



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**“EFECTO DE PROPÓLEOS DE *Apis mellifera*  
SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE CEPAS DE *Candida*  
*spp.* AISLADAS DE MUESTRAS DE PACIENTES ATENDIDOS  
EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA ISIDRO  
ESPINOSA DE LOS REYES (INPerIER).”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACEÚTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

**BEATRIZ VALDEZ MORENO**

**ASESORES: DR. TONATIUH ALEJANDRO CRUZ SÁNCHEZ  
DRA. AMPARO LONDOÑO OROZCO  
Q.F.B. IRMA ELENA SOSA GONZÁLEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
 Jefa del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que  
 revisamos la Tesis:

"Efecto de propóleo de Apis mellifera sobre el crecimiento in vitro  
de cepas de Candida spp. aisladas de muestras de pacientes atendidas  
en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes  
(INPerIER)\*.

Que presenta la pasante Beatriz Valdez Moreno

Con número de cuenta: 301301275 para obtener el título de:

Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN  
 PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 Cuautitlán Izcalli, Mex. a 24 de Abril de 2011.

PRESIDENTE	<u>Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez</u>	
VOCAL	<u>Dr. Victor Manuel Zendejas Buitrón</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. Dulce María Rovalcaba Sil</u>	
1er SUPLENTE	<u>Dra. Alma Lucila Nolasco del Arco</u>	
2º SUPLENTE	<u>QFB. Leticia Cubillo Carrillo</u>	

---

**Este trabajo fue apoyado por los Programas de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la Universidad Nacional Autónoma de México.**

- ✓ PAPIIT: IT223811-3 “Evaluación de la actividad antimicótica de compuestos sintéticos y naturales sobre la estructura de las células micóticas”
- ✓ PAPIIT: IN211008-3 “Perspectivas del uso del propóleo en la salud animal” y la Cátedra de Investigación Proyecto PACIVE 2011:GVC11.

---

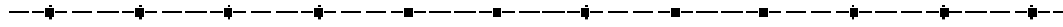
La parte experimental se trabajo en los siguientes Laboratorios:

- ✎ Laboratorio 6 de la U.I.M. de la F.E.S.C. Campo 4 de la UNAM, bajo la responsabilidad del Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez.
  - ✎ Laboratorio 121 del Edificio de Química Orgánica de la F.E.S.C. Campo 1 de la UNAM bajo la responsabilidad del Dr. José Guillermo Penieres Carrillo.
  - ✎ Laboratorio de Microbiología del Cuarto Piso de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, bajo la supervisión de la Q.F.B. Irma Elena Sosa González.
-

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

### **A Díos:**

Por concederme el don de la vida, para disfrutar de ella y aprender de cada prueba que pone en mi camino, por permitirme contar con el apoyo y cariño de una familia, de mis padres y de mi hermana, por nunca abandonarme y cuidarme. Gracias.



### **A mis padres:**

Como un testimonio de cariño y eterno agradecimiento por mi existencia, valores morales y formación profesional. Porque sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y porque nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo. Por lo que soy, por sus consejos, por todo el tiempo que les robé pensando en mí.. Este logro también es suyo, los amo. Gracias, con amor y respeto.



### **A mis asesores de Tesis:**

Dr. Tonatíuh Cruz y Dra. Amparo Londoño: Gracias por su paciencia, apoyo, tiempo y dedicación, por no dejar de alentarme, sin ustedes no habría sido posible culminar este trabajo.

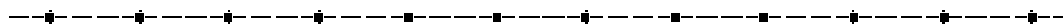
Irma Elena Sosa González: No se cómo agradecerle por tu infinita paciencia, siempre estuviste disponible y gracias a tu apoyo, este esfuerzo también es tuyo, gracias por tu ayuda desmedida y desinteresada, te admiro y respeto.



### **A mis amig@s y compañer@s de trabajo:**

Porque siempre han estado a mi lado cuando los he necesitado, porque supieron escucharme y darme un buen consejo, porque no dudaron ni un momento en brindarme todo su apoyo, de verdad, agradezco a la vida por haberlos puesto en mi camino.

Ana Beatriz Tréjo, Lourdes Saucedo, Guadalupe Sardaña, Elizabeth Guzmán, Magdalena Ku, Martha Morelos, Adriana Curiel, Arianna Lezama, Arianna Romero, Gaby y Katy Lourdes Sandoval, Selene Romero, Avigail Gil, Eva, Dra. Karen, Diana Soriano, José de Jesús Reyes, y a todo el equipo del departamento de Infectología del INPER; Sac Nité Arzate, José Ángel Pérez, Joaquín Fernández, Marco Espinosa, Joel Arenas, Rocío Lara, Alejandro Felipe y Jorge Alberto espero no estar olvidando a alguien lo más probable es que así sea, por lo cual espero no causar alguna molestia, de ser así, espero que me disculpen ya que quienes me conocen saben que a veces suelo ser un poco despistada...



### **A mis primeros jefes:**

Eduardo Villavicencio y Jacqueline Lara, con todo mi más profundo sentimiento de agradecimiento por sus consejos, los admiro como no imaginan, gracias por todo.



### **A todos mis profesores:**

Porque todos fueron fuente de inspiración, admiración y respeto, sobretodo el Q.F.B. Alejandro Rojas Zamora (\*), donde quiera que este...



**A todos mis tíos y tías** especialmente a mi tía Carmen Valdez Ugalde, gracias por todo.

Reír a menudo y mucho; ganar el respeto de gente inteligente y el cariño de los niños, conseguir el aprecio de críticos honestos y aguantar la traición de falsos amigos; apreciar la belleza; encontrar lo mejor en los demás; dejar el mundo un poco mejor, sea con un niño saludable, una huerta o una condición social redimida; saber que por lo menos una vida ha respirado mejor porque tú has vivido. Eso es tener éxito.

**Ralph Waldo Emerson**  
Poeta      americano



CAPITULO		PÁGINA
<b>1</b>	<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	
2.1	<b>Candidiasis</b>	<b>2</b>
2.1.1	<b>Epidemiología</b>	<b>3</b>
2.1.2	<b>Epidemiología en México</b>	<b>3</b>
2.1.3	<b>Patología</b>	<b>7</b>
2.1.4	<b>Manifestaciones Clínicas</b>	<b>8</b>
2.1.5	<b>Candidiasis mucocutánea neonatal</b>	<b>9</b>
2.1.6	<b>Candidiasis Congénita</b>	<b>10</b>
2.1.7	<b>Factores de Riesgo</b>	<b>10</b>
2.1.8	<b>Diagnostico en el Laboratorio</b>	<b>11</b>
2.2	<b>Tratamientos Antimicóticos</b>	<b>12</b>
2.2.1	<b>Tratamientos utilizados en lesiones mucocutáneas localizadas</b>	<b>14</b>
2.2.2	<b>Resistencia a Antimicóticos en México</b>	<b>15</b>
2.3	<b>Propóleo</b>	
2.3.1	<b>Antecedentes</b>	<b>16</b>
2.3.2	<b>Características físicas</b>	<b>17</b>
2.3.3	<b>Características y Composición química</b>	<b>17</b>
2.3.4	<b>Propiedades farmacológicas</b>	<b>19</b>
2.3.5	<b>Obtención del E.E.P.</b>	<b>20</b>
2.3.6	<b>Mercado del Propóleo</b>	<b>20</b>
2.3.7	<b>Investigación Apícola en México</b>	<b>20</b>
<b>3.0</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>22</b>
<b>4.0</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
4.1	<b>Objetivo general</b>	<b>24</b>
4.2	<b>Objetivos particulares</b>	<b>24</b>
<b>5.0</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>25</b>
<b>6.0</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>26</b>
6.1	<b>Alcance</b>	<b>27</b>
6.2	<b>Criterios de inclusión</b>	<b>27</b>
6.3	<b>Criterios de no inclusión</b>	<b>27</b>
6.4	<b>Criterios de exclusión</b>	<b>27</b>
<b>7.0</b>	<b>MATERIALES</b>	<b>28</b>
7.1	<b>Replicador Steers</b>	<b>31</b>



<b>CAPITULO</b>		<b>PÁGINA</b>
<b>8.0</b>	<b>ESTRATEGIA EXPERIMENTAL</b>	<b>32</b>
8.1	Obtención del E.E.P. de la F.E.S.C.	32
8.2	Procedimiento experimental para la prueba piloto para determinar la CMI de trabajo con el E.E.P. de la F.E.S.C..	32
8.3	Procedimiento experimental para la Inoculación con en el Replicador Steers	33
8.4	Procedimiento experimental para la Obtención del valor de la C.M.I. del E.E.P. de la F.E.S.C.	34
8.5	Procedimiento experimental para la Obtención de los porcentajes de inhibición de los E.E.P. Comerciales	35
8.6	Diagramas Experimentales	37
<b>9.0</b>	<b>RESULTADOS</b>	
9.1	Resultados obtenidos de las cepas probadas con los E.E.P.	40
9.2	Resultados para la determinación del primer valor de la C.M.I. el E.E.P. de la F.E.S.C.	42
9.3	Resultados de el valor de la C.M.I. para el E.E. P. de la F.E.S.C.	45
9.4	Resultados para los E.E.P. Comerciales	49
9.5	Análisis Estadístico	54
<b>10</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>56</b>
<b>11</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>62</b>
<b>12</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>63</b>
<b>13</b>	<b>ANEXOS</b>	
13.1	Índice de Abreviaturas	i
13.2	Índice de Figuras	ii
13.3	Índice de Tablas	iii
13.4	Índice de Gráficos	iv

## 1.0 RESUMEN

El objetivo del trabajo experimental fue probar la efectividad que presentaba el Extracto Etanólico de Propóleo del apiario de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, frente al crecimiento *in vitro* de 32 cepas de *Candida spp.* provenientes de muestras clínicas de pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER), mediante la técnica de dilución en agar.

Las 32 cepas de *Candida spp.* fueron inoculadas con el Replicador Steers de fabricación casera sobre placas que contenían diluciones seriadas del Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, las concentraciones probadas fueron 0.0612, 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1,5 y 2.0 mg/mL, se incubaron a 37°C por 48 horas, el ensayo se realizó por duplicado.

Bajo las mismas condiciones, cuatro Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales fueron probados con las concentraciones de 4.0 mg/mL y 2.0 mg/mL, en ambos ensayos se utilizó una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 como referencia.

Se utilizaron controles con la máxima concentración de etanol para asegurar que éste no tuviera un efecto fungistático lo mismo sucedió con el agar por sí solo para descartar contaminaciones en el medio.

Los resultados indicaron que el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán obtuvo un valor de Concentración Mínima Inhibitoria promedio de 0.5 mg/L.

Con respecto a los cuatro Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales se demostró que a las 48 horas había desarrollo de las cepas en las placas que contenía la máxima concentración de los extractos: 4.0 mg/mL a diferencia de la placa que contenía el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, que a 2.0 mg/mL mostró el 100% de inhibición.

Estos resultados sugieren que el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán es más efectivo que los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales probados, por lo tanto se propone como materia para futuros estudios tanto de biodisponibilidad como de toxicidad ya que podría ofrecer una alternativa al tratarse de un remedio natural, económico y eficaz contra el desarrollo de infecciones causadas por *Candida spp.*



## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Candidiasis

Las infecciones causadas por especies pertenecientes al género *Candida* reciben el nombre de Candidosis o Candidiasis. Los microorganismos que pertenecen a este género suelen disponerse como organismos unicelulares (levaduras), aunque algunas especies pueden producir filamentos (hifas y pseudohifas) tanto *in vivo* como en cultivo. Este género incluye especies haploides y diploides, que se reproducen sexual o asexualmente y con propiedades bioquímicas variables, las cuales en huéspedes normales, son saprófitas, localizadas habitualmente en orofaringe, tracto gastrointestinal, tracto genitourinario (Cuenca 2002). En tejidos infectados la mayoría de las especies aparecen como levaduras o pseudohifas. Las levaduras (Figura 1) se presentan con una morfología oval de 2-5 micras de diámetro, cubiertas con una delgada capa externa y se tiñen como Gram-positivo. (Reyes 2003)

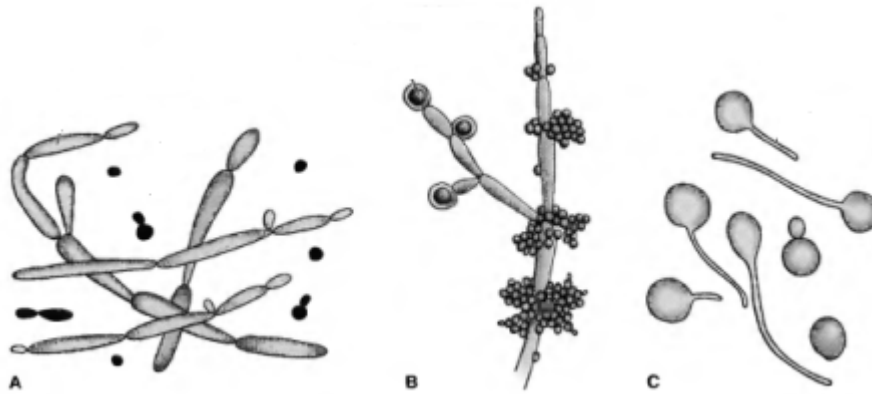


**Figura 1. Cultivo de *Candida albicans* en agar Sabouraud. (Imagen tomada del cepario del laboratorio 6 de la UIM).**

**Tabla 1. Taxonomía para el Género *Candida* (Lennette, 1987)**

<i>Candida</i>	
<b>Reino</b>	Fungi
<b>Filo</b>	Ascomycota
<b>Subfilo</b>	Saccharomycotina
<b>Clase</b>	Saccharomycetes
<b>Orden</b>	Saccharomycelales
<b>Familia</b>	Saccharomycetaceae
<b>Género</b>	<i>Candida</i>

Existen más de 150 especies de *Candida*, pero sólo nueve son consideradas como patógenas para el ser humano: *albicans* (Figura 2), *guilliermondii*, *krusei*, *parapsilosis*, *tropicalis*, *keyfir*, *lusitaniae*, *glabrata* y *dublinskiensis*; esta última descrita recientemente, antes incluida dentro de *C. albicans*. (Reséndiz 2007).



**Figura 2. Morfología de *Candida albicans*. A: Blastosporas y pseudohifas en exudados. B. Blastosporas pseudohifas y clamidosporas (conidios) en cultivos a 20°C. C: Cultivo joven que forma tubos germinales cuando es colocado en suero por 3 horas a 37°C. (Jawetz, 1987)**

### 2.1.1 Epidemiología:

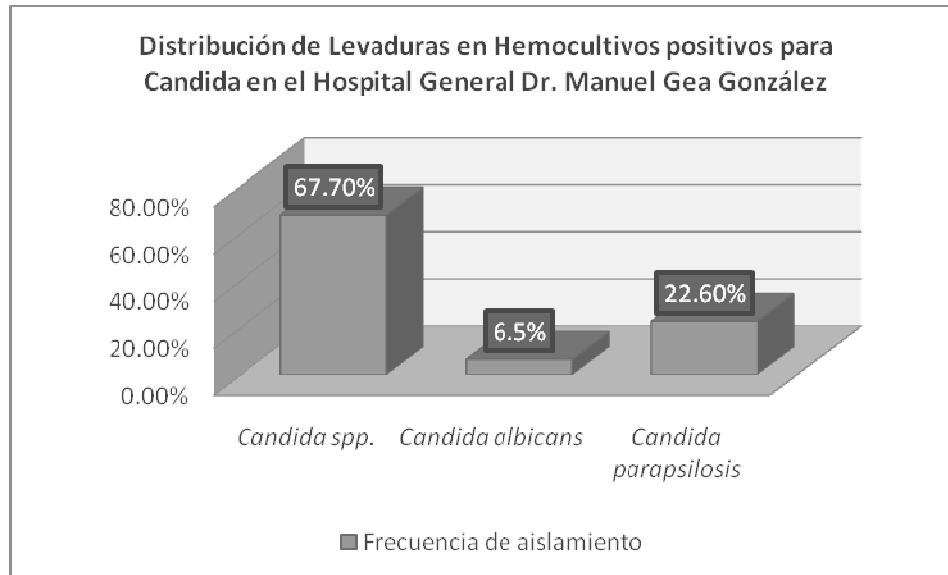
Durante los últimos años se ha reportado un aumento dramático en la incidencia de infecciones nosocomiales causadas por levaduras y hongos filamentosos, una proporción substancial de pacientes han sido colonizados por *Candida* spp. durante su estancia intrahospitalaria, pero sólo unos cuantos desarrollan, subsecuentemente, infecciones graves. (Reséndiz 2007).

