

La población fueron las cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal que ingresaron al Servicio de Ginecología de la Clínica María del Socorro, distrito de Ate – Lima.

- **Criterios**

Criterios de inclusión

- Cepas de *Candida albicans* aisladas en pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

Criterios de exclusión

- Cepas de *Candida albicans* de otro tipo de muestra.
- Cepas de *Candida no albicans*.

Muestra

El tamaño de muestra fue de 34, de ellas 17 cepas de *C. albicans* (nueve de candidiasis vulvovaginal aguda y ocho de candidiasis vulvovaginal recurrente) y dos tratamientos (extracto de propóleo y el fluconazol (17x2), para ello se consideró tres repeticiones por cepa, se obtuvo un total de 102 unidades experimentales.

Muestreo

Según Andrea Bernet, se utilizó un muestreo casual o accidental, debido a que se tomó una muestra de la población disponible en un lugar determinado a fin de obtener resultados más precisos (80).

3.6. Variables y operacionalización

Variable independiente: Actividad antifúngica del extracto de propóleo.

Variable dependiente: Cepas de *Candida albicans*.

Definición conceptual:

- Actividad antifúngica del extracto de Propóleo: Sustancia obtenida de los insectos de la especie *Apis mellifera* que posee la capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de hongos microscópicos (57).
- Cepas de *Candida albicans*: Microorganismos aerobios, es la principal causa de candidiasis, se produce asexualmente por gemación (81), siendo este tipo de cepa más frecuente en casos clínicos.

Definición Operacional

- Actividad antifúngica del extracto de Propóleo: Sustancia que posee la capacidad de inhibir el crecimiento de *Candida albicans*
- Cepas de *Candida albicans*: Microorganismos aerobios aislados de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

Según Carrasco S. (2005), la técnica utilizada en la investigación fue la observación directa de los halos de inhibición y el instrumento tomado en cuenta fue una ficha de recolección de datos con el fin de registrar la información obtenida (ANEXO 3 y ANEXO 4) (82).

3.8. Procesamiento y análisis de datos

Previo al procesamiento y análisis de datos, se realizó lo mostrado a continuación:

Extracto de propóleo

El extracto de propóleo fue recolectado con apoyo de apicultores del distrito de Oxapampa, región de Cerro de Pasco, Perú. Una vez obtenida la muestra, se comenzó con la separación de algunos componentes que no formaban parte del análisis como el polvo, astillas, restos de madera, entre otros que puedan alterar la composición del extracto (65).

Elaboración del extracto

La caracterización y elaboración del propóleo al 50% de concentración fue preparada en condiciones asépticas en una cabina de flujo laminar a temperatura ambiente, las impurezas fueron desechadas, luego la muestra fue trozada para ser pulverizada con la ayuda de un mortero. El extracto se preparó utilizando 50 g de propóleo en 100 mL de etanol al 70°, luego la mezcla fue sometida a maceración por ocho días a 37°C, sin contacto con la luz. Posteriormente la muestra fue filtrada con ayuda del papel filtro Whatman N° 60, para después ser llevada a un rotavapor a 60°C con el fin de que el etanol se evapore. Los extractos totales fueron transferidos al rotavapor hasta eliminación del solvente y el sólido obtenido se llevó a estufa por dos horas a una temperatura de 70°C (ANEXO 5).

Finalmente, se obtuvo el extracto seco etanólico de propóleo con la técnica de dilución y filtración para la obtención de propóleo a una concentración del 50%. El propóleo seleccionado se identificó visualmente de acuerdo a las características organolépticas, siendo este de color predominante pardo y con carencia de aroma definido; para asegurar su calidad y pureza (19).

Obtención de las cepas clínicas de *Candida albicans*

Se solicitó permiso al Servicio de Ginecología de la Clínica María del Socorro, distrito de Ate – Lima para trabajar con pacientes voluntarias, a las cuales, previamente se le informó del estudio, con el fin de obtener su consentimiento.

Una vez obtenida la autorización, se recolectaron muestras de exudado vaginal de las pacientes, siendo tomadas por el médico encargado del área, el cual utilizó un hisopo vaginal seco estéril obteniendo la muestra del fondo del saco vaginal, identificando a las pacientes que presentaban candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente para luego rotular las muestras con el tipo de infección correspondiente y ser transportada en recipientes estériles en posición vertical, ambiente fresco y con protección de la luz, al laboratorio de la mencionada clínica. Para el aislamiento de las cepas se usó la técnica de estriado por agotamiento en placas Petri con Agar Dextrosa Sabouraud para luego ser llevadas a incubación en estufa a 37°C (11) (ANEXO 6).

Pruebas de identificación de *Candida albicans*

Después la incubación, se observó el crecimiento en la superficie del agar Dextrosa Sabouraud, luego se procedió a tomar una colonia para sembrar en agar Cromogénico para *Candida*, a fin de diferenciar *C. albicans* de otras especies de *Candida*, asimismo se procedió a su observación microscópica (ANEXO 7). Además, con el fin de realizar la confirmación correspondiente, se procedió a validar el crecimiento de

Candida sp. con la Prueba del Tubo Germinativo para luego ser comprobada con la prueba API 20 C AUX *Candida* (10) (ANEXO 8).

a) Prueba de Tubo Germinativo:

La prueba de Tubo Germinativo de gran utilidad para diferenciar especies de *C. albicans* y *Candida no albicans*. El procedimiento se realizó con 0,5 mL de suero fresco humano usando el asa de cultivo, se inoculó la cepa en estudio y fueron incubadas a 37 °C. Después de tres horas se preparó un montaje húmedo para observar en el microscopio óptico, con objetivo 40x, la presencia del tubo germinativo que consiste en la extensión filamentosa de la levadura, donde, tanto *C. albicans* y *C. dubliniensis*, forman una pequeña prolongación similar a “un espejo de mano” (fenómeno de Reynolds – Braude), por este motivo, se empleó la prueba API 20 C AUX *Candida* para su confirmación (16) (ANEXO 9).

b) Prueba de API 20 C AUX *Candida*

La prueba API 20 C AUX *Candida* es un sistema preciso para la identificación de levaduras que está compuesta por 20 cúpulas que contienen sustratos deshidratados. Estas cúpulas se inoculan en un medio mínimo de API C Medium y crecen solo las levaduras capaces de utilizar estos sustratos.

Con 2 mL de solución salina y un cultivo joven de levaduras se realizó una suspensión hasta llegar a una turbidez de la escala de McFarland 2.0. Luego se añadió 100 uL de esta suspensión a la ampolla con API C Medium para proceder a llenar las cúpulas evitando en todo el procedimiento la formación de burbujas. Después manteniéndolo en cámara húmeda se incubó por 48 a 72 horas a 37°C (15).

Finalmente, cumplido el tiempo de incubación, se procedió a realizar la lectura e interpretación de los resultados, observando un crecimiento positivo mediante turbidez y con la ayuda de un perfil numérico propio del fabricante y al programa de identificación Apiweb, se realizó la identificación exacta de las levaduras (ANEXO 10).

Elaboración de medio de cultivo

Para medir la actividad antifúngica se utilizó el medio Agar Müller Hinton, el cual está validado para las pruebas de susceptibilidad indicada por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) M44 – A. Los inóculos de las cepas clínicas de *C. albicans* se prepararon y se ajustaron a la turbidez de la escala a 0,5 McFarland. La longitud de onda fue de 610 nm en el espectrofotómetro para la medición de la turbidez del inóculo de las cepas; posteriormente se inoculó en la superficie en agar con la ayuda de un hisopo estriando en tres direcciones, se dejó secar unos 10 minutos y se colocó los discos de fluconazol (control positivo) y agua destilada (control negativo) (9).

Preparación de los grupos controles (ANEXO 11)

- Control positivo: Fluconazol (25 mg/100 mL de agua destilada).
- Control negativo: Agua destilada (100 mL).

Control de calidad del crecimiento de cepas de *C. albicans*

Se procedió a preparar un litro de Agar Müller Hinton, según la recomendación del manual DIFCO (83), adicionando 20 g. de glucosa y 100 uL de solución stock de azul de metileno. Esta última solución se prepara adicionando 0,1 g de azul de metileno a 20 mL de agua destilada (obteniendo 5 ug/mL de concentración). Luego se lleva a

autoclave por 15 minutos a una temperatura de 121°C y 15 libras de presión. Transcurrido el tiempo, dejar que baje la temperatura a unos 50°C y verter 27 mL por placa Petri a modo de alcanzar los 4mm de grosor, en placas de 90 mm de diámetro. Dos placas se tuvieron en cuenta para el control de esterilidad a 35°C durante 24 horas. A continuación, se tomó la cepa de *C. albicans* ATCC 90028 previamente cultivada para ser sembrada en el agar. Como se describió anteriormente, se realizó la prueba de susceptibilidad ajustando el inóculo de la cepa a turbidez de 0,5 de la escala de McFarland, se siembra en tres direcciones y se coloca un disco de 25ug de fluconazol para luego de 24 horas proceder a la lectura. Para asegurar el control de calidad del crecimiento de la cepa, se observó los halos de inhibición (84).