Las infecciones ocasionadas por levaduras del género *Candida*, especialmente *C. albicans*, predominan en la mayoría de los reportes representando de un 60 a un 80%, existe un aumento de casos ocasionados por especies diferentes a *C. albicans* que en conjunto se denominan *no albicans*; tales como: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, entre otras. Se estima que de 10 a 20% de todas las infecciones nosocomiales en unidades de terapia intensiva son causadas por especies de *Candida*. La mitad de las infecciones fúngicas ocurren en terapias intensivas, siendo el sitio más frecuente de aislamiento en la sangre con 40.2%, seguido por el de orina e infecciones de mucosas. (Reséndiz 2007).

### 2.1.2 Epidemiología en México

Se han realizado en distintas instituciones de salud estudios que arrojan datos sobre la epidemiología de *Candida* spp. en la población mexicana, estos estudios coinciden en el hecho de que en los últimos años las especies *no albicans* afectan principalmente a recién nacidos internados en unidades de cuidados intensivos. (Esteves, 2009)

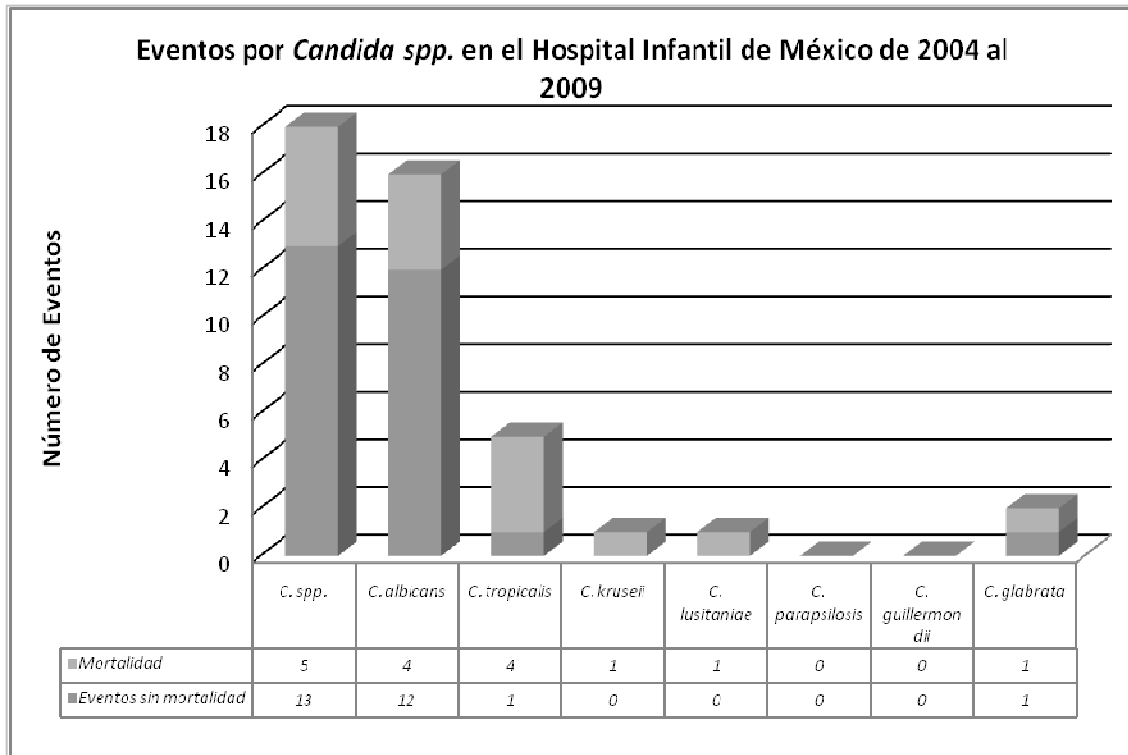
Se estudió en un periodo de junio de 2005 a mayo de 2007 la prevalencia de 4.381 hemocultivos positivos para *Candida spp.* de pacientes internados en un hospital de segundo nivel de la ciudad de México, el Hospital General Dr. Manuel Gea González, como muestra el Gráfico 1, *Candida spp.* se aisló con una frecuencia del 67.7%, *C. parapsilosis* con el 22.6% mientras que *C. albicans* con el 6.5% (Esteves, 2009).



**Gráfico 1. Gráfico de la distribución de *Candida* en el Hospital General Dr. Manuel Gea González. (Esteves, 2009).**

Un trabajo de investigación retrospectivo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, obtuvo de un periodo de mayo de 1999 a diciembre de 2004, 134 cultivos positivos para hongos, de los cuales se analizaron 45 eventos infecciosos causados por *Candida spp.* de estos se observaron 16 defunciones, que representa una mortalidad del 35.5%. No se identificó la especie en 18 pacientes, de estos fallecieron cinco; *C. albicans* se observó en 16 pacientes con cuatro defunciones; *C. glabrata* se observó en dos pacientes con una defunción; *C. tropicalis* se presentó en cinco pacientes con cuatro defunciones; *C. krusei* y *C. lusitaniae* en un paciente cada una, ambos fallecieron; *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii* se presentaron con un paciente cada una sin presentar defunciones, esto se muestra el Gráfico 2. (Reséndiz, 2007)

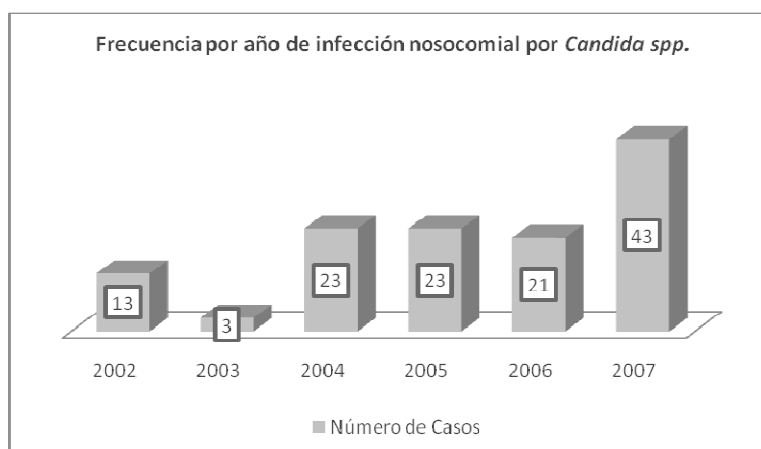
Las infecciones por *Candida* continúan siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad, varios factores influyen en la mortalidad, destacando la presencia de uso de antibióticos, intubación endotraqueal, la edad, siendo especialmente alta la mortalidad en el grupo de neonatos, además de que existe un incremento en especies de *Candida no albicans*. (Reséndiz, 2007).



**Gráfico 2. Gráfico de Incidencias por *Candida spp.* en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (Reséndiz, 2007)**

Un estudio con una serie de 126 casos de infecciones nosocomiales por *Candida spp.* en el Hospital Dr. Rigoberto Águila Pico, ubicado en Sinaloa de enero de 2002 a noviembre de 2007, obtuvo resultados muy similares a los anteriores trabajos de investigación. Las especies *no albicans* predominaron, *Candida tropicalis* reportó el 34% del total de los casos, seguida por *Candida parapsilosis* con un 28.8%, *Candida albicans* reportó un 14.4%, además se encontró una mortalidad que se reportó en 34.15% ya que del total de los casos 43 pacientes fallecieron. (Martínez 2008).

Como muestra el gráfico 3, se puede observar un aumento de las infecciones nosocomiales por *Candida spp.*, en el 2002 se reportaron 14 casos; en el 2003 se aislaron 3 casos, entre el 2004 y 2006 prácticamente se mantuvo la frecuencia de casos, 23, 23 y 21 respectivamente y en el 2007 la frecuencia fue de 43 casos. (Martínez 2008).



**Gráfico 3. Gráfico de la frecuencia por año de la infección nosocomial por *Candida spp.* en el Hospital Dr. Rigoberto Aguilar Pico en un periodo de 2002 a 2007. (Martínez 2008).**

En 2008 se revisó la epidemiología hospitalaria de Candidiasis neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología, en el periodo de 2002 a 2006, encontrando 35 cultivos positivos a especies de *Candida*; *C. albicans* se aisló con una frecuencia del 40%; *C. parapsilosis* con el 22%, en la tabla 4 se describe la frecuencia de las especies no *albicans* que fueron reportadas. La mortalidad registrada en el instituto fue del 32.2% al fallecer 10 de los pacientes. (Reyna 2007)

**Tabla 2. Especies de *Candida spp.* aisladas en muestras clínicas de recién nacidos en el Instituto Nacional de Perinatología en un periodo de 2002 a 2006. (Reyna, 2007)**

Especie	Hemocultivo n= 13 (%)	Urocultivo n= 16 (%)	Líquido Cefalorraquídeo n= 6 (%)	TOTAL n= 35 (%)
<i>Candida albicans</i>	5 (38.4)	6 (37.5)	3 (50)	14 (40)
<i>Candida parapsilosis</i>	4 (30.7)	3 (18.7)	1 (16.5)	8 (22.8)
<i>Candida glabrata</i>	0	2 (12.5)	0	2 (5.7)
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0	1 (16.6)	1 (2.8)
<i>Candida spp.*</i>	4 (30.7)	5 (31.2)	1 (16.6)	10 (28.5)

\*Se diferenciaron de *Candida albicans* mediante tubo germinativo, pero no se investigó la especie.

**Tabla 3. Mecanismos de defensa ante una infección por *Candida spp.* (Cuenca, 2002).**

MECANISMOS DE DEFENSA QUE PARTICIPAN EN LA RESPUESTA INMUNE ANTE UNA INFECCIÓN POR <i>Candida spp.</i>		
<b>BARRERAS EXTERNAS</b>	Integridad de la piel y mucosas	
	Células de Langerghans	
	Queratinocitos	
	Lactoferrina, Transferrina	
<b>INMUNIDAD INNATA</b>	Fagocitosis por macrófagos y monocitos	
	Lecitinas unidas a Manosa (MBL)	
	Receptores parecidos a Toll (TLR)	
	Sustancias microbicidas	Mieloperoxidasa
		Aniones superóxidos
		Proteínas catiónicas,
		Lesiones ferrosas
<b>INMUNIDAD ADQUIRIDA O ADAPTATIVA</b>	Inmunidad celular	
	Linfocitos T	
	Citocinas	
	Inmunidad Humoral	
	Complemento	
	Opsonización	

### 2.1.3 Patología:

Una de las características que presentan las cepas patógenas de *Candida spp.* es la capacidad para invadir los tejidos del huésped. Varios estudios han demostrado que las cepas invasoras muestran una mayor capacidad de adherencia, tanto a las células animales como a plásticos y a otros compuestos poliméricos. Tras la adhesión, las cepas invasoras deben ser capaces de penetrar en los tejidos, para lo que cuentan con enzimas proteolíticas como las aspartil proteasas. Asimismo, la generación de hifas por parte de los organismos levaduriformes ayuda a penetrar en los tejidos. Antígenos situados en la pared fúngica como los mananos, las mananoproteínas y la quitina colaboran en esta función, además de ayudar a que el hongo sea más resistente al ataque del sistema inmunitario del huésped. (Cuenca, 2002)

Algunos estudios publicados en los últimos años destacan que las cepas invasivas pueden secretar sustancias con efectos inmunomoduladores, que disminuyen la actividad del sistema inmunológico, lo que facilitaría el desarrollo de la infección. Además, algunas cepas de *Candida spp.* muestran la capacidad de cambiar los determinantes antigénicos de su superficie, lo que le permite escapar de la respuesta inmunitaria específica (Cuenca 2002).

Ante una Candidosis se activan varios mecanismos de defensa (tabla 5). En la actualidad se está estudiando cómo se relacionan y cuáles son más importantes. No obstante, la mayoría de los expertos coinciden en señalar que la integridad mucocutánea y los neutrófilos son los dos factores que desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmunológica del ser humano en las infecciones por levaduras (Cuenca 2002).

#### 2.1.4 Manifestaciones Clínicas

Las infecciones superficiales por *Candida spp.* son aquellas que afectan la piel, las uñas o las mucosas superficiales; pueden aparecer en personas con o sin factores predisponentes, aunque son más frecuentes en estas últimas. Según la clasificación de Segal y Elad de 1998, las Candidiasis superficiales se dividen en: infecciones cutáneas, infecciones de las uñas e infecciones de las mucosas. Las infecciones profundas son aquellos cuadros que tienen una localización no superficial y que afectan órganos, la mucosa gastrointestinal o la sangre en pacientes con un alto grado de inmunodepresión o con otros factores desencadenantes.(Cuenca 2002).

**Tabla 4. Candidiasis superficiales. (Cuenca, 2002)**

CANDIDIASIS SUPERFICIALES		
INFECCIONES CUTÁNEAS	Intertigio candidiásico.	
	Erosio interdigital	
	Otitis externa	
	Candidid o candiditis	
	Candidiasis mucocutánea crónica	
INFECCIONES DE UÑAS	Paroniquia	
	Oniquia	
INFECCIONES DE MUCOSAS SUPERFICIALES	Candidiasis orofaríngea	Candidiasis pseudomembranosa (muguet)
		Candidiasis eritematosa aguda
		Candidiasis eritematosa crónica
		Candidiasis atrófica crónica (estomatitis de la dentadura
		Candidiasis hiperplásica atrófica (leucoplaquia candidiásica)
		Quielitis angular
CANDIDIASIS VAGINAL	Vulvovaginitis	
	Balanitis	

**Tabla 5. Candidiasis profundas. (Cuenca, 2002)**

CANDIDIASIS PROFUNDAS			
CANDIDIASIS DEL APARATO DIGESTIVO	Esofagitis	CANDIDIASIS DEL APARATO LOCOMOTOR	Artritis
	Candidiasis gastrointestinal		Osteomielitis
PERITONITIS Y ABSCESO INTRAABDOMINAL	Peritonitis y absceso intraabdominal	CANDIDIASIS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	Costocondritis
			Miositis
CANDIDIASIS DEL TRACTO URINARIO	Candiduria	CANDIDIASIS OCULARES	Endoftalmitis
	Cistitis		
	Candidiasis renal		
CANDIDIASIS DISEMINADA Y CANDIDEMIA	Candidiasis diseminada		
	Candidemia		

### 2.1.5 Candidiasis mucocutánea neonatal.

Se refiere a la adquirida durante o después del parto (vertical), las lesiones se aprecian a partir de la primera semana de vida y se extienden a partir del área perianal pudiendo, incluso, limitarse el proceso, al área del pañal (Figura 3). La erupción presenta un aspecto muy eritematoso de un color rojo vivo, con mayor afectación de los pliegues, de bordes muy nítidos y en su periferia las características lesiones vésico-pustulosas, llamadas lesiones satélites. Este cuadro sugiere que son las *C. albicans* eliminadas por las heces el foco primario de infección. Ocasionalmente, se puede apreciar una dermatitis cutánea más extensa con vésico-pústulas dispersas que asientan sobre una base eritematosa con descamación posterior, siendo en estos casos la vagina materna infectada el foco de infección. Esta forma clínica, recuerda, en forma más atenuada, al cuadro clínico de la forma congénita. (Yon 2006)





**Figura 3. Candidiasis de pañal.(Casanova, 2002).**

### 2.1.6 Candidiasis congénita

La forma congénita es debida a una infección intrauterina. Las lesiones de la piel están presentes al nacimiento o, inmediatamente, después. Asientan en cabeza, cuello, tronco y extremidades, respetando el área del pañal y, ocasionalmente, se afectan palmas y plantas. El rash, en su inicio, presenta eritema intenso con pequeñas pápulas blancas, que gradualmente se van haciendo más numerosas y transformándose en pústulas. Tiene un curso clínico progresivo pero relativamente benigno y sin afectación del estado general. La curación sobreviene tras una etapa de descamación generalizada. El pronóstico, habitualmente, es bueno, sin embargo, en los recién nacidos inmunocomprometidos y en prematuros de peso inferior a 1500 g. existe el riesgo de que la candidiasis cutánea progrese a un cuadro sistémico diseminado de alta mortalidad. (Yon 2006)

### 2.1.7 Factores del riesgo para la adquisición de una Infección por *Candida spp.*

**Tabla 6. Factores de riesgo para adquirir Candidiasis. (Cuenca, 2002)**

a) El peso (<1,500 gramos al nacimiento)	d) Alimentación parenteral e intravenosa
b) El uso del espectro amplio y/o múltiples antibióticos	e) La colonización con <i>Candida spp.</i> y/o episodios previos.
c) Catéteres venosos	f) Colonización prolongada en vías urinarias
g) Presencia de un dispositivo intrauterino	h) Presencia de un cerclaje cervical

### 2.1.8 Diagnóstico en el Laboratorio

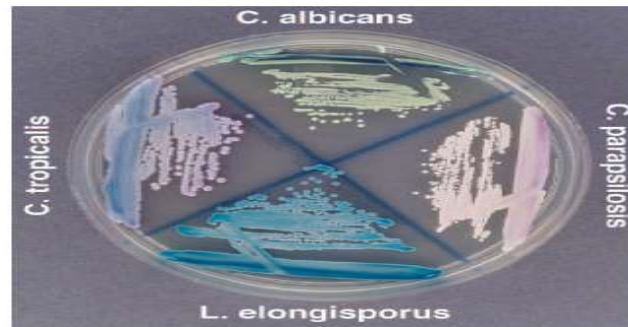
Las muestras procedentes de piel, uña o mucosas deben ser examinadas microscópicamente en busca de estructuras fúngicas (levadura y filamentos). Las muestras cutáneas pueden tratarse con sustancias queratolíticas, como KOH a una concentración del 10%-30%, ya que facilita el examen microscópico. En los exámenes en fresco se utilizan contrastes que ayudan a identificar los hongos, como la tinta Parker o el azul de lactofenol. También puede emplearse el microscopio de fluorescencia aplicando como contraste fluorescente el calcoflúor. Además existe la posibilidad de realizar tinciones como la de Gram, Giemsa o azul de metileno en preparaciones fijadas mediante calor o alcoholes. (Cuenca, 2002).

Tras el examen microscópico, las muestras se siembran en varios medios de cultivos. *Candida spp.* crecen en medios habituales. También deben utilizarse medios específicos para hongos como el agar Sabouraud. Asimismo deben emplearse medios selectivos que sirvan para inhibir la flora mucocutánea acompañante, como el agar Sabouraud con cloranfenicol que inhibe las bacterias cutáneas, y el agar Sabouraud con cicloheximida que inhibe la mayoría de los hongos contaminantes de laboratorio, aunque también otros hongos patógenos, por lo que no debe emplearse nunca como único medio de cultivo. Una vez que se ha producido el crecimiento de *Candida spp.* en los cultivos, la cepa debe identificarse. Una de las técnicas más conocidas y utilizadas es la incubación de las levaduras en suero durante 90 minutos a 37° C. Esta técnica se utiliza para detectar la producción de tubos germinativos por parte de los organismos levaduriformes, capacidad que sólo tiene *C. albicans* y *C. dubliniensis* que, por tanto, ha servido para identificar esta especie como se muestra en la figura 4. (Cuenca, 2002).



**Figura 4. Prueba de formación de tubos germinativos en suero Fetal Bovino. Fotografía tomada en el Laboratorio 6 de la UIM, F.E.S.C**

Otra posibilidad es la utilización de medios diferenciales, que ayudan a identificar algunas especies. Éste es el caso del CHROMagar *Candida*® (Figura 5), un medio en el que las colonias de varias especies de *Candida* crecen cada una de un color característico después de incubarse a 37°C con lectura final a las 48 horas, *C. albicans* (color verde), *C. tropicalis* (color azul), *C. parapsilosis* (color rosado-fucsia) y "otras especies" (color blanco amarillo). (Ballesté, 2005)



**Figura 5. Distintas especies de *Candida* en CHROMagar *Candida*®. (Ballesté, 2005)**

Para la identificación definitiva de *Candida* spp. se emplean métodos morfológicos y bioquímicos. Entre éstos destacan las pruebas bioquímicas, los ágaros morfológicos como el agar harina de maíz, que se emplea para producir la filamentación de las diferentes especies de levaduras; este agar se prepara a base de crema de arroz, agar y Tween 80. Existen varias galerías comerciales con pruebas bioquímicas (asimilación de carbohidratos) que identifican con fiabilidad las levaduras. (Cuenca 2002)

## 2.2 Tratamientos Antimicóticos

Los antimicóticos orales o sistémicos son sustancias químicas cuya acción se debe a la interacción sobre diversos componentes del desarrollo y metabolismo del hongo, provocando la inhibición de su crecimiento o su muerte. (Florez, 1997)

Entre los efectos adversos que provocan estos tratamientos podemos encontrar: **Hepatotoxicidad** en el uso de Ketoconazol y Flucitosina; **Céfales** en el uso de Itraconazol y Griseofulvina; **Náuseas** en el uso de Miconazol, Fluconazol, Itraconazol, Terbinafina y Flucitosina; **Fiebre** en el uso de Anfotericina B; **Transtornos hematológicos** con el uso de Miconazol; **Depresión Suprarrenal** usando Ketoconazol; **Diarreas** con el uso de Fluconazol, **Erupciones cutáneas** utilizando Fluconazol o Terbinafina; **Dolor abdominal** con el uso de Itraconazol o Terbinafina; **Vómito, Caída del Cabello y Depresión de la Médula Ósea** si se utiliza Flucitosina; además de **Hipersensibilidad y Fotosensibilidad** con el uso de Griseofulvina. (Dawson, 2003)

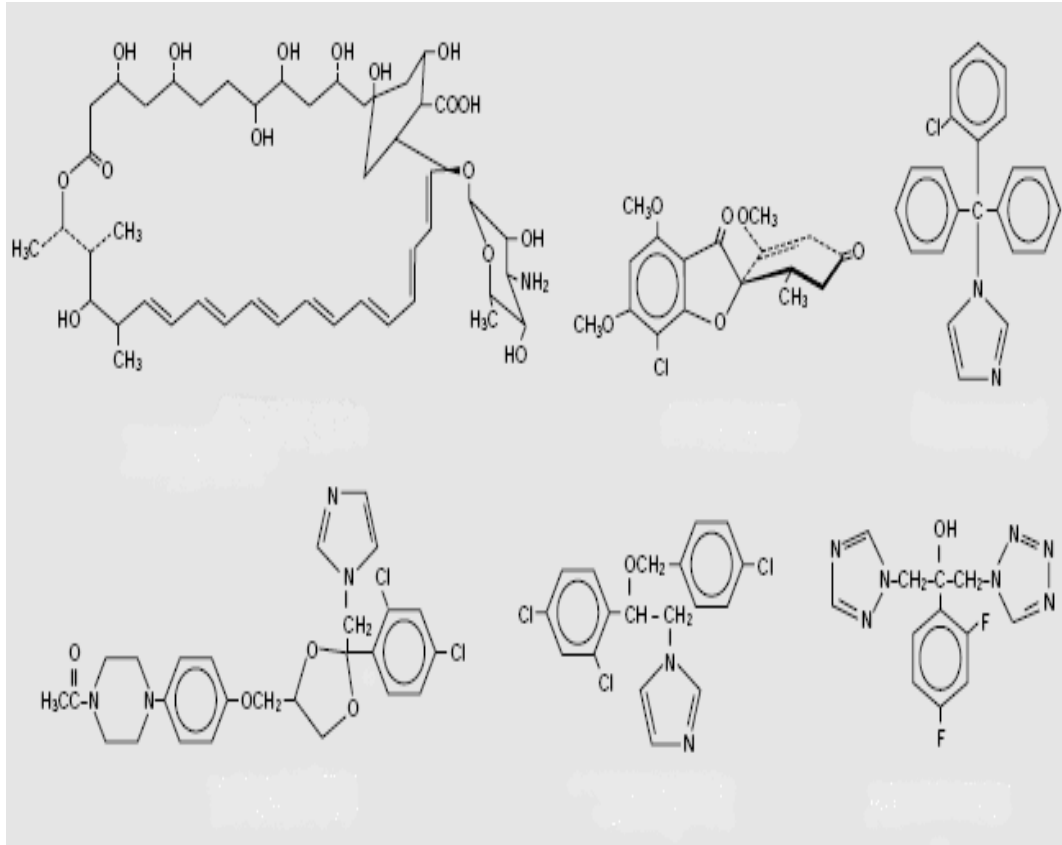


Figura 6. Estructura química de algunos antimicrobicos. (Florez, 1997)

Tabla 7. Clasificación de antimicrobicos. (Dawson, 2003)

AZOLES		POLIENOS			
ANTIFÚNGICOS IMIDAZOÓLICOS	ANTIFÚNGICOS TRIAZÓLICOS	MACRÓLIDOS POLIÉNICOS	ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS	ALILAMIMAS	OTROS
Miconazol					
Ketoconazol	Fluconazol				
Clotrimazol	Itraconazol	Anfotericina B	Fluorocortosina	Terbinafina	Ciclopiraxo
Bifonazol	Sertaconazol	Nistatina	Griseofulvina	Flucitosina	lamine
Econazol	Voriconazol				Yoduro
Tioconazol					Potásico

## 2.2.1. Tratamientos utilizados en lesiones mucocutáneas localizadas (Reyes Romero, 2006)

### Mucosa oral:

1. Nistatina 500.000 UI, 3-5 veces/día por 10-14 días.
2. Ketoconazol 200-400 mg/d vía oral
3. Fluconazol 50-200 mg/día vía oral
4. Itraconazol 200 mg/día vía oral

### Candidiasis vaginal:

1. Miconazol tópico: crema intravaginal al 2%; óvulos 100 mg/día por 7 días.
2. Clotrimazol: crema intravaginal al 1% o tabletas 100 mg/día por 7 días.
3. Ketoconazol: 200 mg 2 veces al día, de 5 a 10 días vía oral
4. Fluconazol: 150 mg/día vía oral 1 día.
5. Itraconazol: 400 mg/día por 2 días vía oral

### Intertrigo balanitis paroniquia

- Tratamiento tópico: nistatina, clotrimazol, miconazol.

Lesiones mucocutáneas crónicas

- Ketoconazol 200 mg 2 veces al día por 2 a 3 meses vía oral

### Septicemia:

- Anfotericina B; 0,5 -1 mg /kg/día. Dosis total 3-10 mg/kg.

- Fluconazol 400 mg/ día i. v. por 7 días, luego pasar a vía oral con igual dosis por 14 días.

## 2.2.2 Resistencia a Antimicóticos en México.

En México, aunque no se han cuantificado los casos de resistencia en hospitales de atención general y de especialidades, se ha observado un aumento importante en el número de pacientes con micosis que no responden a los tratamientos; en algunos casos ha sido posible demostrar deficiencias inmunológicas. En otros, el comportamiento clínico hace sospechar resistencia primaria o secundaria a los antifúngicos (Tabla8), principalmente en quienes reciben estos medicamentos como profilaxis (en casos de trasplantes, SIDA, enfermedades autoinmunes tratadas con corticosteroides) o tratamientos repetidos por micosis recidivantes (Manzano, 2008)

**Tabla 8. Respuesta de resistencia a especies de *Candida* con compuestos azólicos (Manzano, 2006)**

Especie y forma Clínica	Sensibilidad Dosis dependiente	Resistente
<i>C. glabrata</i> (intertigio)	V, F	K, I
<i>C. glabrata</i> (bucal)	V, F	K, I
<i>C. glabrata</i> (onicomicosis)	-	K, I, V, F
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	K, I
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	K, I
<i>C. albicans</i> (bucal)	-	I
<i>C. fumata</i> (bronquial)	F	K, I
<i>C. fumata</i> (onicomicosis)	-	I
<i>C. guilliermondii</i> (onicomicosis)	-	I
<i>C. dubliniensis</i> (bucal)	-	K, I, V, F
<i>C. parapsilosis</i> (onicomicosis)	-	I

Puntos de corte tomados del documento M27-A2 del CLSI.

Resistencia: Ketoconazol  $\geq 1\mu\text{g/mL}$ ; Itraconazol  $\geq 1\mu\text{g/mL}$ ; Fluconazol  $\geq 64\mu\text{g/mL}$ ;

Voriconazol :  $\geq 4\mu\text{g/mL}$ .

Sensibilidad dosis-dependiente: Ketoconazol 0.25 – 0.5  $\mu\text{g/mL}$ ; Fluconazol 16-32  $\mu\text{g/mL}$

Voriconazol 2  $\mu\text{g/mL}$ .

K= Ketoconazol

I= Itraconazol

F=Fluconazol

V=Voriconazol



Por otra parte, se analizó la distribución que presentaron 398 cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras de pacientes de 5 hospitales, 3 privados y 2 públicos de Monterrey en un periodo del 2004 al 2007; además de la susceptibilidad que presentaban a distintos antifúngicos: Fluconazol, Voriconazol, Itraconazol, Anfotericina B y Ravuconazol. (González, 2008).

En cuanto a la distribución, *C. parapsilosis* causó el mayor número de candidemias con 151 casos que equivale al 37.9%, seguida por *C. albicans* 127 casos que corresponde al 31.9%, *C. tropicalis* 59 casos representados por el 14.8% ;*C. glabrata* con 32 casos equivalentes al 8%, *C. krusei* se aisló en 11 casos, *C. guilliermondii* apareció en 5 casos, y 13 casos que representan el 3.3% correspondieron con tres casos cada uno para las especies menos frecuentes: *C. zeylanoides*, *C. utilis*, *C. famata*, *C. rugosa*, *C. lusitaniae*, y *C. boidinii*. De estas especies *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron sensibles a Fluconazol y Anfotericina B. En el caso de *C. parapsilosis* el 31.3% presentó resistencia frente a Fluconazol, el 43.4% fue resistente a Itraconazol y el 12.5% restante presentó resistencia frente a Anfotericina B. (González, 2008).

Teniendo en cuenta que la aparición de cepas resistentes es un factor que puede condicionar la terapéutica, la población ha recurrido debido a los altos costos y a los efectos adversos, a distintos tratamientos alternativos de origen natural.

## 2.3 Propóleo

### 2.3.1 Antecedentes

La riqueza florística de México, la abundancia y diversidad de su flora medicinal, fueron reconocidas desde la época precortesiana. Durante las jornadas mismas de la conquista, los españoles se percataron de la presencia y eficacia de la medicina nativa, y pronto se inició esa mirada sesgada que ha privilegiado la atención hacia el recurso, colocando en un segundo plano o de plano descalificando todo el aparato conceptual que articulaba el uso de los remedios, predominantemente vegetales en las culturas mesoamericanas. Ese sesgo desafortunado pero en cierto sentido ineludible, ha persistido hasta la actualidad. (Arias, 2001).

Desde épocas remotas este producto es conocido y empleado por sus propiedades terapéuticas. Algunos milenios antes de Cristo ya era utilizado por los sacerdotes responsables de la medicina, la química y la momificación. También los griegos lo conocían, pueblo de donde proviene su etimología pro: para o en defensa de y polis: ciudad (Castalado, 2002).