Prueba de susceptibilidad antifúngica

Una vez obtenidas las cepas de *C. albicans*, se usó el método de disco difusión en placa, para lo cual, se utilizó discos de papel filtro conteniendo 200 uL de extracto de propóleo y los controles respectivos, colocando cada disco embebido sobre la placa Petri con agar Müller Hinton. Luego se incubó por 24 horas a 37°C (10). Después del periodo de incubación, se analizaron los halos de inhibición del crecimiento antifúngico cuyos resultados se expresaron con la medida de los halos que se forman en la placa de Petri donde se midió el diámetro de cada zona en unidades de milímetros; siguiendo el protocolo estandarizado de susceptibilidad establecido por Kirby & Bauer (85) (ANEXO 12).

Una vez culminado el procedimiento experimental, se procedió a realizar el procesamiento y análisis de los datos obtenidos, lo cual se describe a continuación:

Recolección de datos

La recolección de datos se realizó por tres meses, haciendo uso de una ficha de recopilación de datos para posteriormente tabular la información en el software Microsoft Office Excel v. 2019, en el cual se anotó la información en una base de datos.

Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se contó con autorización escrita de la Clínica María del Socorro para obtención de muestras e información (ANEXO 13); a la vez, los participantes firmaron una autorización de aprobación para la recolección de muestras; además se les indico que sus datos se mantendrán en anonimato tal como refiere la Ley N°29733.

Aplicación de instrumentos de recolección de datos

El instrumento de recopilación de datos fue aplicado en el momento de medir los halos de inhibición de crecimiento de las cepas de *C. albicans* por efecto de la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol, además de registrar el tipo de candidiasis vulvovaginal y si el agente causal fue *C. albicans*.

Métodos de análisis estadísticos

Se utilizó el Software Estadístico SPSS, a fin de analizar los datos recopilados en versión 23.0, a la vez se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) con la finalidad de establecer si la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol, es igual en todas las cepas del estudio; posteriormente se usó prueba de significancia de Tukey ($\alpha = 0,05$) para definir las diferencias de la actividad antifúngica según los tipos de cepas de *C. albicans* y los tratamientos utilizados.

3.9. Aspectos éticos

Las participantes que aceptaron participar firmaron un consentimiento de aprobación, además se les informó sobre el objetivo del estudio; a la vez se le indicó que sus datos permanecerán en el anonimato por lo que refiere la Ley N° 29733 “Ley de protección de datos personales” Además se contó con la autorización escrita de la Clínica María del Socorro, distrito de Ate – Lima y el laboratorio del mismo establecimiento.

CAPÍTULO IV. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis descriptivo de los resultados

Objetivo general: Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

Resultado

Tabla 1. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal representada mediante halos de inhibición

Candidiasis	Cepas	Halos de inhibición (mm)	
		Extracto de propóleo	Fluconazol
Aguda	A-1	16,7	18,2
	A-2	15,3	19,3
	A-3	17,2	19,2
	A-4	19,2	20,5
	A-5	19,2	22,6
	A-6	18,7	20,9
	A-7	17,9	20,8
	A-8	16,9	19,8
	A-9	18,2	19,2
Recurrente	R-1	11,8	13,7
	R-2	11,8	12,5
	R-3	12,6	16,6
	R-4	11,1	14,3
	R-5	14,9	18,7
	R-6	13,2	17
	R-7	11,5	15,3
	R-8	12,8	17,4
Promedio		15,2	18,0

En la Tabla 1 se describe la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal, mostrando halos de inhibición promedio de 15,2 mm en el caso del extracto de propóleo y 18,0 mm en el caso del fluconazol.

Objetivo específico 1: Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.

Resultado

Tabla 2. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda representada mediante halos de inhibición

Producto	Halos de inhibición (mm)									
	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6	A-7	A-8	A-9	Media
Extracto de propóleo	16,7	15,3	17,2	19,2	19,2	18,7	17,9	16,9	18,2	17,7
Fluconazol	18,2	19,3	19,2	20,5	22,6	20,9	20,8	19,8	19,2	20,1

En la Tabla 2 se describe la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal aguda, mostrando halos de inhibición promedio de 17,7 mm en el caso del extracto de propóleo y 20,1 mm en el caso del fluconazol.

Objetivo específico 2: Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente

Resultado

Tabla 3. Actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente representada mediante halos de inhibición

Producto	Halos de inhibición (mm)								
	R-1	R-2	R-3	R-4	R-5	R-6	R-7	R-8	Media
Extracto de propóleo	11,8	11,8	12,6	11,1	14,9	13,2	11,5	12,8	12,5
Fluconazol	13,7	12,5	16,6	14,3	18,7	17,0	15,3	17,4	15,7

En la Tabla 3 se describe la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente, mostrando halos de inhibición promedio de 12,5 mm en el caso del extracto de propóleo y 15,7 mm en el caso del fluconazol.

4.1.2. Prueba de hipótesis

Mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) se determinó la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol según el tipo de cepa de *C. albicans* y el tratamiento utilizado (Tabla 4).

Hipótesis de análisis estadístico

H₀₋₁: Existen diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y del fluconazol frente a los tipos de cepa de *C. albicans*.

H₀₋₂: No existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol frente a los tipos de cepa de *C. albicans*.

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA) de los halos de inhibición (mm) generados en las cepas de *C. albicans* por efecto del extracto de propóleo y del fluconazol

FV	SC	GL	CM	F	p-valor	Decisión
Modelo	777,42	2	388,71	174,73	<0,0001	
Tipo de Cepa	582,78	1	582,78	261,97	<0,0001	Rechazar H ₀₋₁
Tratamiento	194,64	1	194,64	87,49	<0,0001	Rechazar H ₀₋₂
Error	220,24	99	2,22			
Total	997,65	101				

SC: Suma de cuadrados, GL: Grados de libertad, CM: Cuadrado medio, F: Test, P: Probabilidad

Objetivo específico 3: Comparar la actividad antifúngica del propóleo frente a las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

Resultado

Tabla 5. Comparación de la actividad antifúngica entre las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente mediante la prueba de significancia de Tukey

Tipo de cepa de <i>C. albicans</i>	Medias	n	E.E.	
CVV aguda	18,87	54	0,20	A

CVV recurrente	14,08	48	0,22	B
-----------------------	-------	----	------	---

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la Tabla 5 se muestra la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre los tipos de cepas de *C. albicans* que fueron inhibidas por el extracto de propóleo y por el fluconazol. Es así que las cepas de *C. albicans* aisladas de candidiasis vulvovaginal aguda mostró halos de inhibición de mayor tamaño promedio que las de infección recurrente.

Objetivo específico 4: Comparar la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.

Resultado

Tabla 6. Comparación de la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal mediante la prueba de significancia de Tukey

Producto	Medias	n	E.E.	
Fluconazol	17,86	51	0,21	A
Extracto de propóleo	15,10	51	0,21	B

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la Tabla 6 se muestra la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antifúngica del propóleo y del fluconazol, siendo este último, el que mostró mayor tamaño promedio de halos de inhibición sobre las cepas de *C. albicans*, en comparación con el extracto de propóleo.

4.1.3. Discusión

Teniendo en cuenta el objetivo general, el cual fue, evaluar la actividad antifúngica el extracto de propóleo frente a cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal, en la presente investigación se determinó que dicho extracto a una concentración del 50%; frente a cepas de *C. albicans*, si presenta actividad antifúngica. En las investigaciones de De La Cruz M, (2013) y Joya M. et al. (2017) quienes utilizaron extractos etanólicos de propóleo que enfrentaron con cepas de la especie fúngica en mención, difiriendo en que estos estudios si consideraron utilizar concentraciones mayores y menores del producto respecto del presente estudio. Lo anteriormente presentado sugiere que un factor clave de la sensibilidad de *C. albicans* es su composición química, la cual está representada por proteínas y polisacáridos. Además, se conoce que estos microorganismos presentan una pared celular, la cual está compuesta principalmente por polisacáridos como el glucano y la quitina. Además, estas especies presentan una membrana citoplasmática, lugar donde los antimicóticos llevan a cabo su función. Además, se sabe que la membrana citoplasmática está contiene grandes cantidades de carbohidratos y proteínas en una menor proporción, las cuales, permiten la entrada y salida de sustancias, tales como metabolitos secundarios por ejemplo los flavonoides, taninos, terpenos y alcaloides (11,86).

Por otro lado, considerando los dos primeros objetivos específicos, los cuales fueron, evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de *C.*

albicans aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente, se logró evidenciar que el extracto de propóleo mostró inhibición de las cepas de *C. albicans* aisladas de candidiasis vulvovaginal (CVV) aguda y recurrente. Este hallazgo tiene relación a lo reportado por Adjapong G. et al. (2017) quienes compararon la susceptibilidad de cepas de *C. albicans* aisladas de CVV aguda y CVV recurrente, donde las primeras mostraron mayor sensibilidad al fluconazol en comparación con las de infección recurrente, aplicando tres dosis del antimicótico (87). Para el caso del propóleo, no se logró encontrar los estudios precisos que comparen su efecto en ambos tipos de cepas, sin embargo, se puede sugerir que, en las candidiasis de carácter recurrente, *C. albicans* expresa resistencia a los antimicóticos como los azoles, y por ende, también a los metabolitos que inducen su inhibición (49).