**Figura 7. Códice Tro-Cortesiano maya, que muestra un personaje divino encerrando a la abeja en la colmena. Museo Arqueológico de Madrid.**

### **2.3.2 Características físicas**

El propóleo es una resina de olor dulce que es colectada por abejas de diferentes plantas, con una variable apariencia física, puede ser ocre, rojo, pardo, marrón claro, verde, amarillo claro café oscuro, algunos son friables y firmes, mientras que otros son gomosos y elásticos, puede reparar la colmena y puede ser encontrada en extractos de miel. Por lo general posee un sabor acre aunque a veces es amargo y tiene aroma muy semejante al de la miel y ceras. (Burdock, 1998; Peña, 2008)

### **2.3.3 Características y Composición Química**

Es un material de carácter lipofílico, duro y quebradizo a bajas temperaturas, maleable y viscoso si es levemente calentado. Es difícil de remover de la piel humana debido a que parece interactuar fuertemente con aceites y proteínas de la piel. Su punto de fusión oscila entre los 60-70°C, aunque en algunos casos puede llegar hasta los 100°C. Algunos solventes como el éter etanol, acetona, tolueno y tricloroetileno permiten la disolución de muchos constituyentes del propóleo. (Marcucci, 1995).

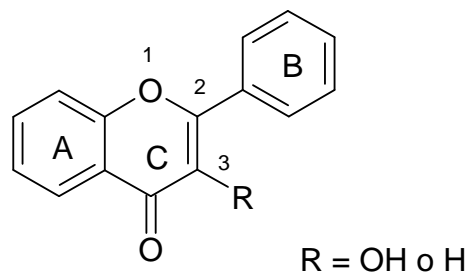
Al propóleo (número de registro CAS 9009-62-5), se le han descrito más de 300 compuestos químicos de diversos orígenes en forma similar se ha encontrado presencia de **terpenos** como limoneno, naftaleno, estireno, totarol, geraniol, pineno, cedrol, fucosterol; **alcoholes** entre los cuales destacan el glicerol e isobutenol; **Aldehídos** tales como vainillina, isovainillina, benzaldehído; **ácidos alifáticos y estéres alifáticos** como los son: el ácido acético, ácido butírico, ácido fumarico, acetato de isobutil; **aminoácidos**: alanina, arginina, cistina, leucina, isoleucina, serina; **compuestos fenólicos**: ácido



cafeíco, ácido cinámico, hidroquinona; **compuestos aromáticos**: metil benzoato, ácido benzoíco, ácido ferúlico, ácido galico; **esteres aromáticos** bencil acetato, bencil benzato, bencil cafeato, cinamil isoferulato, **ácidos grasos** como ácido linoleíco, ácido oleíco, ácido palmítico, ácido estéarico, ácido laurico; **cetonas** como la acetofenona; **liganos** entre ellos sesamina, yangambina y sesartenina; **azúcares** tal como la fructofuranosa; **chalconas entre ellas**: alpinetil chalcona, pinocembrin chalcona, naringenin chalcona; **flavononas** naringerina, pinocembina, **flavononas y flavonoles**: acacetina, galangina. quercetina, cumarina, crisina, apigenina; izalpina, prenilatina, viscidona. (Peña 2008, Marcucci 1995).

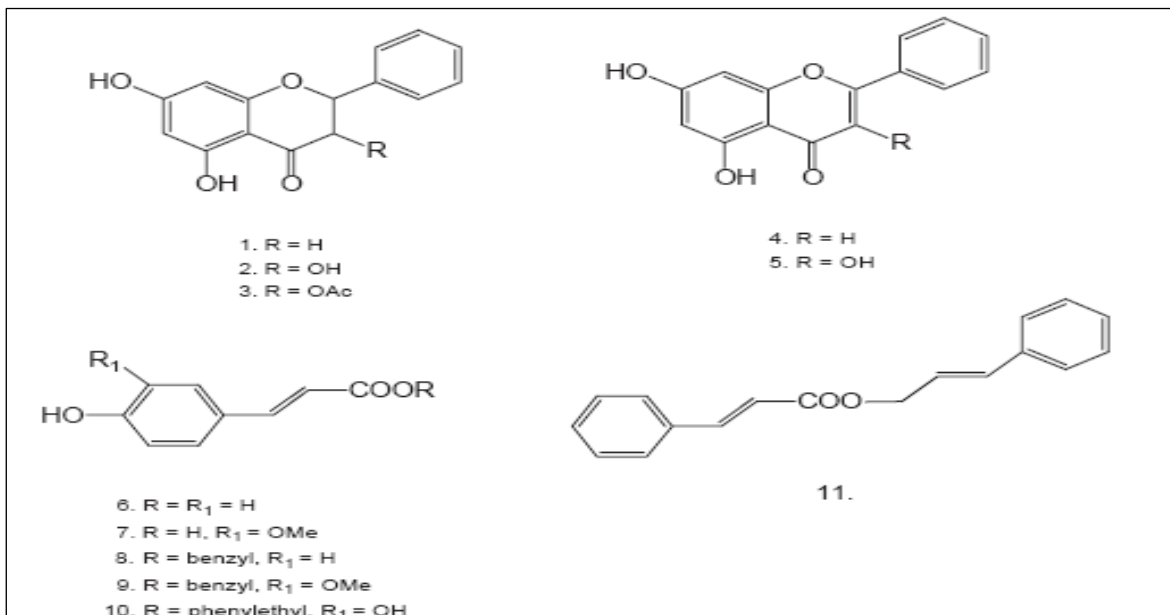
La composición del propóleo varía de acuerdo a la vegetación que pueda encontrarse en cada región específica. Sin embargo, muestras de propóleo de diferentes regiones con diferencias en su composición, han demostrado similares efectos antimicrobianos (Lozina, 2005). Algunas de las estructuras de estos constituyentes se muestran en la Figura 9.

Se creé que los flavonoides son responsables de la mayoría de las actividades biológicas. Las propiedades antimicrobianas de esta mezcla de sustancias naturales es principalmente atribuida a la flavonona pinocembrina, el flavonol galangina y el ácido cafeíco que es un compuesto fenólico (Uzel-Ataç, 2005).



**Figura 8. Estructura base de un flavonoide**

Además de los flavonoides, los compuestos fenólicos y aromáticos representan un grupo de productos activos farmacológicamente importantes presentes en el propóleo. Estudios realizados a propóleos europeos han demostrado que tanto los compuestos fenólicos como los aromáticos, compuestos ampliamente encontrados en las plantas de manera natural representan más de la mitad de los 160 compuestos identificados en esta resina. (Uzec-Atal, 2005)



**Figura 9.** Estructura química de constituyentes de propóleo de diferentes orígenes. 1. Pinocembrina, 2. Pinobancsina, 3. Pinobansin-3-O-acetato, 4. Crisina, 5. Galangina, 6. Ácido p-cumarínico, 7. Ácido ferulico, 8. p-cumarato de Bencilo, 9. Ferulato de Bencilo, 10. Cafeato de Feniletilo y 11. Cinamato de Cinamil. (Popova, 2002)

### 2.3.4 Propiedades Farmacológicas

Sus propiedades medicinales han mantenido su popularidad a través de los años debido a que posee actividad antifúngica, antibacteriana, antiviral, inmunomoduladora, antiinflamatoria, antioxidante, anticarcinogénica, anestésica local, citotóxica, antiparasitaria; mostrando variación en su actividad biológica dependiendo de su origen geográfico. En México, la información respecto a la actividad de este producto es muy limitada. (Kujumgiev, 1999; Sillici, 2005; Pozzi, 2006; Banskota, 2000; Freitas, 2006).

Investigaciones hechas sobre la acción antibacteriana de sustancias individuales aisladas del propóleo, muestran que un solo componente no tiene mayor actividad que el total del extracto, sugiriendo sinergismo entre los constituyentes. Las propiedades antimicóticas del propóleo han sido establecidas por numerosos autores, estudios *in vitro* de extractos de propóleo de diferentes orígenes muestran actividad antifúngica sobre especies de *Candida*. Esta actividad depende del origen del propóleos y del solvente usado para su extracción. (Lozina, 2005).

### 2.3.5 Obtención del Propóleo.

El propóleo es tomado por las abejas (*Apis mellifera*) de la corteza de diferentes árboles y arbustos, las abejas lo usan como sellador para cerrar sus colmenas y desinfectarlas. Se recolecta colocando en la parte superior de la colmena, por debajo de la tapa una malla de plástico con una luz de 3 mm. Como las abejas no pueden pasar, tienden a cerrar el hueco. Cuando la malla está propolizada se conserva a temperatura frigorífica durante un tiempo, se saca y se enrolla. (Jürgens, 2009).

### 2.3.6 Mercado del Propóleo

Internacionalmente, la primera patente se inscribió en Rumania (1965), totalizando 239 en el mundo para el período entre 1965 y 1999. En los años 80 predominaron en la ex URSS y los países satélites. En la actualidad, el 43% de las patentes son de origen japonés. El 6,2% de las patentes corresponden a productos para tratamientos odontológicos. Japón tuvo un crecimiento de 660% en la década de los años 80 a 90 en la productividad científica. De igual modo el precio ascendió de 5 a 200 dólares por kilogramo, para productos de Brasil, los que además de una mejor calidad tendrían menor contenido de metales pesados que el propóleo de otros proveedores. (Peña, 2008)

### 2.3.7. Investigación Apícola en México

Para el 2004 diversas Instituciones realizaron investigaciones en apicultura, 90% de las cuales provienen (según el número de trabajos presentados en congresos) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (Inifap), Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Colegio de la Frontera Sur (Ecosur), Colegio de Posgraduados, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (Cenascsa), Instituto Politécnico Nacional (IPN), Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) y Universidad de Guadalajara (U de G). Si bien es cierto que la productividad en relación con los trabajos presentados en congresos es aceptable (28.5 por año), el número de textos publicados en revistas científicas con arbitraje es bajo (16 por año) y, básicamente, son artículos generados por las primeras cinco instituciones mencionadas. El número promedio de artículos científicos arbitrados anualmente se estima en solo 0.35 por investigador. El cuadro muestra las líneas de investigación en las que se trabaja en las distintas instituciones mencionadas. (Guzmán, 2004).

En general, la investigación en México se enfoca en los problemas centrales que afectan nuestra apicultura: Acarología, genética y mejoramiento; abejas nativas, análisis de miel; tecnología, polinización y flora apícola (Tabla 9).

**Tabla 9. Investigaciones Apícolas en diversas Instituciones de México. (Guzmán 2004)**

Instituciones Involucradas en Investigaciones Apícolas		
Institución	Número de trabajos	Línea de Investigación
Inifap	66	Genética, Acarología y Tecnología
Uady	54	Genética, Acarología, Tecnología, Polinización y Abejas Nativas
UNAM	45	Genética, Acarología, Tecnología y Análisis de miel
Ecosur	37	Abejas nativas, Acarología y Flora Apícola
C. de Posgraduados	31	Acarología y Genética
UAAN	23	Polinización y Acarología
Cenascsa	18	Acarología y Patología
IPN	17	Análisis de miel, Acarología y Abejas nativas
UNL	7	Acarología y Ecología
U de G	7	Genética y Abejas nativas
Otras	37	Varias
<b>Total</b>	<b>342 (28.5 / año)</b>	

Existen escasas cifras para comparar la investigación de México con la de otros países. Sin embargo, se sabe que el desarrollo de la apicultura estadounidense es mayor que la de México, y que la de Brasil es similar a la de éste. En México existen alrededor de 2 millones de colmenas que producen más de 50 mil toneladas anuales de miel, mientras que en Estados Unidos y Brasil hay 3.1 y 2 millones de colmenas y producen 74 mil 700 y 38 mil toneladas de miel respectivamente. (Guzmán, 2004).

### 3.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimas décadas se ha observado un incremento considerable de infecciones nosocomiales (IN) por *Candida spp.* Aunque la *C. albicans* continúa siendo la especie más prevalente, las IN por la especie no *albicans* han aumentado. (Martínez, 2008; Reséndiz, 2004).

La infección neonatal por levaduras ha emergido en las últimas décadas como un problema de salud importante en las unidades de cuidados intensivos neonatales. El espectro de presentación ha dejado de corresponder exclusivamente a brotes epidémicos, para posicionarse dentro de los cinco primeros agentes causantes de infección neonatal. (Reyna, 2007)

Las infecciones por *Candida* afectan especialmente a niños hospitalizados en unidades de cuidados intensivos neonatales y pediátricos, con algún tipo de cirugía, tal es el caso del brote registrado en el INPerIER, donde las cepas pertenecían a *Candida parapsilosis* provenientes de recién nacidos atendidos en la UCIN, los casos ocurrieron del 22 de junio al 10 de agosto del 2004 (González, 2004)

Actualmente las candidemias representan uno de los factores más importantes en el aumento de infecciones intrahospitalarias, pueden causar graves problemas y ocasionar la muerte del paciente. Además de la septicemia provocada por *Candida albicans*, se encuentra la producida por especies no *albicans*. (Esteves, 2009)

No solo los recién nacidos suelen verse afectados con infecciones por *Candida spp.* personas con sistema inmune bajo (pacientes con SIDA que reciben quimioterapia), personas diabéticas, población en general. (Manzano-Hernández, 2008; Gutiérrez, 2007)

La aparición de cepas fúngicas resistentes a antimicóticos de primera elección, sugiere que se deben buscar tratamientos alternativos que faciliten el tratamiento para la cura a padecimientos y enfermedades micóticas. La resistencia bacteriana a los antibióticos es un hecho conocido desde hace más de 50 años. Respecto a los hongos, este fenómeno era poco frecuente en los años ochenta del siglo pasado. En los últimos años, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado en el mundo, lo cual es atribuible a una deficiencia en la función inmunológica, baja biodisponibilidad de los antimicóticos, alteraciones en el metabolismo de los antifúngicos, interacciones medicamentosas y resistencia antifúngica primaria o secundaria. (Manzano, 2008)



Debido a estos problemas la población busca recurrir a tratamientos que no sean tan costosos, que tengan un menor número de interacciones farmacológicas y en lo posible el menor caso de contraindicaciones.

México cuenta con una diversidad florística y herbolaria que ha sido transmitida desde épocas precolombinas por los antepasados, y en estos tiempos, con toda la tecnología y la investigación, es necesario crear protocolos que se encarguen de obtener principios activos que ayuden a contrarrestar padecimientos que siguen aquejando a la población y de esta manera poder contar con tratamientos seguros, económicos y sobre todo eficaces, tal es el caso del Propóleo.





## 9. OBJETIVOS

### 9.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antifúngica de el Extracto Etanólico de Propóleo obtenido del apiario de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, frente al crecimiento *in vitro* de cepas de *Candida spp.* provenientes de distintos tipos de muestras clínicas de pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER), para ofrecer resultados que servirán como antecedente en estudios posteriores que busquen proponer al extracto como un posible candidato para ser utilizado como tratamiento alternativo.

### 9.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

-  Evaluar la efectividad del E.E.P. de la F.E.S.C. mediante el método de dilución en agar para conocer el valor de la CMI que presentará el extracto frente a 31 cepas de *Candida* aisladas de muestras clínicas de pacientes atendidos en un hospital de tercer nivel como lo es el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER) y una cepa de referencia de *Candida albicans* ATCC 10231.
  
-  Evaluar la actividad antifúngica de 4 E.E.P. comerciales frente a las 32 cepas de *Candida* mediante la prueba de dilución en agar para comparar los resultados obtenidos con los del E.E.P. de la F.E.S.C.

## 10. HIPÓTESIS

### HIPÓTESIS ALTERNA

- Si se comprueba el efecto inhibitorio de el E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán respecto a 4 extractos etanólicos de propóleos comerciales al enfrentarlos con 32 cepas de distintas especies de *Candida* y los resultados muestran un mayor porcentaje de inhibición, entonces se tendrá el comparativo de la actividad entre el E.E.P. de la F.E.S.C. con respecto a la de los extractos comerciales.