Asimismo, teniendo en cuenta el tercer objetivo específico, el cual fue, comparar la actividad antifúngica entre las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente, se evidenció que las cepas de *C. albicans* aisladas de candidiasis vulvovaginal (CVV) aguda mostraron mayor promedio de halo de inhibición que las de infección recurrente cuando se enfrentaron al extracto de propóleo y al fluconazol, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Este hallazgo es muy similar a lo reportado por Adjapong G. et al. (2017) quienes compararon la susceptibilidad de cepas de *C. albicans* aisladas de CVV aguda y CVV recurrente, donde las primeras mostraron mayor sensibilidad al fluconazol en comparación con las de infección recurrente, aplicando tres dosis del antimicótico (2ug/mL, 4ug/mL y 8ug/mL) (87). Para el caso

del propóleo, no se logró encontrar los estudios precisos que comparen su efecto en ambos tipos de cepas, sin embargo, se puede sugerir que, en las candidiasis de carácter recurrente, *C. albicans* expresa resistencia a los antimicóticos como los azoles, y por ende, también a los metabolitos presentes en el extracto de propóleo que inducen su inhibición (49).

Finalmente, teniendo en cuenta el cuarto objetivo específico, el cual fue, comparar la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal, se pudo establecer diferencias significativas entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol, siendo este último el que mostró mayor promedio de halo de inhibición, siendo este hallazgo muy similar a lo encontrado por Capoci I. et al. (2015) quienes utilizaron propóleo y como control positivo al fluconazol para la inhibición de biofilms causado por *C. albicans*, siendo este último el que mostró mayor efecto inhibitorio frente a las cepas del microorganismo en mención (7). Esto sugiere que, a pesar que los metabolitos del producto estudiado pueden intervenir en el crecimiento y desarrollo del agente infeccioso, los antimicóticos han demostrado ser más eficaces, ya que no solo afectan el componente exterior de los hongos, sino también afectan al interior celular, provocando una inhibición mayor y más rápida. Se debe destacar que, los metabolitos descritos, en la mayoría de casos, estimulan la inhibición de la formación de biopelículas, sin embargo, los antimicóticos por excelencia, como el fluconazol, pueden atravesar la membrana citoplasmática del hongo y afectar la respiración celular y por consiguiente, causar su muerte de manera más veloz (88,89).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El extracto de propóleo presentó actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.
- El extracto de propóleo presentó actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.
- El extracto de propóleo presentó actividad antifúngica frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.
- Existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol frente a cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.
- Existe diferencia significativa entre los halos de inhibición de las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.

5.2. Recomendaciones

- Realizar pruebas de toxicidad *in vitro* e *in vivo* para garantizar la inocuidad del extracto de propóleo.
- Realizar investigaciones de la actividad inhibitoria del extracto de propóleo en otras especies de *Candida*, de preferencia aisladas de muestras clínicas.
- Realizar investigaciones de la actividad inhibitoria del extracto de propóleo en cepas de levaduras resistentes a antimicóticos.
- Realizar investigaciones de la actividad inhibitoria con el extracto de propóleo a diferentes concentraciones.

REFERENCIAS

1. 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 Odontostomatol* [Internet]. 2017;11(3):295–303. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2017000300295>
2. Parker M, Szybala C. Vaginitis, Vulvovaginitis, and Vulvodynia. In: *Textbook of Natural Medicine*. 5° Edición. Missouri, Estados Unidos: Elsevier; 2021. p. 1840–9.
3. Joya M, Gil M, Bastidas-Pacheco G. Actividad fungistática y fungicida de extractos etanólicos de propóleos sobre el crecimiento in vitro de cepas del género Candida. *Tecnol en Marcha* [Internet]. 2017;30(3):3–11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v30i3.3268>
4. Tulikangas PK, Schimpf MO. Genital and urinary tract infections. In: *General Gynecology* [Internet]. 1° Edición. Philadelphia, Estados Unidos: Elsevier Inc.; 2007. p. 523–42. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-032303247-6.10022-X>
5. Prieto-Granada C, Lobo A, Minhm M. Skin Infections. In: *Diagnostic Pathology of Infectious Disease* [Internet]. 2° Edición. Philadelphia, Estados Unidos: Elsevier Inc.; 2018. p. 542–647. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-44585-6.00020-5>
6. Gavanji S, Larki B. Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida albicans*. *Chin J Integr Med* [Internet]. 2015;23(3):201–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11655-015-2074-9>
7. Capoci IRG, Bonfim-Mendonça PDS, Arita GS, Pereira RRDA, Consolaro MEL, Bruschi ML, et al. Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*. *Evidence-based Complement Altern Med* [Internet]. 2015;20(1):1–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/287693>
8. Sobel J. Vulvovaginal candidosis. *Lancet* [Internet]. 2007;369(1):1961–71. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60917-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60917-9)
9. Mendoza E. 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 [Internet]. Tesis para Optar el Grado de Bachiller en Medicina, Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2019. Disponible en: <https://bibliotecadigital.oducal.com/Record/ir-123456789-10968>
10. Huaytalla RM, Gálvez CM, Carhuapoma-Yance M, Alvarez-Paucar MA, López S. Efecto inhibitor in vitro del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus*. *Rev Estomatológica Hered* [Internet]. 2018;28(1):36–43. Disponible en: <https://doi.org/10.20453/reh.v28i1.3281>

11. Calla K, Quispe D. 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 *Pseudomona aeruginosa* [Internet]. Tesis Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico, Universidad Católica de Santa María; 2016. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/5897/65.1549.FB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
12. 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 Investig la Univ Norbert Wiener* [Internet]. 2014;3(1):23–9. Disponible en: https://intranet.uwienner.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_3/003_Leon.pdf
13. Barraza N, Ayala-Peralta F, Izaguirre-Lucano H, Luna-Figueroa A, Carranza-Asmat C. Características clínicas de vulvovaginitis por *Candida albicans* en mujeres en edad reproductiva. *Rev Peru Investig Matern Perinat* [Internet]. 2019;8(1):8–12. Disponible en: <https://doi.org/10.33421/inmp.2019133>
14. De la Cruz M. Actividad Antimicótica Del Extracto Etanólico De Propóleo Sobre El Crecimiento in vitro De *Candida albicans* [Internet]. Tesis para Optar el Grado Académico de Bachiller en Estomatología, Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en: https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/587/DeLaCruzLeon_M.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Firdaus S, Hassan N, Aamir M, Ara T, El-serehy HA, Al-misned FA, et al. FbD directed fabrication and investigation of luliconazole based SLN gel for the amelioration of candidal vulvovaginitis: a 2 T (thermosensitive & transvaginal) approach. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2021;28(1):317–26. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.005>
16. Dovník A, Golle A, Novak D, Arko D, Takač I. Treatment of vulvovaginal candidiasis: a review of the literature. *Acta Dermatovenerologica* [Internet]. 2015;24(9):5–7. Disponible en: <https://doi.org/10.15570/actaapa.2015.2>
17. Faustino C, Pinheiro L. Lipid systems for the delivery of amphotericin B in antifungal therapy. *Pharmaceutics* [Internet]. 2020;12(1):1–47. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010029>
18. Huang K, Zhang B, Shen ZY, Cai X, Liu ZQ, Zheng YG. Enhanced amphotericin B production by genetically engineered *Streptomyces nodosus*. *Microbiol Res* [Internet]. 2021;242(1):1–36. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126623>

19. Lirio J, Giraldo PC, Amaral RL, Sarmiento ACA, Costa APF, Goncalves AK. Antifungal (oral and vaginal) therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis: A systematic review protocol. *BMJ Open* [Internet]. 2019;9(5):1–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027489>
20. World Health Organization (WHO). *Candida auris*, un patógeno emergente. Acciones y prevención en Colombia [Internet]. WHO. 2021 [citado el 14 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/10-3-2021-candida-auris-patogeno-emergente-acciones-prevencion-colombia>
21. Barnett JA. A history of research on yeasts 12: medical yeasts part 1, *Candida albicans*. *Yeast* [Internet]. 2008;25(1):385–417. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/yea.1595>
22. Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2019;25(7):792–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
23. De Las Mercedes M, Gallucci M, Carezzano E, Demo S. Natural Products as Alternative Treatments for *Candida* Species Resistant to Conventional Chemotherapeutics. In: *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and their Components* [Internet]. 1º Edición. San Diego, Estados Unidos: Elsevier Inc.; 2013. p. 31–43. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398539-2.00004-5>
24. Shields RK, Kline EG, Healey KR, Kordalewska M, Perlin DS, Nguyen MH, et al. Spontaneous Mutational Frequency and FKS Mutation Rates Vary by Echinocandin Agent against *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2019;63(1):1–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/AAC.01692-18>
25. Pereira R, dos Santos RO, de Brito EHS, de Moraes SM. Biofilm of *Candida albicans*: Formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2020;131(1):11–22. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jam.14949>
26. Staab JF, Wong B. Fungal infections, systemic. In: *Encyclopedia of Microbiology* [Internet]. 4º Edición. Cambridge, Estados Unidos: Elsevier Inc.; 2019. p. 341–61. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.02399-0>
27. Hiyama Y, Sato T, Takahashi S, Yamamoto S, Ogasawara N, Masumori N, et al. Reduction of susceptibility to azoles and 5-fluorocytosine and growth acceleration in *Candida albicans* in glucosuria. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2022;102(1):1–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2021.115556>
28. Xia XJ, Zhong Y, Sang B, Li QP, Zhi HL, Lv WW, et al. Violet colonies of *Talaromyces marneffeii* produce on CHROMagar candida medium. *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2021;101(4):1–4. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2021.115533>