### HIPÓTESIS NULA

- Si se comprueba el efecto inhibitorio de el E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán respecto a 4 extractos etanólicos de propóleos comerciales al enfrentarlos con 32 cepas de distintas especies de *Candida* y los resultados no muestran un mayor porcentaje de inhibición, entonces no se tendrá el comparativo de la actividad entre el E.E.P. de la F.E.S.C. con respecto a la de los extractos comerciales.



## 6.0 JUSTIFICACIÓN

Las candidiasis afectan a la población mexicana, a pesar de existir información sobre estas enfermedades aun se carece de datos acerca de nuevos tratamientos alternativos y su respuesta en población mexicana, debido a la aparición reciente de nuevas cepas que presentan resistencia a tratamientos utilizados, lo mismo ocurre con el Propóleo ya que hay trabajos reportados sobre sus efectos antibacteriales, antiparasitarios, antitumorales, antivirales y antimicóticos, pero no hay trabajos reportados donde se compare el efecto del E.E.P de la F.E.S.C. con respecto a tratamientos utilizados normalmente.

Es importante considerar que se trabajó con propóleo obtenido en el apiario de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4 de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicada en el Estado de México, cuya actividad antifúngica había sido determinada con anterioridad empleando cepas de referencia, pero que hasta el momento no había sido evaluada frente a cepas aisladas de muestras de pacientes tratados en un hospital de tercer nivel.

Este tipo de investigaciones son útiles para el uso de tratamientos alternativos, dando oportunidad de iniciar con la búsqueda de nuevos estudios de biodisponibilidad y nuevas presentaciones de formas farmacéuticas que podrán ser parte del tratamiento para enfermedades que siguen aquejando a nuestra población.

### **6.1 Alcance:**

En este trabajo las 31 cepas de distintas especies de *Candida* utilizadas, pertenecen a muestras de pacientes tratados en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, el cual ofrece alternativas de solución a la problemática perinatal del país, a través del desarrollo de acciones en esta área de la medicina.

### **6.2 Criterios de inclusión:**

Se consideraron cepas de distintas especies de *Candida* provenientes de distintas muestras de pacientes tratados en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, las cuales pertenecen tanto a mujeres en edad reproductiva como a recién nacidos, el origen de las muestras que se trabajaron corresponden a orina, toma cérvico-vaginal, puntas de catéter, exudado faríngeo, coprocultivo, rectal y una cepa de referencia de *Candida albicans* ATCC 10231.

### **6.3 Criterios de no inclusión:**

No se consideraron muestras de pacientes que no fueron tratados en el INPerIER, por lo cual no hay cepas provenientes de muestras de pacientes del sexo masculino en edad reproductiva, en cuanto al tipo de muestras no se trabajó con muestras distintas a las descritas en los criterios de inclusión debido a que no se contaba con las mismas.

### **6.4 Criterios de exclusión.**

No se trabajaron muestras de levaduras pertenecientes a géneros diferentes de *Candida*.

## 7.0 MATERIALES

- Placas Petri (60 X 15 mm)
- Placas Petri (90 X 15 mm)
- Tubos de ensaye (13 x 100 mm)
- Tubos de ensaye (16 x 150 mm)
- Tubos de ensaye (20 x 145 mm)
- Embudo de separación
- Espátula
- Matraz Kitazato
- Filtro
- Pipetas de 1 mL estériles desechables
- Tubos Eppendorf
- Micropipeta manual de volumen variable (10-100 $\mu$ L, 5- 50 $\mu$ L y 100- 1000 $\mu$ L)
- Puntas para micropipeta manual de volumen variable (azules 100-1000 $\mu$ L y amarillas 2-200 $\mu$ L)
- Mechero de Bunsen
- Papel Filtro

### ➤ Sustancias de referencia

- Propóleo obtenido del apiario de la F.E.S.C. (recolectado entre los meses de octubre y noviembre del 2008).
- Extractos Etanólicos de Propóleos comerciales

➤ Medios de cultivo

- Agar Papa Dextrosa (PDA)
- Agar Dextrosa Sabouraud (SDA)

➤ Reactivos Analíticos

- Etanol
- Hexano
- Cloruro de Sodio

➤ Cepas

- *Candida albicans* ATCC 10231
- 31 Cepas de *Candida spp* provenientes de distintas muestras de pacientes atendidos en el INPerIER. Fueron conservadas en el cepario del Departamento de Infectología en la Torre de Investigación del mismo instituto.

Las cepas provenían de distintas muestras tales como orina, puntas de catéter, muestras de exudado cérvico vaginal, de coprocultivo, rectal y cutánea. Se diferenció la especie de *Candida albicans* para el caso de las muestras provenientes de cérvico-vaginal por medio de la prueba de tubo germinativo.

Las cepas de *Candida parapsilosis* provenían de muestras de 5 casos de un brote que se presentó en la UCIN del mismo Instituto en el 2004, que incluyó 4 Urocultivos y un Hemocultivo. La especie se identificó por el Sistema Microscan YEAST RAPID® para la identificación rápida de levaduras.

## ➤ Instrumentación

- Replicador Steers
- Baño María
- Campana de Flujo Laminar
- Autoclave
- Agitador Vórtex
- Incubadora
- Cuenta colonias
- Balanza Analítica
- Rotavapor
- Manguera Látex

## 7.1 Replicador Steers

Con el objeto de facilitar el estudio de un gran volumen de cultivos, se utiliza un dispositivo conocido como replicador de Steers (Figura 10). La principal característica de este instrumento es una cabeza de resorte provista de 32 a 36 púas de inoculación con superficie plana, cada una de aproximadamente 3 mm de diámetro. La cabeza esta adosada a un mecanismo de pistón y cilindro mediante el cual se puede desplazar hacia arriba y abajo en un plano vertical. La contraparte es una placa de siembra de aluminio que contiene 32 a 36 concavidades. Estas concavidades están dispuestas de tal modo que, cuando la placa de siembra está ubicada convenientemente dentro de la guía, en la base del replicador las púas de inoculación de la cabeza móvil que encajan exactamente dentro de las concavidades. Cada concavidad de la placa constituye un receptáculo dentro del cual se pueden colocar diferentes suspensiones bacterianas. (Koneman, 1985)

La prueba por dilución en agar se lleva a cabo colocando la placa de siembra con sus 32 a 36 suspensiones bacterianas (esto depende del tipo de placa a utilizar 90 X 15 mm o cuadrada) directamente debajo de la cabeza de inoculación. Esta se hace descender de modo que las púas se introduzcan en cada una de las concavidades, tirando muestras de aproximadamente 0.001 mL. (Koneman, 1985)

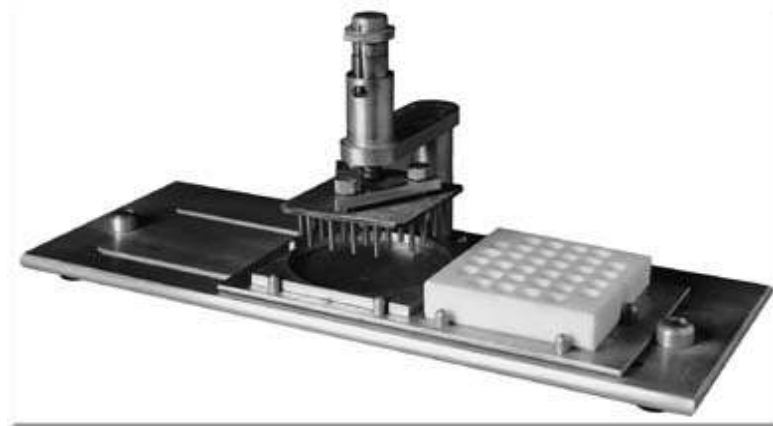


Figura 10. Replicador Steers

## 8.0 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

### 8.1 Procedimiento experimental para la obtención del E.E.P. de la F.E.S.C.

1. Se Limpió la resina eliminando ceras, basura, restos de flores, restos de la colmena fragmentando en pequeños trozos.
2. Se realizó la inmersión de los trozos de resina en etanol 70% en frasco ámbar por 7 días procurando mezclar una vez al día.
3. Una vez transcurrido el tiempo se realizó la maceración en el mismo frasco donde se contenía la inmersión.
4. Se filtró en un matraz Kitazato con un papel filtro.
5. Se colocó la mezcla (Concentrado de la resina) en el rotavapor para eliminar el etanol.
6. Se resuspendió en etanol.
7. Se fraccionó con hexano en un embudo de separación, para obtener por separado el extracto hexanólico, la grasa y por último el extracto etanólico de propóleo.
8. Se colocó el extracto etanólico nuevamente en el rotavapor, esta vez para eliminar el hexano.
9. Se secó al vacío hasta obtener una consistencia resinosa.
10. Se conservó en un frasco ámbar. (Figura 12)

### 8.2 Procedimiento experimental para la prueba piloto para determinar la CMI de trabajo con el E.E.P. de la F.E.S.C.

1. Se preparó la Solución Stock del E.E.P. de la F.E.S.C. Pesando 50 mg del extracto y disolver en 250 $\mu$ l de etanol al 70%
2. Se preparó agar PDA y alicuotar 6 mL de medio en tubos con rosca de 13 X 100 mm
3. Se esterilizó el medio contenido en los tubos con rosca en autoclave por 15 minutos a 121 $^{\circ}$ C.
4. Se agregaron los volúmenes del E.E.P. de la F.E.S.C. a los tubos con el medio tibio según la tabla, agitando en el vórtex.
5. Se vertió el contenido de los tubos en las placas de Petri pequeñas de 60 X 15 mm debidamente identificadas con la concentración correspondiente.
6. Se dejó enfriar e incubar para prueba de esterilidad (verificando que no exista ningún tipo de desarrollo bacteriano al momento de utilizar las placas con el medio).
7. Se ajustó la cepa de *Candida spp.* al nefelómetro. El inóculo debió contener aproximadamente 1-5 X 10 $^6$  UFC/mL (estándar de 0.5 de McFarland).
8. Se inoculó con un hisopo la cepa de *Candida spp.* en las distintas placas con el mismo orden de inoculación.
9. Se incubó y se realizó la lectura a las 48 horas.

**Tabla 10. Volúmenes necesarios para la preparación de placas con diluciones del E.E.P. de la F.E.S.Cuautitlan en el medio.**

TUBO	1	2	3	4	5	6	7	CONTROL
Concentración del E.E.P. de la F.E.S.C. en mg/mL	2.0	1.5	1.0	0.75	0.5	0.25	0.125	-
$\mu$ L necesarios del E.E.P.	60	45	30	22.5	15	7.5	3.75	-

**Cálculos:**

Solución Stock del E.E.P. de la F.E.S.C.:

50mg están contenidos en --- 250  $\mu$ L EtOH

Concentración deseada, multiplicar por el

Volumen final del medio en las placas ---  $X_1 =$  Vol. en  $\mu$ L necesarios

Ejemplo:

50mg-----250  $\mu$ L EtOH

2.0 mg/mL x 6 mL

$X_1 =$  60  $\mu$ L del E.E.P. para obtener una concentración de 2.0 mg/mL

**8.3 Procedimiento experimental para la Inoculación con el replicador Steers.**

1. Se sembraron las cepas a probar en tubos con medio PDA para utilizarlas con crecimiento de 24 horas (Cultivo joven).
2. Se tomó una asada de cada una de las cepas por separado en tubos que contengan 4 mL de S.S.F. Tomar 1 mL y ajustar cada cepa en un tubo con 9 mL de S.S.F. al nefelómetro. El inoculo debe contener aproximadamente 1 a 5 X 10<sup>5</sup> UFC/mL (estándar de 0.5 de McFarland diluido al 1:1 con S.S.F.).
3. Se colocó en cada policubeta del replicador 400  $\mu$ L de cada una de las diluciones preparadas por cada cepa. (Figura 11).



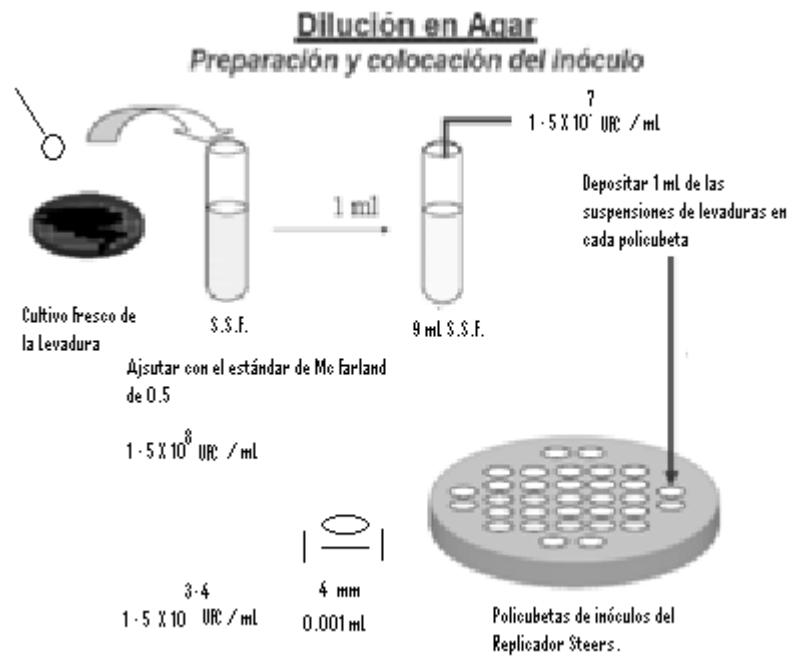


Figura 11. Montaje de las Policubetas de inóculos del replicador Steers.

#### 8.4 Procedimiento experimental para la obtención de la C.M.I. del E.E.P. de la F.E.S.C.

1. Se preparó la Solución Stock del E.E.P. de la F.E.S.C. Pesar 50 mg del extracto y disolver en 250µl de etanol al 70%
2. Se preparó agar PDA y se tomó una alícuota con 20 mL de medio en tubos con rosca de 20 X 145 mm
3. Se esterilizó el medio contenido en los tubos con rosca en autoclave por 15 minutos a 121°C.
4. Se agregaron los volúmenes del E.E.P. de la F.E.S.C. a los tubos con el medio tibio según la tabla, agitando en el vórtex desechando antes el mismo volumen de agar.
5. Se vertió el contenido de los tubos en las placas de Petri de 90 X 15 mm debidamente identificadas con la concentración correspondiente.
6. Se Dejó enfriar e incubar para prueba de esterilidad (verificando que no exista ningún tipo de desarrollo bacteriano al momento de utilizar las placas con el medio).
7. Se ajustó la cepa de *Candida spp.* al nefelómetro. El inóculo debe contener aproximadamente  $5 \times 10^5$  UFC/mL (estándar de 0.5 de McFarland diluido al 1:1 con S.S.F.).
8. Se inocularon las cepas con el replicador Steers.
9. Se montaron controles que contengan solo agar, y etanol.
10. Se incubaron a 37°C y se realizó la lectura a las 48 horas.
11. Se realizó por duplicado (Figura 13)

**Tabla 11. Preparación de placas con diluciones del E.E.P. de la F.E.S.Cuautitlan en el medio**

TUBO	1	2	3	4	5	6	7	8	CONTROL
<b>Concentración del E.E.P. de la F.E.S.C. en mg/mL</b>	2.0	1.5	1.0	0.75	0.5	0.25	0.125	0.0626	-
<b>µL necesarios del E.E.P.</b>	200	150	100	75	50	25	12.5	6.25	-

### 8.5 Procedimiento experimental para la obtención de los porcentajes de inhibición de los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales

1. Se preparó agar PDA en tubos que contengan 20 mL de agar
2. Se esterilizó el medio en los tubos con rosca en autoclave por 15 minutos a 121°C
3. Se agregaron los volúmenes de los E.E.P. Comerciales a los tubos con el medio según la tabla, agitando en el vórtex desechando antes el mismo volumen de agar.
4. Se vertió el contenido de los tubos en las placas de Petri debidamente identificadas con la concentración correspondiente (2.0 y 4.0 mg/mL).
5. Se Dejó enfriar e incubar para prueba de esterilidad (verificando que no exista ningún tipo de desarrollo bacteriano al momento de utilizar las placas con el medio).
6. Se Inocularon las cepas con el replicador Steers.
7. Se montaron controles que contengan solo agar, y agar con etanol.
8. Se incubaron a 37°C y realizar lectura a las 48 horas.
9. Se realizó por duplicado.(Figura 14)

**Tabla 12. Preparación de placas con diluciones del E.E.P. Comerciales**

TUBO	E.E.P.C1	E.E.P.C2	E.E.P.C3	E.E.P.C4	CONCENTRACIÓN FINAL	CONTROL
<b>µL del E.E.P. COMERCIAL</b>	256	256	256	256	2.0 mg/mL	-
<b>µL del E.E.P. COMERCIAL</b>	512	512	512	512	4.0 mg/mL	-
<b>Volumen final con Agar en la placa</b>	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL	-	20 mL



### Cálculos:

Datos del marbete de los E.E.P. Comerciales:

E.E.P. al 20%

20 g están contenidos en --- 100 mL EtOH

200 mg --- 1 mL

200  $\mu$ g --- 1  $\mu$ L

Para alcanzar la concentración de 2.0 mg/mL en las placas con agar, se requirió 200  $\mu$ L de la solución stock del E.E.P. de la F.E.S.C. (50 mg del extracto etanólico en 250  $\mu$ L de etanol al 70%).