29. McCullough MJ, Ross BC, Reade PC. *Candida albicans*: A review of its history, taxonomy, epidemiology virulence attributes, and methods of strain differentiation. *Int J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 1996;25(2):136–44. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027\(96\)80060-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027(96)80060-9)
30. Sadeghi G, Ebrahimi-Rad M, Mousavi SF, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. Emergence of non-*Candida albicans* species: Epidemiology, phylogeny and fluconazole susceptibility profile. *J Mycol Med* [Internet]. 2018;28(1):51–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.12.008>
31. Jeffery-Smith A, Taori SK, Schelenz S, Jeffery K, Johnson EM, Borman A, et al. *Candida auris*: A review of the literature. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2018;31(1):1–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-17>.
32. Lee Y, Puumala E, Robbins N, Cowen LE. Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. *Chem Rev* [Internet]. 2021;121(6):3390–411. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00199>
33. Dunker C, Polke M, Schulze-Richter B, Schubert K, Rudolphi S, Gressler AE, et al. Rapid proliferation due to better metabolic adaptation results in full virulence of a filament-deficient *Candida albicans* strain. *Nat Commun* [Internet]. 2021;12(1):1–20. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24095-8>
34. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-the virulence factors and clinical manifestations of infection. *J Fungi* [Internet]. 2021;7(2):1–19. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
35. Zheng Q, Zhang Q, Bing J, Ding X, Huang G. Environmental and genetic regulation of white-opaque switching in *Candida tropicalis*. *Mol Microbiol* [Internet]. 2017;106(6):999–1017. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/mmi.13862>
36. Mukaremera L, Lee KK, Mora-Montes HM, Gow NAR. *Candida albicans* yeast, pseudohyphal, and hyphal morphogenesis differentially affects immune recognition. *Front Immunol* [Internet]. 2017;8(1):1–12. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00629>
37. Quindós G, Marcos-Arias C, San-Millán R, Mateo E, Eraso E. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *Int Microbiol* [Internet]. 2018;21(3):107–19. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10123-018-0014-1>
38. Bojang E, Ghuman H, Kumwenda P, Hall RA. Immune sensing of *Candida albicans*. *J Fungi* [Internet]. 2021;7(2):1–16. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof7020119>
39. Papon N, Naglik J. *Candida vaginitis*: the importance of mitochondria and type I interferon signalling. *Mucosal Immunol* [Internet]. 2021;14(5):1–3. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00424-4>

40. Strydom M, Walpola RL, Khan S, Ware RS, Tiralongo E. Evidence-based update on Australasian pharmaceutical prescribing approaches for recurrent vulvovaginal candidiasis. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2021;61(4):496–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ajo.13376>
41. Pramanick R, Mayadeo N, Warke H, Begum S, Aich P, Aranha C. Vaginal microbiota of asymptomatic bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis: Are they different from normal microbiota? *Microb Pathog* [Internet]. 2019;134(1):1–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103599>
42. Willems HME, Ahmed SS, Liu J, Xu Z, Peters BM. Vulvovaginal candidiasis: A current understanding and burning questions. *J Fungi* [Internet]. 2020;6(1):1–20. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof6010027>
43. Pereira LC, Correia AF, da Silva ZDL, de Resende CN, Brandão F, Almeida RM, et al. Vulvovaginal candidiasis and current perspectives: new risk factors and laboratory diagnosis by using MALDI TOF for identifying species in primary infection and recurrence. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2021;40(8):1681–93. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04199-1>
44. Prakoeswa CRS, Puspitorini D, Widya Y, Anggraeni S, Astari L, Ervianti E, et al. Profile of Candida Species in Vulvovaginal Candidiasis using Conventional Methods. *Sci Technol Publ* [Internet]. 2021;23(1):281–5. Disponible en: <https://doi.org/10.5220/0008155702810285>
45. Pizzorno JE, Murray MT, Joiner-Bey H. *The Clinician's Handbook of Natural Medicine* [Internet]. 3^o Edición. Missouri, Estados Unidos: Elsevier Ltd; 2015. 992 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2010-0-67298-1>
46. Yano J, Sobel JD, Nyirjesy P, Sobel R, Williams VL, Yu Q, et al. Current patient perspectives of vulvovaginal candidiasis: Incidence, symptoms, management and post-treatment outcomes. *BMC Womens Health* [Internet]. 2019;19(1):1–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12905-019-0748-8>
47. Sustr V, Foessleitner P, Kiss H, Farr A. Vulvovaginal candidosis: Current concepts, challenges and perspectives. *J Fungi* [Internet]. 2020;6(4):1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/jof6040267>
48. Dewi LT. Vulvovaginal candidiasis (VVC): A review of the literature. *Bali Dermatology Venereol J* [Internet]. 2020;3(1):15–8. Disponible en: <https://doi.org/10.15562/bdv.v3i1.37>
49. Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016;214(1):15–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2015.06.067>
50. Custódio L. *Candidíase vulvovaginal e perspectivas atuais: sintomas, diagnóstico laboratorial, prevalência das espécies, resistência à antifúngicos, novos fatores de risco associados e avaliação da recorrência* [Internet]. Tese para obtenção do Título

de Doutor em Ciências Médicas, Universidade de Brasília; 2021. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/41590/1/2021_LiviaCustodioPereira.pdf

51. Zabaïou N, Fouache A, Trousson A, Baron S, Zellagui A, Lahouel M, et al. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chem Phys Lipids* [Internet]. 2017;207(1):214–22. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005>
52. Blostein F, Levin-Sparenberg E, Wagner J, Foxman B. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Ann Epidemiol* [Internet]. 2017;27(9):575–82. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2017.08.010>
53. Djohan V, Angora K, Vanga-Bosson A, Konaté A, Kassi K, Kiki-Barro P, et al. Recurrent vulvo-vaginal candidiasis in Abidjan (Côte d’Ivoire): Aetiology and associated factors. *J Mycol Med* [Internet]. 2019;29(2):127–31. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.04.002>
54. Ebrahimi-Shaghghi F, Noormohammadi Z, Atyabi S-M, Razzaghi-Abyaneh M. Inhibitory effects of cold atmospheric plasma on the growth, virulence factors and HSP90 gene expression in *Candida albicans*. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2021;700(1):1–10. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108772>
55. Belibasakis G, Hajishengallis G, Bostanci N, Curtis MA. Oral Mucosal Immunity and Microbiome [Internet]. 1º Edición. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Berna, Suíza: Springer Cham; 2019. 119–141 p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-28524-1>
56. Gehlot S, Dwivedi S, Gupta SK, Shrivastava SK. Herbal Topical Formulation for the treatment of Vaginal Infection: An Overview. *Int J Pharm Life Sci* [Internet]. 2021;12(2):57–62. Disponível em: <http://www.ijplsjournal.com/issues/PDFfiles/Archive-2021/February-2021/10.pdf>
57. Gucwa K, Kusznierevicz B, Milewski S, Van Dijck P, Szweda P. Antifungal Activity and Synergism with Azoles of Polish Propolis. *Pathogens* [Internet]. 2018;7(2):1–22. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens7020056>
58. Sobel JD, Sobel R. Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2018;19(9):971–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1476490>
59. Edwards JE, Schwartz MM, Schmidt CS, Sobel JD, Nyirjesy P, Schodel F, et al. A Fungal Immunotherapeutic Vaccine (NDV-3A) for Treatment of Recurrent Vulvovaginal Candidiasis—A Phase 2 Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2018;66(12):1928–36. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/ciy185>

60. Guzman-Novoa E, Morfin N. Disease resistance in honey bees (*Apis mellifera* L.) at the colony and individual levels. In: *Comprehensive Biotechnology* [Internet]. 3^o Edición. Amsterdam, Países Bajos: Elsevier; 2019. p. 811–7. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64046-8.00254-8>.
61. Boulinier T, Kada S, Ponchon A, Dupraz M, Dietrich M, Gamble A, et al. Migration, Prospecting, Dispersal? What Host Movement Matters for Infectious Agent Circulation? *Integr Comp Biol* [Internet]. 2016;56(2):330–42. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/icb/icw015>
62. Meeus I, Smagghe G, Eraerts M. Safe-Guarding Bee Diversity and Food Provisioning. In: *Reference Module in Food Science* [Internet]. 1^o Edición. Ghent, Bélgica: Elsevier; 2017. p. 1–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21867-2>
63. Cornman RS, Otto CRV, Iwanowicz D, Pettis JS. Taxonomic characterization of honey bee (*Apis mellifera*) pollen foraging based on non-overlapping paired-end sequencing of nuclear ribosomal loci. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(12):1–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0145365>
64. Irigoiti Y, Navarro A, Yamul D, Libonatti C, Tabera A, Basualdo M. The use of propolis as a functional food ingredient: A review. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2021;115(1):297–306. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.041>
65. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2019;26(7):1695–703. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
66. Pobiega K, Kraśniewska K, Gniewosz M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2019;83(1):53–62. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.007>
67. Rivera-Yañez N, Rivera-Yañez CR, Pozo-Molina G, Méndez-Catalá CF, Méndez-Cruz AR, Nieto-Yañez O. Biomedical properties of propolis on diverse chronic diseases and its potential applications and health benefits. *Nutrients* [Internet]. 2021;13(1):1–31. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu13010078>
68. Zheng Y, Wu Y, Tao L, Chen X, Jones TJ, Wang K, et al. Chinese Propolis Prevents Obesity and Metabolism Syndromes Induced by a High Fat Diet and Accompanied by an Altered Gut Microbiota Structure in Mice. *Nutrients* [Internet]. 2020;12(4):1–23. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu12040959>
69. Corrêa JL, Veiga FF, Jarros IC, Costa MI, Castilho PF, de Oliveira KMP, et al. Propolis extract has bioactivity on the wall and cell membrane of *Candida albicans*. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2020;256(1):1–11. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112791>

70. Nina N, Quispe C, Jiménez-Aspee F, Theoduloz C, Giménez A, Schmeda-Hirschmann G. Chemical profiling and antioxidant activity of Bolivian propolis. *J Sci Food Agric* [Internet]. 2016;96(6):2142–53. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7330>
71. Yoshimasu Y, Ikeda T, Sakai N, Yagi A, Hirayama S, Morinaga Y, et al. Rapid Bactericidal Action of Propolis against *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res* [Internet]. 2018;97(8):928–36. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0022034518758034>
72. Farida S, Sahlan M, Rohmatin E, Adawiyah R. The beneficial effect of Indonesian propolis wax from *Tetragonula* sp. as a therapy in limited vaginal candidiasis patients. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2020;27(1):142–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.010>
73. El-Guendouz S, Lyoussi B, Miguel MG. Insight on Propolis from Mediterranean Countries: Chemical Composition , Biological Activities and Application Fields. *Chem Biodivers* [Internet]. 2019;16(7):1–35. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900094>
74. Saeed F, Ahmad SR, Arshad MU, Niaz B, Batool R, Naz R, et al. Propolis to Curb Lifestyle Related Disorders: An Overview. *Int J Food Prop* [Internet]. 2016;19(2):420–37. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.745131>
75. Fangio MF, Orallo DE, Gende LB, Churio MS. Chemical characterization and antimicrobial activity against *Paenibacillus* larvae of propolis from Buenos Aires province, Argentina. *J Apic Res* [Internet]. 2019;58(4):626–38. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1601318>
76. Arias J, Covinos M. Diseño y metodología de la investigación [Internet]. 1° Edición. Arequipa, Perú: Enfoques Consulting EIRL; 2021. 133 p. Disponible en: https://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/2260/1/Arias-Covinos-Diseño_y_metodologia_de_la_investigacion.pdf
77. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 1° Edición. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana S.A.; 2004. 533 p. Disponible en: <https://nodo.ugto.mx/wp-content/uploads/2017/03/Metodologia-de-la-Investigacion.pdf>
78. Supo J. Cómo empezar una tesis - Tu proyecto de investigación en un solo día [Internet]. 1° Edición. Arequipa, Perú: Bioestadístico EIRL; 2016. 70 p. Disponible en: <https://asesoresenturismoperu.files.wordpress.com/2016/03/107-josc3a9-supoc3b3mo-empezar-una-tesis.pdf>
79. Palella S, Martins F. Metodología de la investigación científica [Internet]. 2° Edición. Caracas, Venezuela: Fedupel; 2006. 253 p. Disponible en: https://www.academia.edu/35200587/2006_Metodologia_de_la_investigacion_cuantitativa_Palella_pdf

80. Berndt AE. Sampling Methods. *J Hum Lact* [Internet]. 2020;36(2):224–6. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/0890334420906850>
81. Konečná K, Klimentová J, Benada O, Němečková I, Jand'ourek O, Jílek P, et al. A comparative analysis of protein virulence factors released via extracellular vesicles in two *Candida albicans* strains cultivated in a nutrient-limited medium. *Microb Pathog* [Internet]. 2019;136(1):1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103666>
82. Carrasco S. Metodología de la Investigación Científica [Internet]. 1° Edición. Lima, Perú: Editorial San Marcos; 2005. 239 p. Disponible en: https://www.academia.edu/26909781/Metodologia_de_La_Investigacion_Cientifica_Carrasco_Diaz_1_
83. DIFCO. The Difco Manual [Internet]. 11° Edición. Maryland, Estados Unidos: Difco Laboratories; 1998. 157 p. Disponible en: http://www.pyiephyomaung.yolasite.com/resources/Difco_Manual_of_Microbiological_Culture_Media_11th_Edition.pdf
84. Zurita S, Ausejo F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 1° Edición. Lima, Perú: Repositorio Institucional - INS; 2017. 139 p. Disponible en: https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual_de_procedimientos_tecnicos_para_el_diagnostico_micologico.final.pdf?sequence=1
85. Bauer A., Kirby WM., Sherris J., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 1966;45(4):493–6. Disponible en: https://doi.org/10.1093/AJCP/45.4_TS.493
86. Boisard S, Le Ray AM, Gatto J, Aumond MC, Blanchard P, Derbré S, et al. Chemical composition, antioxidant and anti-AGEs activities of a French poplar type propolis. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2014;62(6):1344–51. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf4053397>
87. Adjapong G, Hale M, Garrill A. A comparative investigation of azole susceptibility in *Candida* isolates from vulvovaginal candidiasis and recurrent vulvovaginal candidiasis patients in Ghana. *Med Mycol* [Internet]. 2017;55(1):686–9. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/mmy/myw122>
88. Vademecum. Fluconazol [Internet]. 2013 [citado el 29 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/f025.htm>
89. Seleem D, Pardi V, Murata RM. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-*Candida albicans* activity in vitro. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2017;76(1):76–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.08.030>

ANEXOS

ANEXO 1. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p style="text-align: center;">Problema general</p> <p>¿Existe actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>Candida albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal?</p> <p style="text-align: center;">Problemas específicos</p> <p>¿Existe actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda?</p> <p>¿Existe actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente?</p> <p>¿Existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal?</p> <p>¿Existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica sobre las cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente?</p>	<p style="text-align: center;">Objetivo general</p> <p>Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.</p> <p style="text-align: center;">Objetivos específicos</p> <p>Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.</p> <p>Evaluar la actividad antifúngica del extracto de propóleo frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.</p> <p>Comparar la actividad antifúngica del extracto de propóleo y fluconazol frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.</p> <p>Comparar la actividad antifúngica entre las cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.</p>	<p style="text-align: center;">Hipótesis general</p> <p>H1: El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.</p> <p style="text-align: center;">Hipótesis específicas</p> <p>H1: El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda.</p> <p>H1: El extracto de propóleo si presenta actividad antifúngica frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal recurrente.</p> <p>H1: Existe diferencia significativa entre la actividad antifúngica del extracto de propóleo y el fluconazol frente a cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal.</p> <p>H1: Existe diferencia significativa entre los halos de inhibición de las cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes diagnosticadas con candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.</p>	<p style="text-align: center;">Variable 1: Actividad antifúngica del extracto de propóleo</p> <p style="text-align: center;">Variable 2: Cepas de <i>C. albicans</i></p>	<p style="text-align: center;">Tipo de investigación: Básica</p> <p style="text-align: center;">Método y diseño de investigación: Método deductivo y diseño experimental</p> <p style="text-align: center;">Población y muestra Población: Cepas de <i>C. albicans</i> aisladas de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal que ingresaron al Servicio de Ginecología de la Clínica María del Socorro, distrito de Ate – Lima.</p> <p style="text-align: center;">Muestra: 34 (por tres repeticiones por cepa) se obtienen 102 unidades experimentales.</p>

ANEXO 2. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala de medición
Actividad antifúngica del extracto de propóleo	Sustancia obtenida de los insectos de la especie <i>Apis mellifera</i> que posee la capacidad de inhibir el crecimiento y desarrollo de hongos microscópicos (59).	Sustancia que posee la capacidad de inhibir el crecimiento de <i>Candida albicans</i>	Concentración de extracto de propóleo	50% (50gr de propóleo / 100mL de etanol)	Nominal
Cepas de <i>Candida albicans</i>	Microorganismos aerobios, es la principal causa de candidiasis, se produce asexualmente por gemación (84).	Microorganismos aerobios aislados de pacientes con diagnóstico de candidiasis vulvovaginal aguda y recurrente.	CVV aguda	Diámetros de halos de inhibición (mm)	Nominal
			CVV recurrente	Diámetros de halos de inhibición (mm)	