Para obtener una concentración de 2.0 y 4.0 mg/mL con los E.E.P. Comerciales se necesitan:

2.0 mg/mL -----200  $\mu$ L del E.E.P. de la F.E.S.C.

$X_1 = 2.04$  mg/mL -----256  $\mu$ L de los E.E.P. Comerciales

$X_2 = 4.04$  mg/mL -----512  $\mu$ L de los E.E.P. Comerciales



### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DEL E.E.P. de la F.E.S.C.

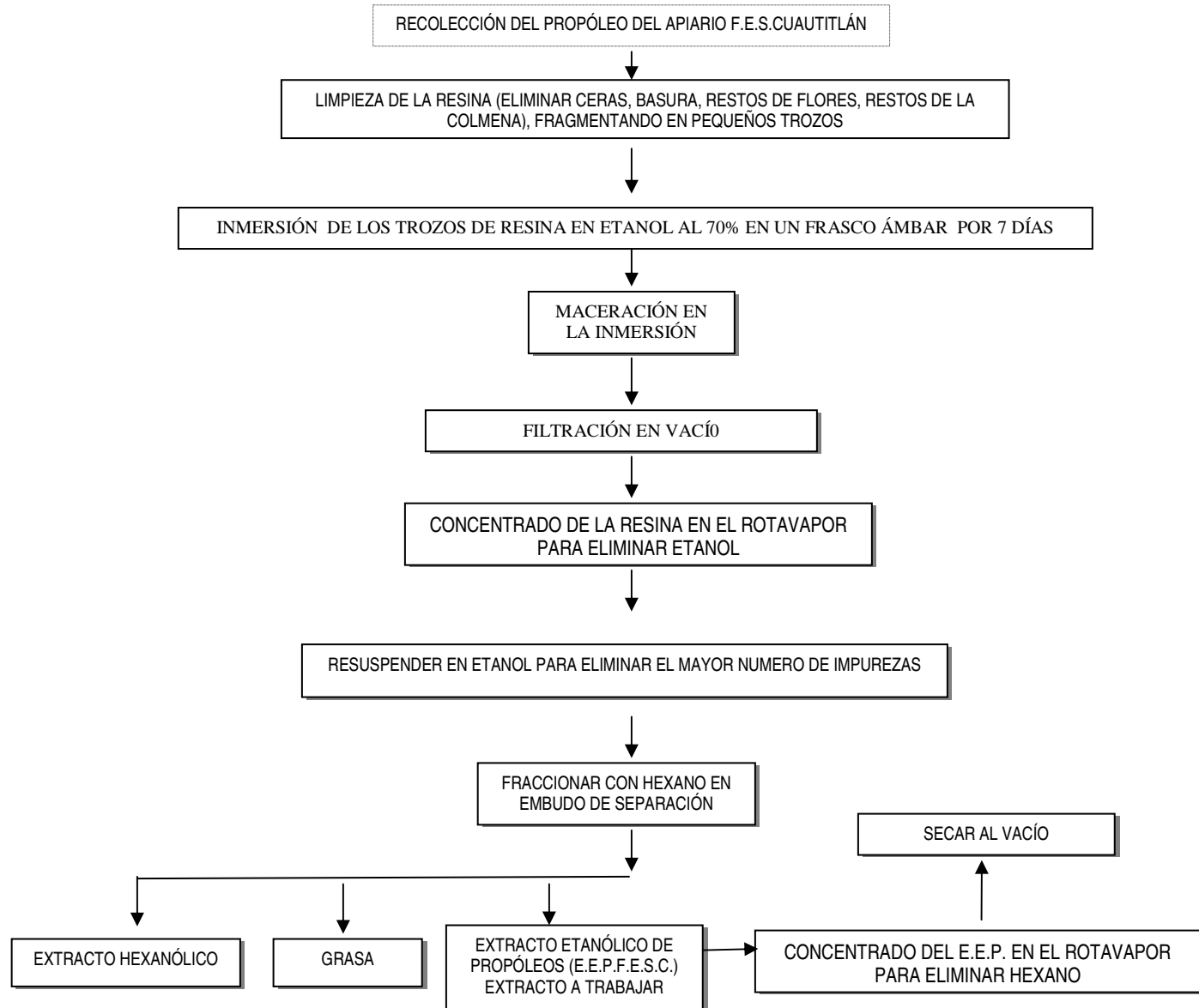


Figura 12. Diagrama Experimental del procedimiento experimental para la obtención del E.E.P. de la F.E.S.C.

### PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DE LA CMI DEL E.E.P. DE LA F.E.S. CUAUTITLÁN

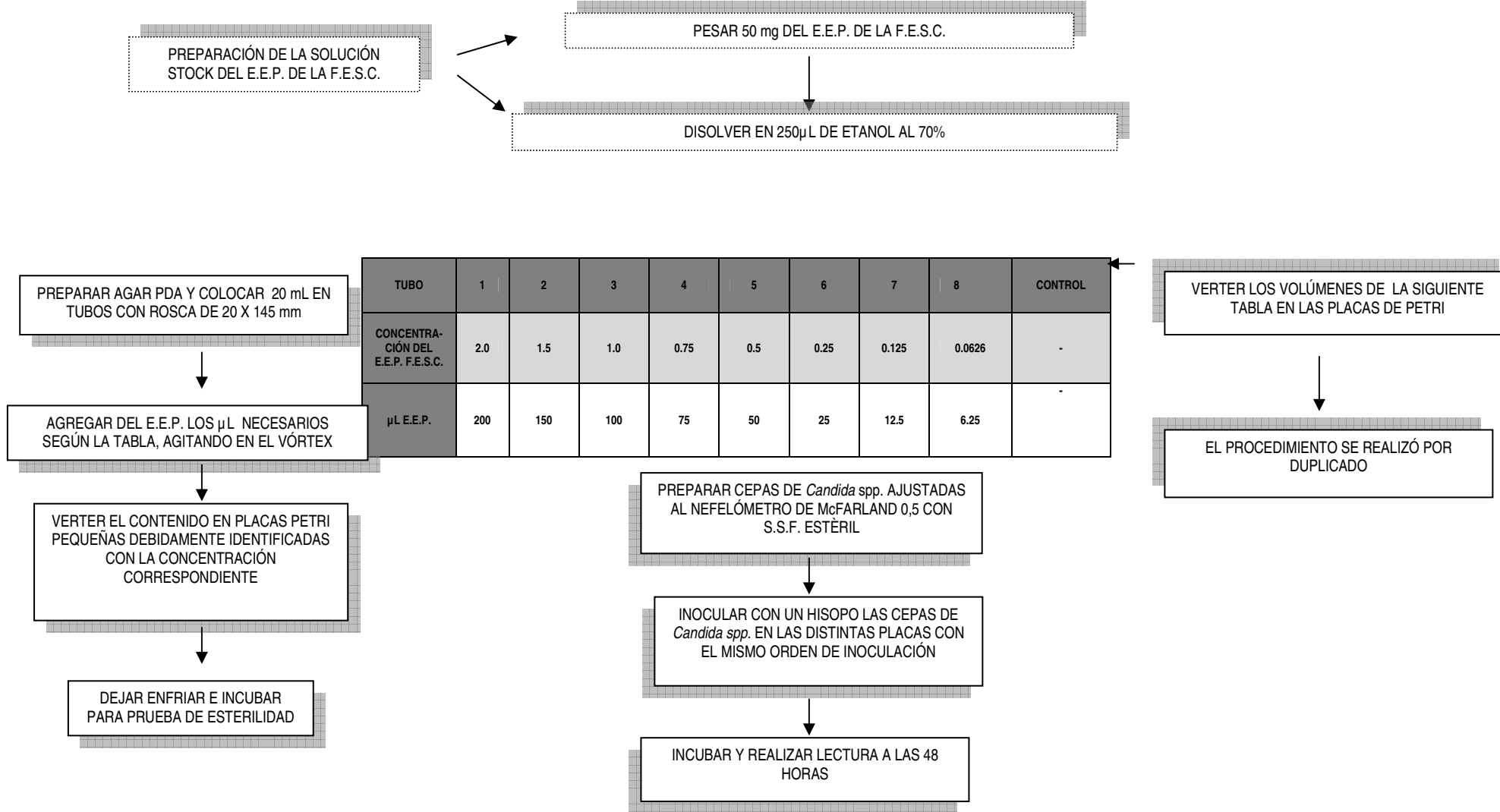


Figura 13. Procedimiento experimental para la determinación de la CMI del E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA CONOCER EL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE CEPAS DE *Candida spp.* CON LOS E.E.P. COMERCIALES

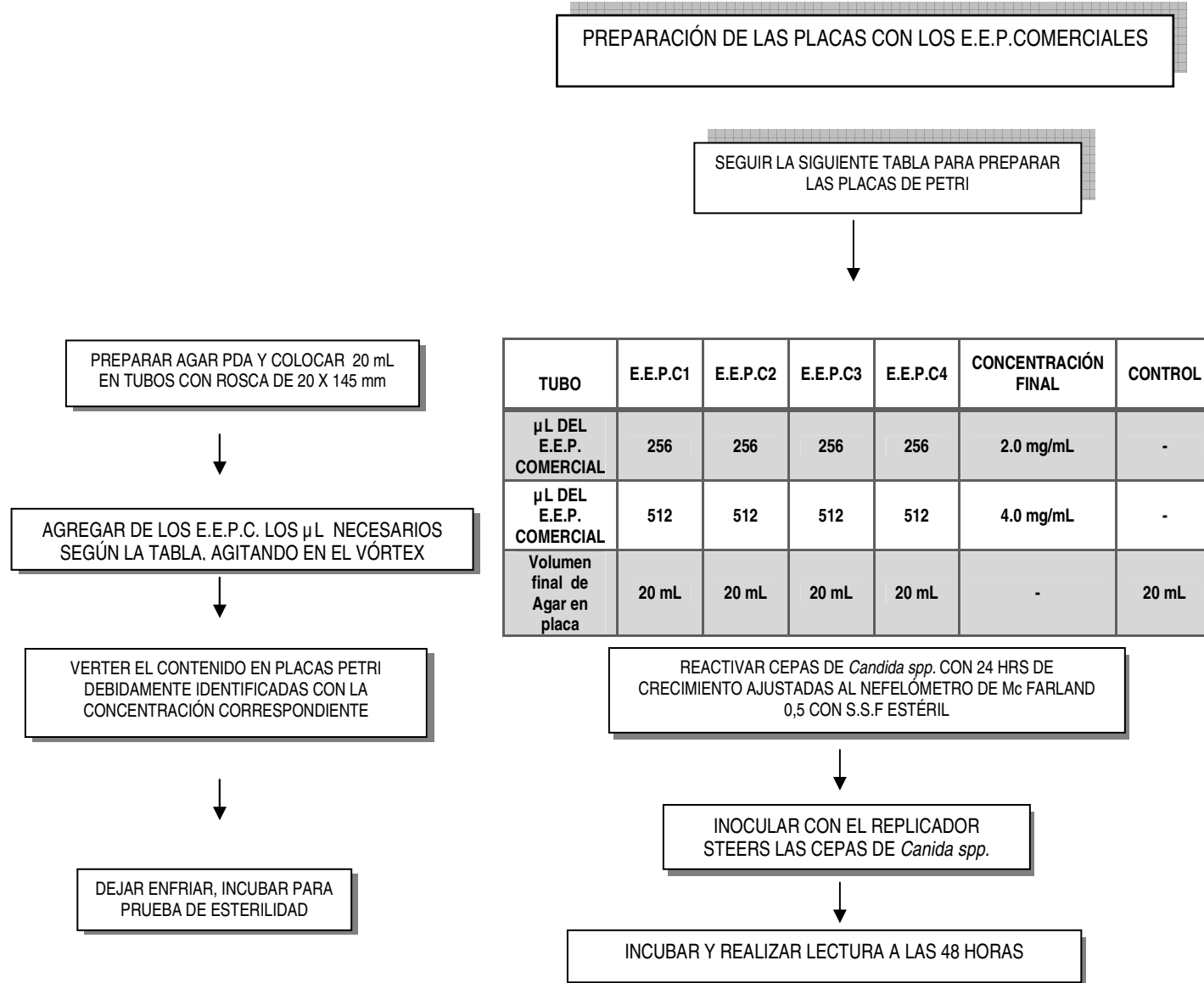


Figura 14. Diagrama experimental para conocer el porcentaje de inhibición de cepas de *Candida spp.* con los E.E.P. Comerciales.