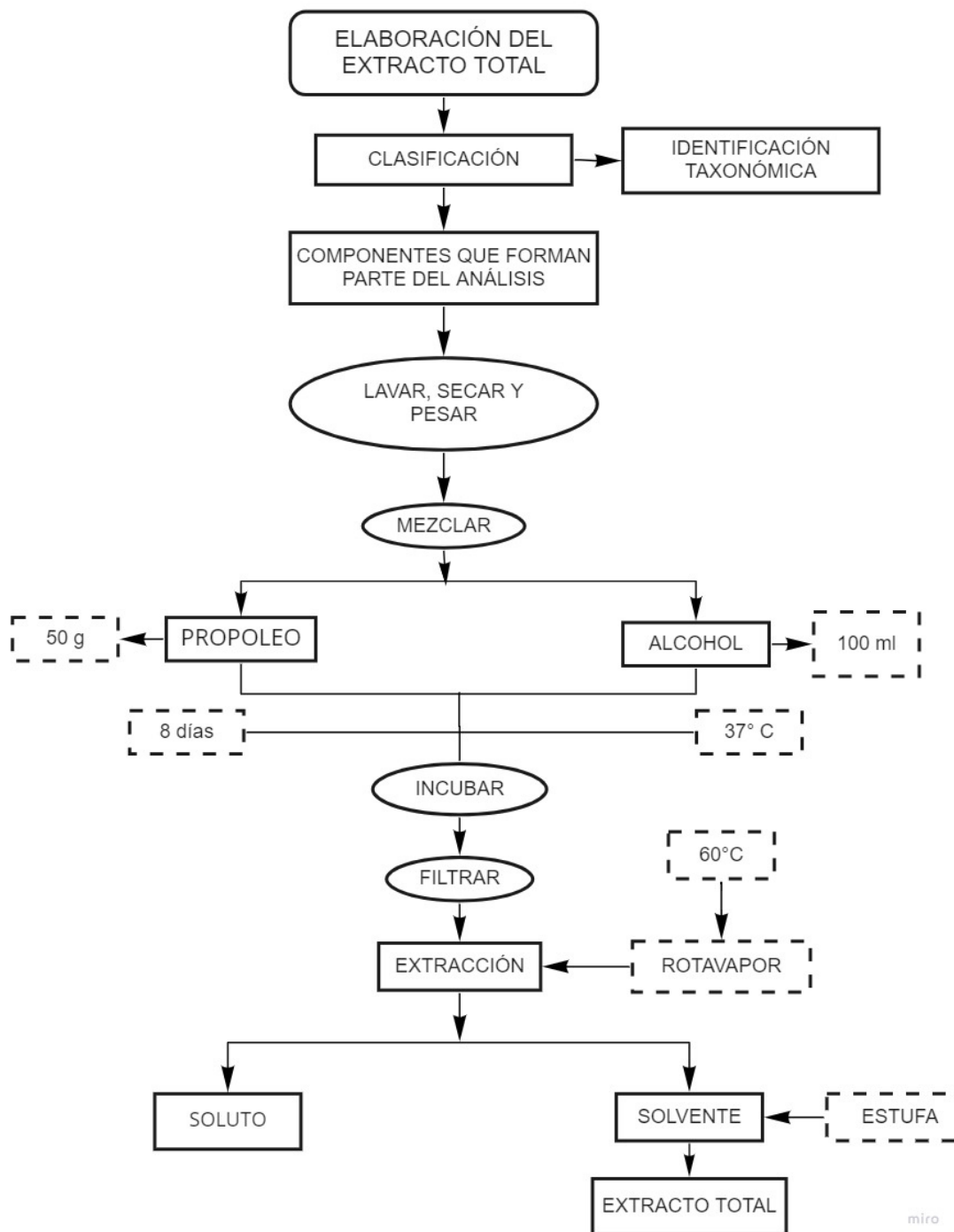
ANEXO 3. Ficha de recolección de datos para Candidiasis vulvovaginal aguda

Código del paciente	Fecha	Cepas de <i>Candida albicans</i>	Producto					
			Extracto de propóleo			Fluconazol		
			R1	R2	R3	R1	R2	R3
		A-1						
		A-2						
		A-3						
		A-4						
		A-5						
		A-6						
		A-7						
		A-8						
		A-9						

ANEXO 4. Ficha de recolección de datos para Candidiasis vulvovaginal recurrente

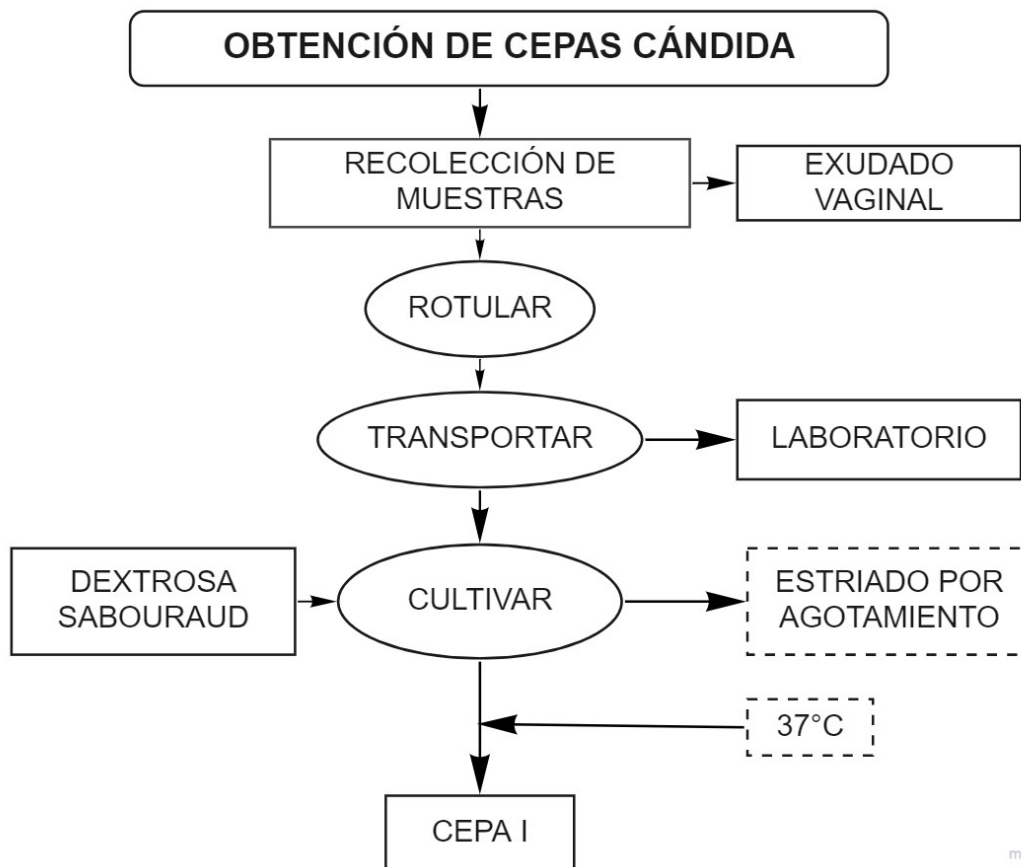
Código del paciente	Fecha	Cepas de <i>Candida albicans</i>	Producto					
			Extracto de propóleo			Fluconazol		
			R1	R2	R3	R1	R2	R3
		R-1						
		R-2						
		R-3						
		R-4						
		R-5						
		R-6						
		R-7						
		R-8						

ANEXO 5. Flujograma de la elaboración del extracto



miro

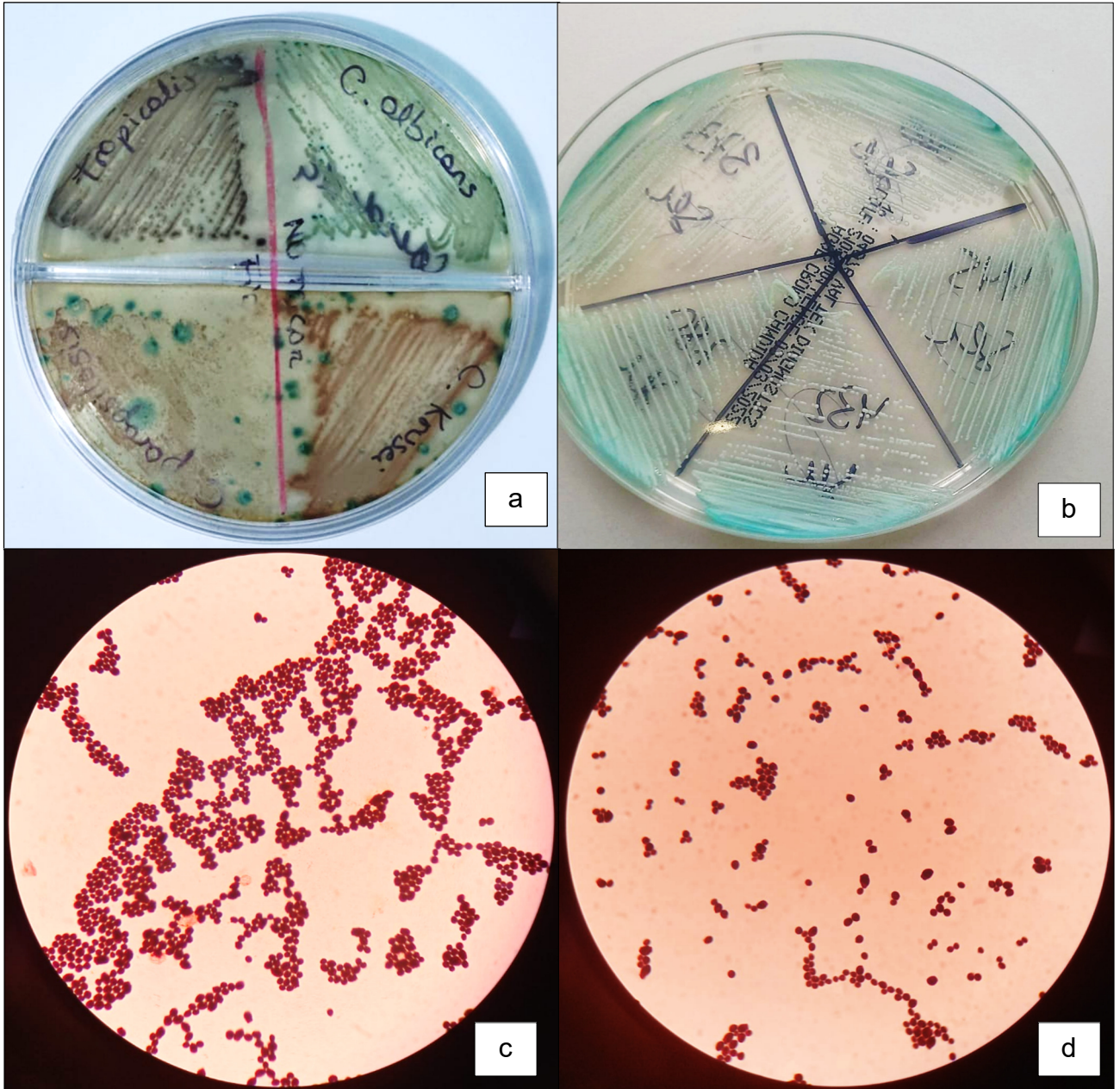
ANEXO 6. Flujograma de la obtención de las cepas de *Candida albicans*



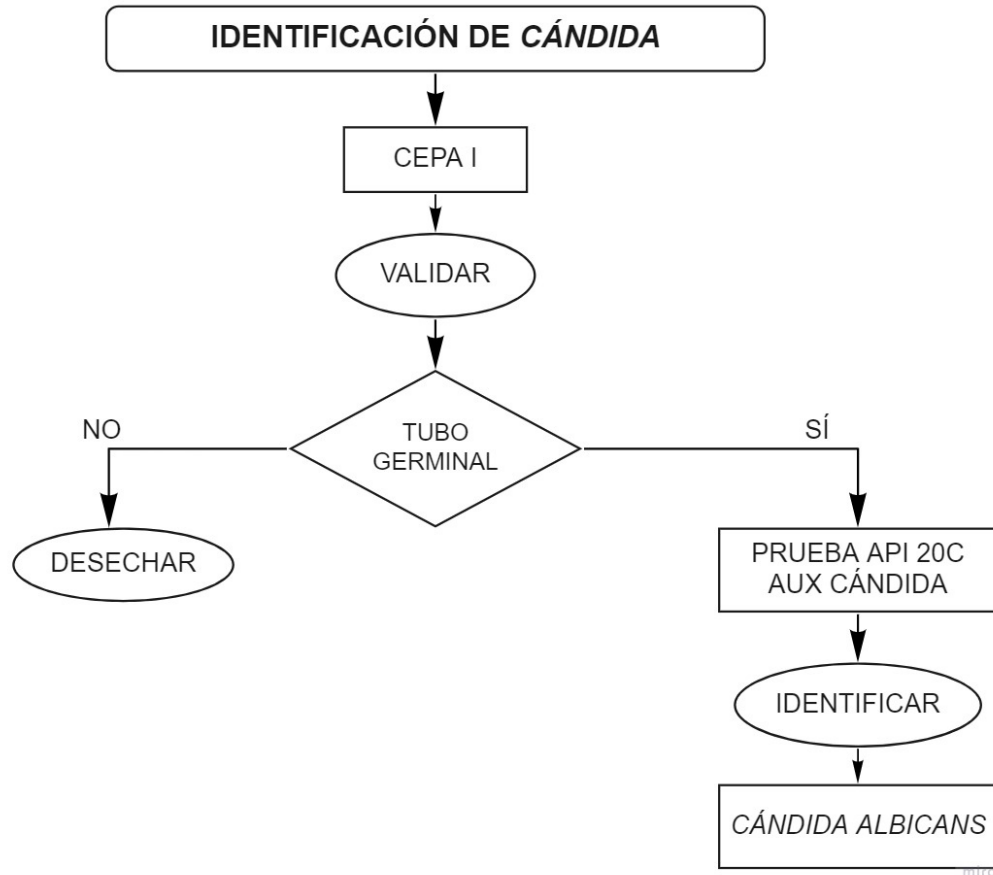
miro

ANEXO 7. Identificación de las cepas de *C. albicans*

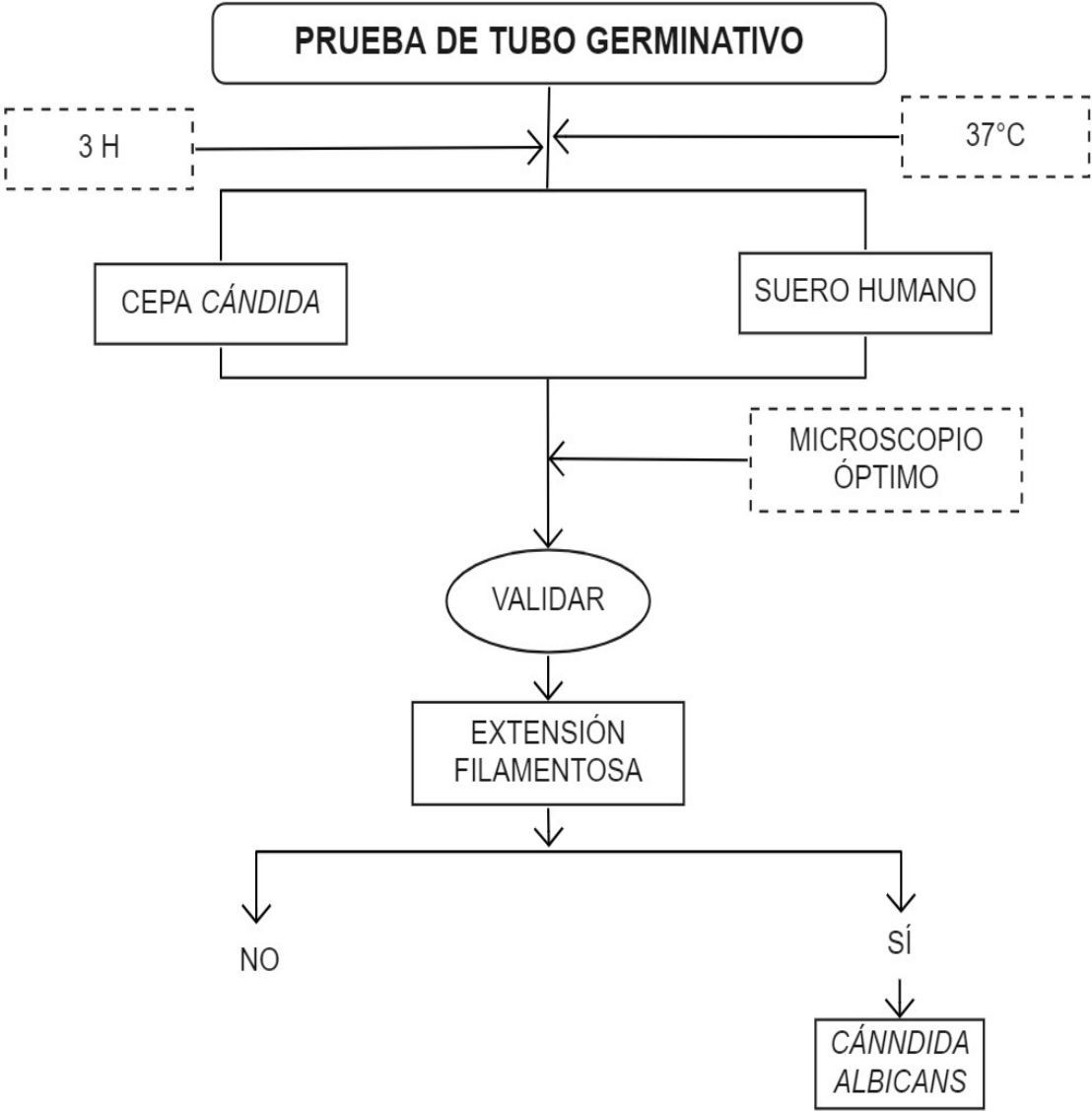
a y b) Aislamiento en agar Cromogénico; c y d) Microscopía de cepas de *C. albicans*.