## 9.0 RESULTADOS

19	<i>C. albicans</i>	Coprocultivo	Adulta	0.125	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+
20	<i>Candida spp.</i>	Orina	Adulta	0,125	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+
21	<i>C. albicans</i>	Orina	Adulta	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
22	<i>Candida spp.</i>	vaginal	Adulta	0.25	S/D	S/D	+	+	S/D	S/D	+	+
23	<i>C. parapsilosis</i>	Orina	Recién Nacido	0.75	+	+	+	+	+	S/D	+	+
24	<i>Candida spp.</i>	Orina	Adulta	0.25	+	S/D	+	+	+	S/D	+	+
25	<i>C. glabrata</i>	Orina	Adulta	0.25	+	+	+	+	+	S/D	+	+
26	<i>C. parapsilosis</i>	Hemocultivo	Recién Nacido	0.5	+	+	+	+	+	S/D	+	+
27	<i>C. parapsilosis</i>	Orina	Recién Nacido	0.75	+	+	+	+	+	S/D	+	+
28	<i>C. albicans</i>	Faríngeo	Adulta	0.125	S/D	S/D	+	+	S/D	S/D	+	+
29	<i>Candida spp.</i>	Orina	Adulta	0.125	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+
30	<i>C. parapsilosis</i>	Rectal	Recién Nacido	1.5	+	+	+	+	+	+	+	+
31	<i>C. parapsilosis</i>	Orina	Recién Nacido	0.75	+	+	+	+	+	+	+	+
32	<i>C. albicans</i>	CEPA ATCC	-	0.125	S/D	S/D	+	+	S/D	S/D	+	+
13	<i>C. parapsilosis</i>	Orina	Recién Nacido	1.5	+	+	+	+	+	+	+	+
14	<i>Candida spp.</i>	Punta de catéter	Adulta	0.25	+	S/D	+	+	+	S/D	+	+
15	<i>C. albicans</i>	Orina	Adulta	0.125	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+
16	<i>C. albicans</i>	Orina	Adulta	0.25	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+
17	<i>Candida spp.</i>	Orina	Adulta	1.5	+	+	+	+	+	+	+	+
18	<i>C. albicans</i>	Orina	Adulta	0.125	S/D	S/D	+	+	+	S/D	+	+



**S/D: Sin Desarrollo**

**+ : Con Desarrollo**

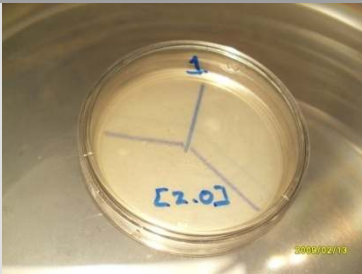

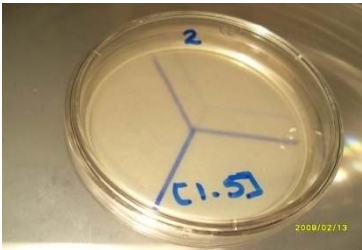





**Tabla 13. Resultados obtenidos de las cepas desarrolladas con los Extractos Etanólicos de Propóleo**





## 9.2 Resultados para la determinación del primer valor de la CMI del E.E.P. de la F.E.S.C.

Tabla 14. Determinación de la CMI para la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 por medio de la Técnica de Dilución en agar. La CMI se determinó como la concentración más baja del E.E.P. de la F.E.S.C. capaz de inhibir el crecimiento visible, para este caso el valor se encontró en 0.5mg/mL

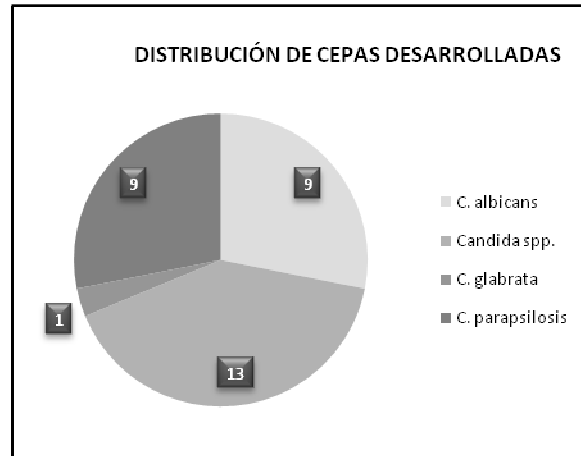
CONCENTRACIÓ N	RESULTADO	CONCENTRACIÓ N	RESULTADO
2.0 mg /ml		1.0 mg/ml	
1.5 mg /ml		0.75 mg/ml	
0.5 mg/ml		0.25 mg/ml	
0.125 mg/ml		CONTROL SIN PROPÓLEO	

**Tabla 15. Distribución de Cepas desarrolladas**

Especie	Número de Cepas desarrolladas
<i>C. albicans</i>	9/32
<i>Candida spp.</i>	13/32
<i>C. glabrata</i>	13/32
<i>C. parapsilosis</i>	9/32

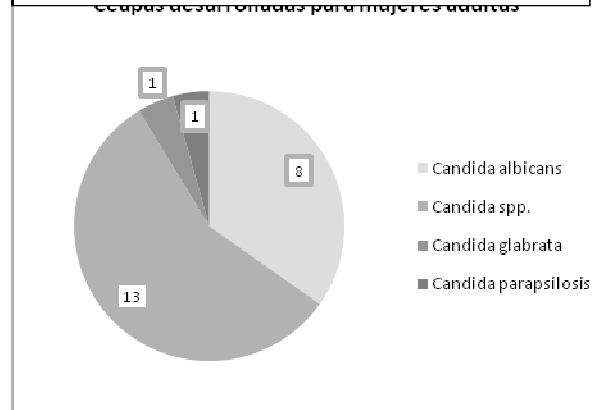
Gráfico 4.

Distribución de Cepas desarrolladas



**Tabla 16. Distribución de Cepas desarrolladas Para mujeres adultas**

GÉNERO Y ESPECIE	NÚMERO DE CEPAS DESARROLLADAS
<i>Candida albicans</i>	8/23
<i>Candida spp.</i>	13/23
<i>Candida glabrata</i>	1/23
<i>Candida parapsilosis</i>	1/23



**Gráfico 5. Distribución de Cepas desarrolladas para mujeres adultas**

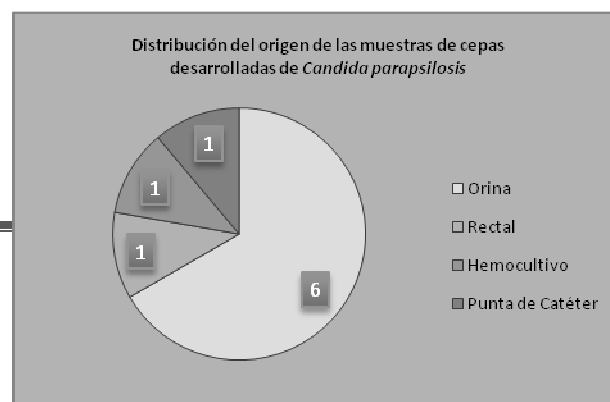
**Tabla 17. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. albicans***

Origen de muestra	Número de cepas desarrolladas
Orina	6/9
Coprocultivo	1/9
Faringeo	1/9
Cepa ATCC	1/9



**Gráfico 6. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. albicans***

**Tabla 18. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. parapsilosis***



Origen de muestra	Número de cepas desarrolladas de <i>Candida parapsilosis</i>
Orina	6/9
Rectal	1/9
Hemocultivo	1/9
Punta de Catéter	1/9

Gráfico 7. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. parapsilosis*

Tabla 19. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. spp*

Origen de muestra	Número de cepas desarrolladas de <i>Candida spp.</i>
Orina	8/13
Rectal	1/13
Hemocultivo	3/13
Punta de Catéter	1/13

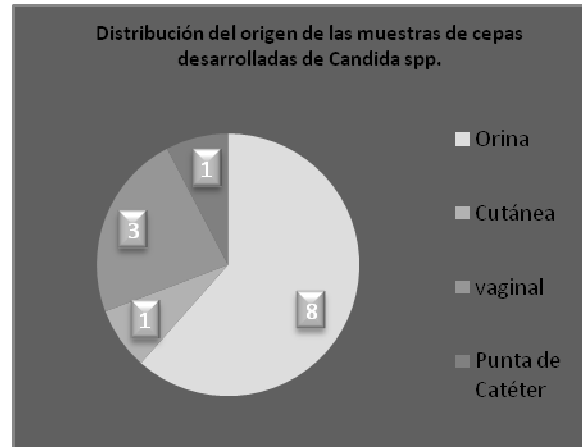


Gráfico 8. Distribución del origen de las muestras para Cepas de *C. spp.*

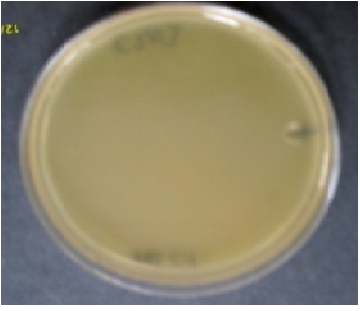

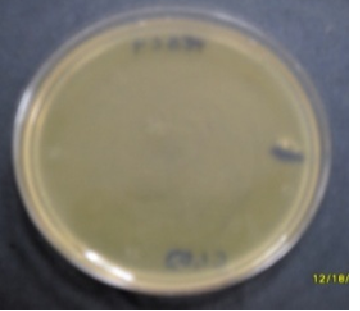
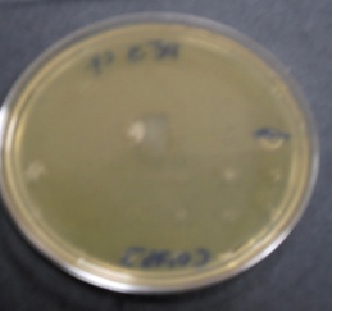
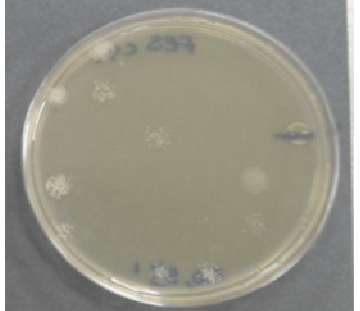


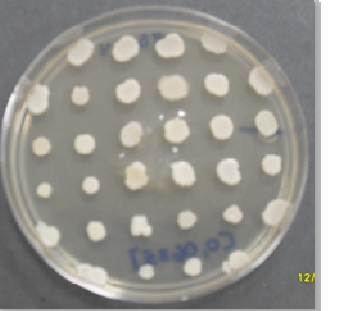
Para el caso de recién nacidos se desarrollaron 8 cepas de *Candida parapsilosis*

En cuanto al origen de la muestra para *Candida glabrata*, la única cepa desarrollada pertenecía a una muestra de orina.

### 9.3 Resultados del valor de C.M.I. para el E.E.P. de la F.E.S.C.

Tabla 20. Resultados de Incubación de las cepas en los medios con el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

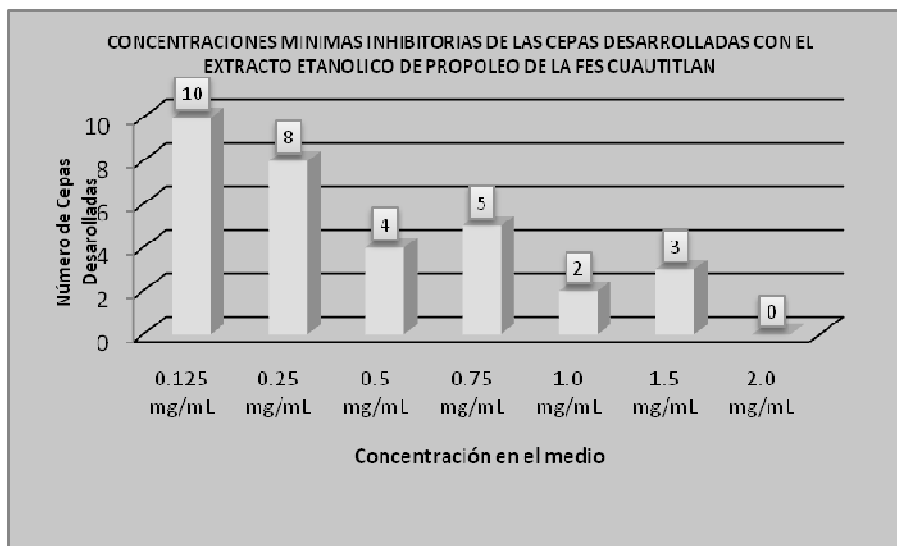
Lectura a las 48 Horas.

RESULTADOS DE INCUBACIÓN A 37°C DE LAS CEPAS EN LOS MEDIOS CON EL EXTRACTO ETANÓLICO DE PROPÓLEO DE LA FES CUAUTITLÁN			
LECTURA A LAS 48 HORAS CONCENTRACIONES [mg/mL]			
[2.0]	[1.5]	[1.0]	[0.75]
			
[0.5]	[0.25]	[0.125]	[0.0612]
			

**Tabla 21. Resultados de Lecturas a las 48 horas de las Concentraciones Mínimas inhibitorias obtenidas con el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.**

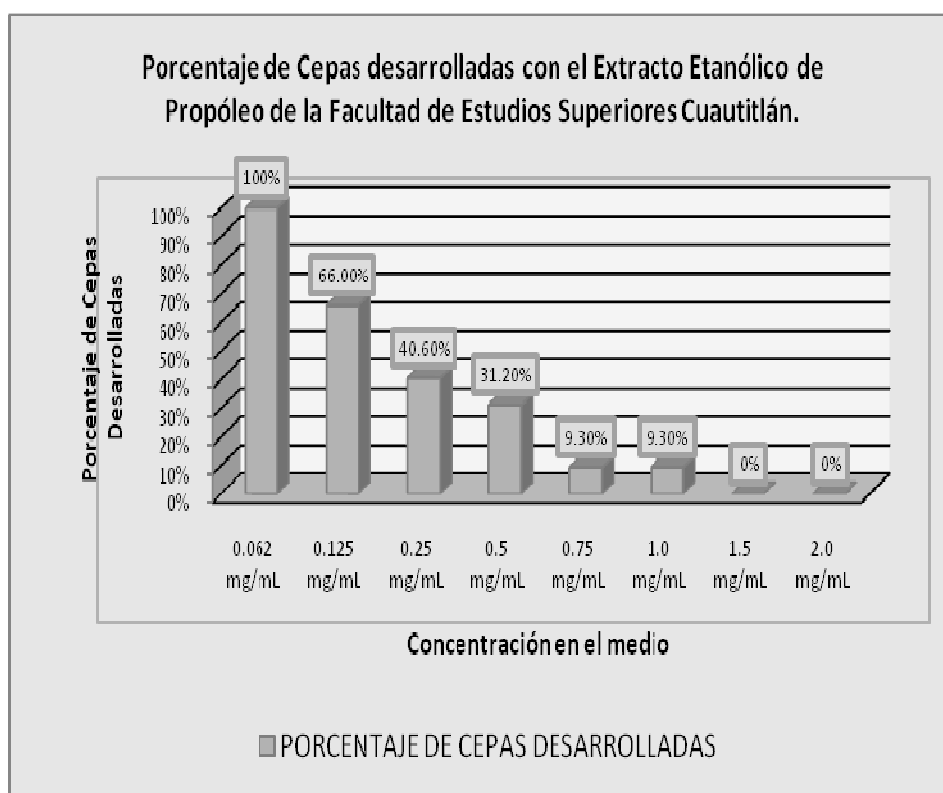
Concentración Mínima Inhibitoria	Nº DE CEPAS DESARROLLADAS A LAS 48 HORAS
0.125 mg/mL	10
0.25 mg/mL	8
0.5 mg/mL	4
0.75 mg/mL	5
1 mg/mL	2
1.5 mg/mL	3
2.0 mg/mL	0

**Grafico 9. Gráfico de los resultados de Lecturas a las 48 horas de las Concentraciones Mínimas inhibitorias obtenidas con el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.**



**Tabla 22. Resultados de Lecturas a las 48 horas de las cepas desarrolladas con las distintas Concentraciones del Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.**

Concentración del extracto en el medio	Número de cepas desarrolladas	Porcentaje de cepas desarrolladas	Número de cepas inhibidas	Porcentaje de cepas inhibidas	Total de cepas
0.062 mg/mL	32	100%	0	0%	32
0.125 mg/mL	21	65.60%	11	34.30%	32
0.25 mg/mL	13	40.60%	19	59.30%	32
0.5 mg/mL	10	31.20%	22	68.70%	32
0.75 mg/mL	3	9.30%	29	90.60%	32
1 mg/mL	3	9.30%	29	90.60%	32
1.5 mg/mL	0	0%	32	100%	32
2.0 mg/mL	0	0%	32	100%	32



**Gráfico 10. Gráfico Resultados de Lecturas a las 48 horas de las Cepas desarrolladas con el Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.**

L

Las lecturas realizadas por duplicado a las 48 horas mostraron que 10 cepas que representan el 31%, reportaron una CMI de 0.125 mg/mL, 8 cepas que representan el 25% obtuvieron una CIM de 0.25 mg/mL, el 12.5% representado por 4 cepas registraron una CMI de 0.5 mg/mL, 5 cepas que representan el 16 % obtuvieron una CMI de 0.75 mg/mL, mientras que 2 cepas que representan al 6% encontraron su valor de CMI en 1 mg/mL y por último solo 3 cepas que representan el 9% registraron el valor de CMI más elevado de 1.5 mg/mL. La CMI para todas las cepas evaluadas osciló entre 0.125 y 1.5 mg/mL.

Las cepas de *Candida spp* fueron inhibidas con menores concentraciones del Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán con respecto a los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales.



Figura 15. Resultados de Controles.