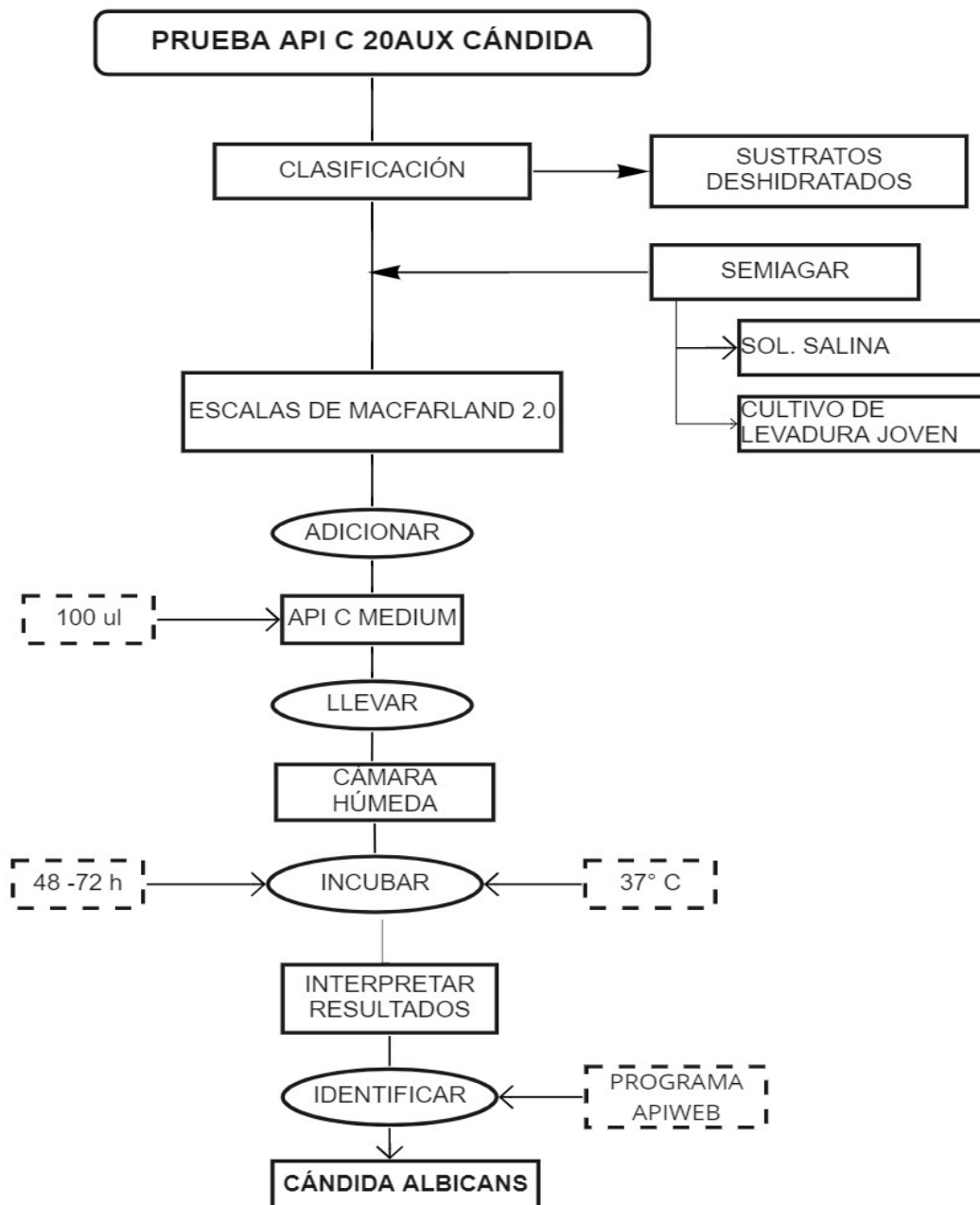
ANEXO 8. Flujograma de la identificación de *Candida albicans*



ANEXO 9. Flujograma de la prueba de tubo germinativo



ANEXO 10. Flujograma de la prueba API 20 C AUX *Candida*



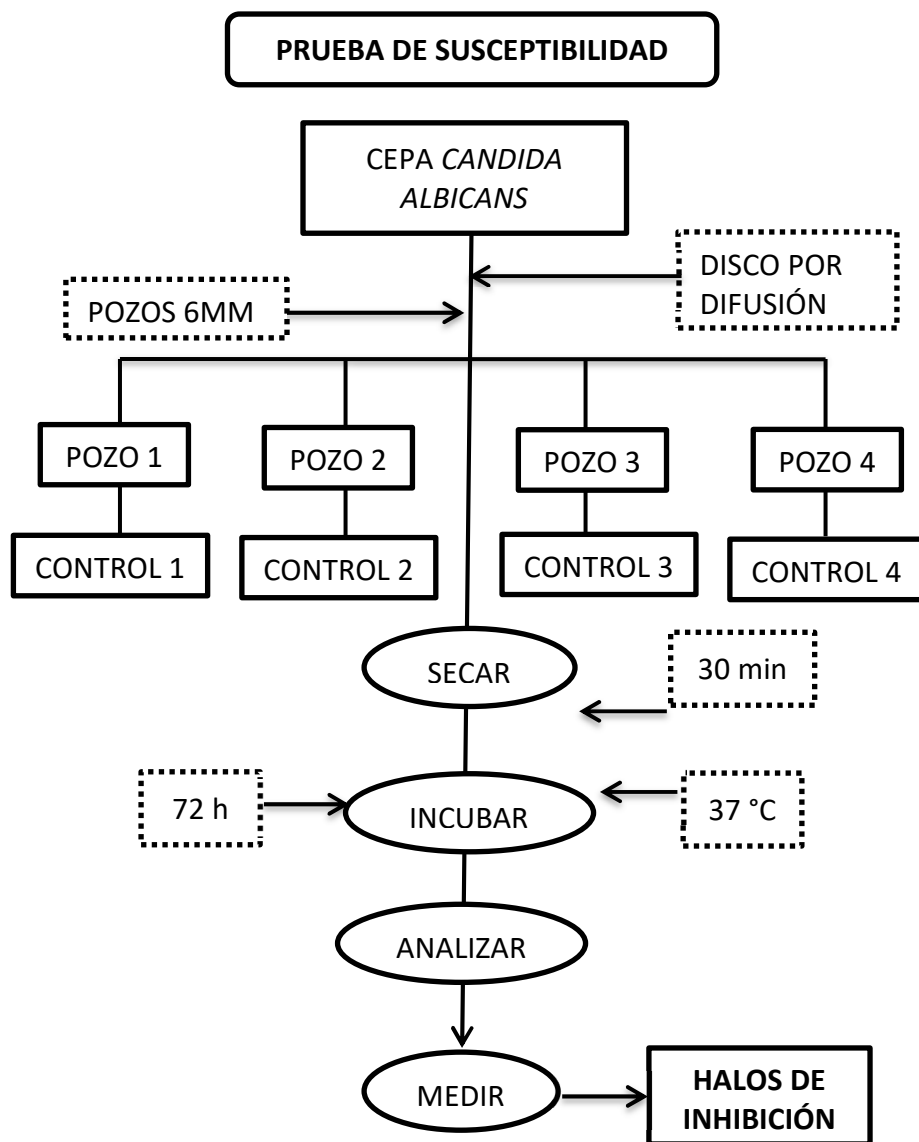
miro

ANEXO 11. Flujograma de preparación de los grupos controles



miro

ANEXO 12. Flujograma de prueba de susceptibilidad antifúngica



ANEXO 13. Carta de autorización de ejecución de proyecto de investigación de la Clínica María del Socorro



"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Ate, 18 de agosto de 2021

OFICIO N° 017- 2021 - GMO- CMS

A: **GINA ANDREA RODRIGUEZ LOYOLA**
Bachiller de Farmacia y bioquímica
Universidad Norbert Wiener

Asunto: Permiso para Ejecución de Proyecto de Investigación

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted, a fin de hacerle llegar los saludos de la Clínica María del Socorro, y mediante el presente, responder favorablemente a su solicitud de permiso para realizar la ejecución del proyecto de investigación en nuestro establecimiento de salud, para que se pueda desarrollar la tesis titulada "ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO DE PROPÓLEO FRENTE A CÁNDIDA ALBICANS DE PACIENTES CON CANDIDIASIS VULVOVAGINAL EN EL AÑO 2021".

Para el desarrollo del mismo, deberá coordinar con nuestra responsable del área de Docencia e Investigación Lic Isabel Jackelin Robles Hurtado, y emitir una copia de su informe final a la clínica.

Sin otro particular, me despido de usted, reiterando nuestra gran estima.

Atentamente,

CLÍNICA MARÍA DEL SOCORRO
Dr. Miguel Ángel Espoz Loli
C.M.P. 21034
Gerente Médico y de Operación

CLÍNICA MARÍA DEL SOCORRO
IR. APURIMAC N° 116-URB. TILDA - ATE

COD. RENIPRESS: 00018584
clinicamariadelsocorro@hotmail.com

CATEGORIA II - 1
CEL CONTACTO: 999024041