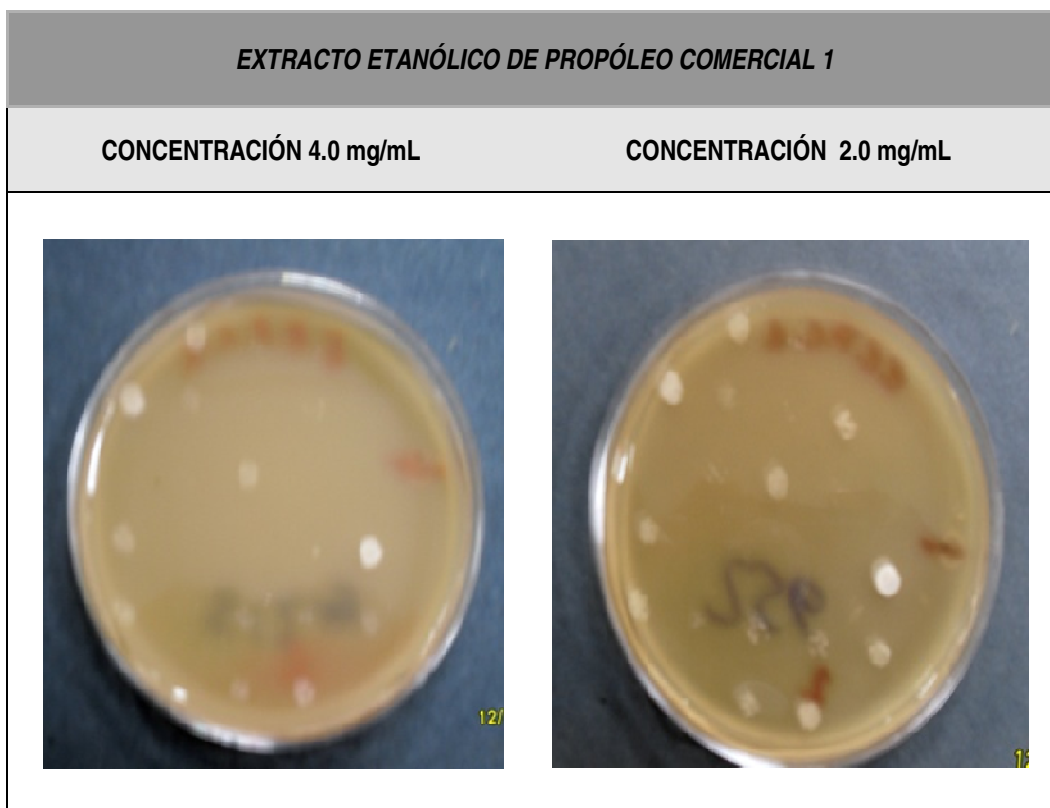


Figura 16 .Cepas desarrolladas en los medios con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 1.Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C

Tabla 23. Valores obtenidos de Cepas desarrolladas con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 1.

CONCENTRACIÓN DEL E.E.P. EN EL MEDIO	NÚMERO DE CEPAS DESARROLLADAS A LAS 48 HORAS	NÚMERO DE CEPAS INHIBIDAS	TOTAL DE CEPAS
4.0 mg/mL	12 (37%)	20 (63%)	32
2.0 mg/mL	17 (53%)	15 (47%)	32

En el resultado de la lectura a las 48 horas 12 cepas que representan al 44% se desarrollaron en el medio que contenía 4 mg/mL, las 20 cepas restantes se inhibieron a esta concentración; 17 cepas (59%) se desarrollaron a la concentración de 2.0 mg/mL, por tanto las 15 cepas restantes incluyendo la cepa ATCC se vieron inhibidas igualmente a dicha concentración



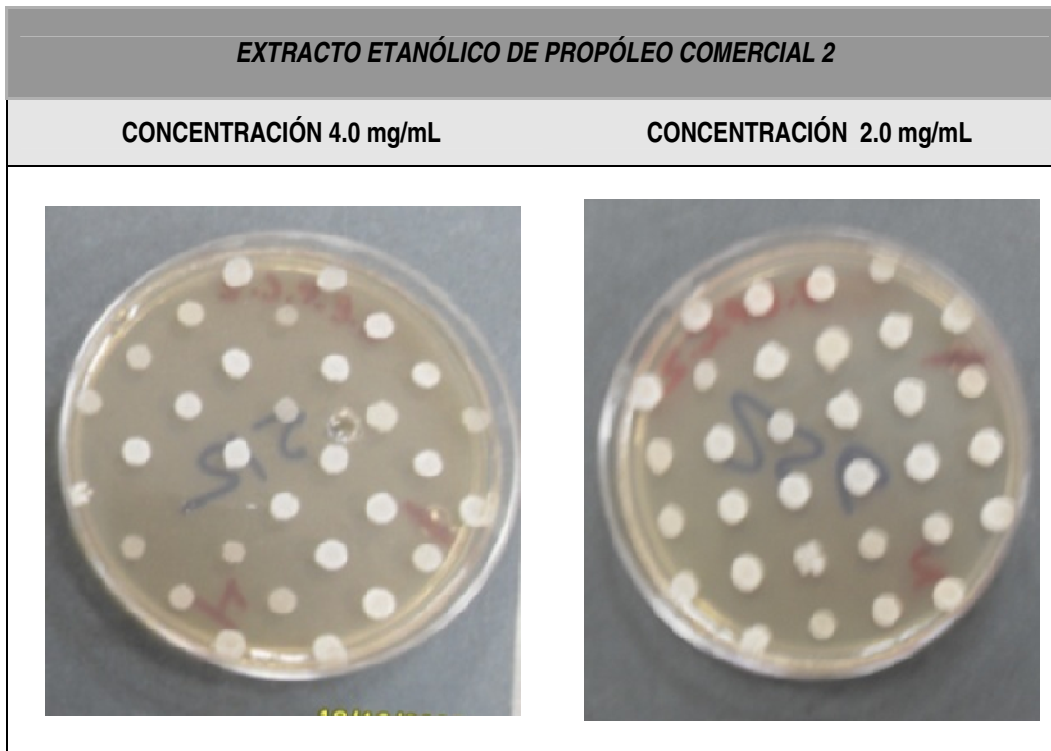


Figura 17. Cepas desarrolladas en los medios con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 2. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C.

Tabla 24. Valores obtenidos de Cepas desarrolladas con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 2

CONCENTRACIÓN DEL E.E.P. EN EL MEDIO	NUMERO DE CEPAS DESARROLLADAS A LAS 48 HORAS	NÚMERO DE CEPAS INHIBIDAS	TOTAL DE CEPAS
4.0 mg/mL	32 (100%)	0	32
2.0 mg/mL	32 (100%)	0	32

La lectura a las 48 horas mostró una actividad biológica nula ya que las 32 cepas se habían desarrollado en el medio, incluyendo a la cepa ATCC, así que no lograron ser inhibidas por el extracto a las concentraciones de 2.0 y 4.0 mg/mL.



Figura 18 .Cepas desarrolladas en los medios con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 3.

Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C.

Tabla 25 .Valores obtenidos de Cepas desarrolladas con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 3.

CONCENTRACIÓN DEL E.E.P. EN EL MEDIO	NUMERO DE CEPAS DESARROLLADAS A LAS 48 HORAS	NÚMERO DE CEPAS INHIBIDAS	TOTAL DE CEPAS
4.0 mg/mL	7 (22%)	25 (78%)	32
2.0 mg/mL	25 (78%)	7 (22%)	32

A las 48 horas la lectura mostró que en el medio que contenía 4.0 mg/mL, 7 cepas (22%) se desarrollaron, mientras que 25 cepas (78%) lo consiguieron en el medio que contenía 2.0 mg/mL, entre las cepas inhibidas se encontraba la cepa ATCC. La actividad biológica mostrada frente a las 32 cepas de distintas especies de *Candida* fue la más alta con respecto al total de los extractos etanólicos de propóleos comerciales

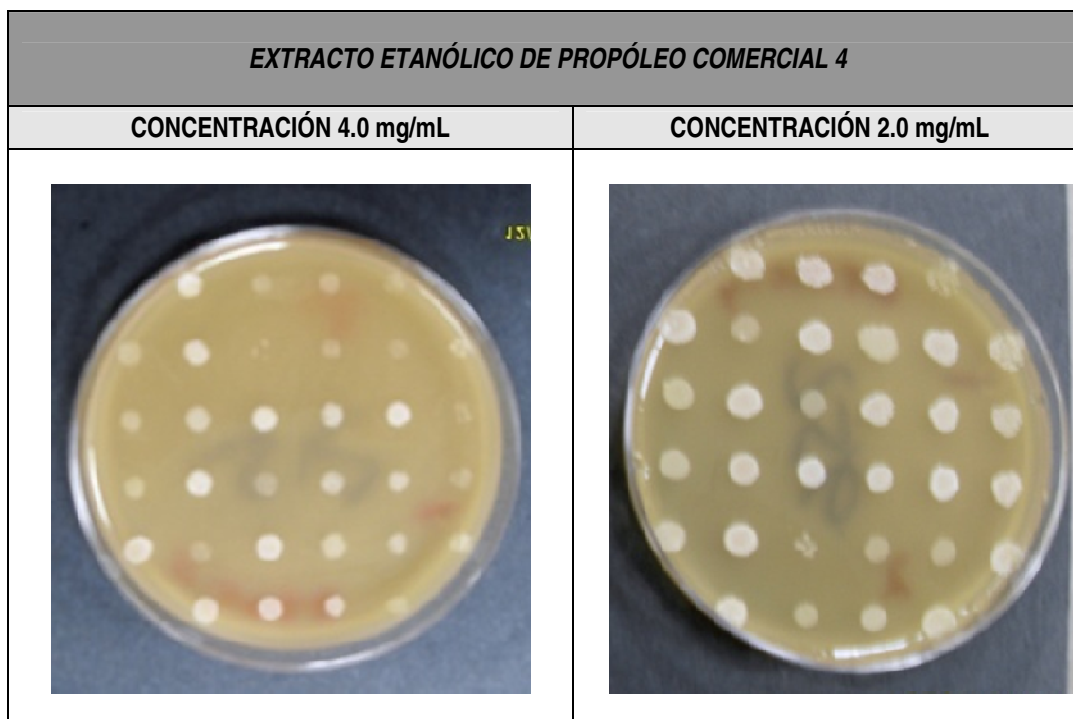


Figura 19. Cepas desarrolladas en los medios con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 4. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C.

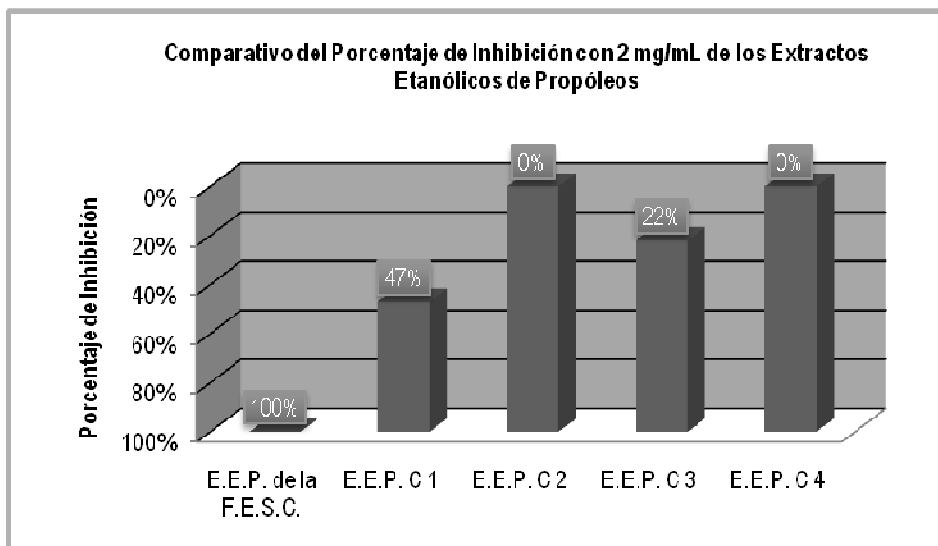
Tabla 26 .Valores obtenidos de Cepas desarrolladas con el Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 4.

CONCENTRACIÓN DEL E.E.P. EN EL MEDIO	NUMERO DE CEPAS DESARROLLADAS A LAS 48 HORAS	NUMERO DE CEPAS INHIBIDAS	TOTAL DE CEPAS
4.0 mg/mL	32 (100%)	0	32
2.0 mg/mL	32 (100%)	0	32

La actividad biológica mostrada frente a las 32 cepas de distintas especies de *Candida*, al igual que el E.E.P. C. 2, mostró una actividad biológica nula frente a las 32 cepas de distintas especies de *Candida* ya que la cepa ATCC logró desarrollarse inclusive a la concentración más baja del E.E.P. en el medio.

**Tabla 27. Comparativo del Porcentaje de Inhibición con 2 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos.**

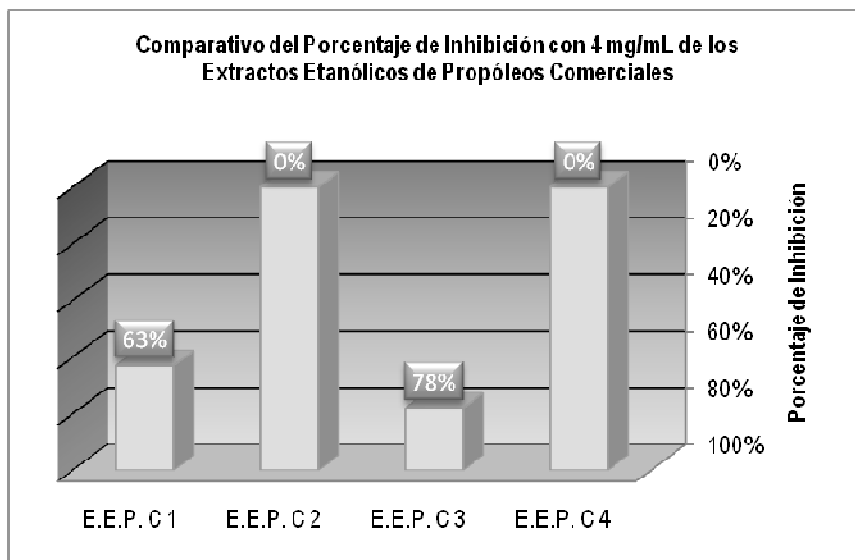
Extracto Etanólico de Propóleo a la concentración de 2.0 mg/mL	Porcentaje de Inhibición
E.E.P. de la F.E.S.C.	100%
E.E.P. C 1	47%
E.E.P. C 2	0%
E.E.P. C 3	22%
E.E.P. C 4	0%



**Gráfico 11. Gráfico comparativo del Porcentaje de Inhibición con 2 mg/mL de los medios con el Extracto Etanólicos de Propóleos.**

**Tabla 28. Comparativo del Porcentaje de Inhibición con 4 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales.**

Extracto Etanólico de Propóleo a la concentración de 4.0 mg/mL	Porcentaje de Inhibición
E.E.P. C 1	63%
E.E.P. C 2	0%
E.E.P. C 3	78%
E.E.P. C 4	0%



**Grafico 12. Gráfico comparativo del Porcentaje de Inhibición con 4 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales.**

Para demostrar que existe una diferencia significativa entre e E.E.P. con respecto a los E.E.P. comerciales, se realizó la prueba de análisis de varianza asignando los valores 1 y 0 al existir, o no, crecimiento respectivamente.

Se utilizó el programa GraphPad Prism 5.04, obteniendo los siguientes resultados:

**Tabla 29. Tabla ANOVA del Análisis de Varianza para los resultados de la actividad de los Extractos Etanólicos de Propóleos.**

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de Cuadrados	F <sub>cal</sub>	Valor critico de F
Factor Columna (Column Factor)	4.0	22.35	5.588	78.29	<0.0001
Factor Filla (Row Factor)	31.0	3.900	0.1258	1.76	0.0156
Residuos (Error)	124.0	8.850	0.07137		
Total	159.0	35.10			

Retomando las Hipótesis:

$H_0$ : No existe comparativo de la actividad entre los Extractos Etanólicos de Propóleos probados.

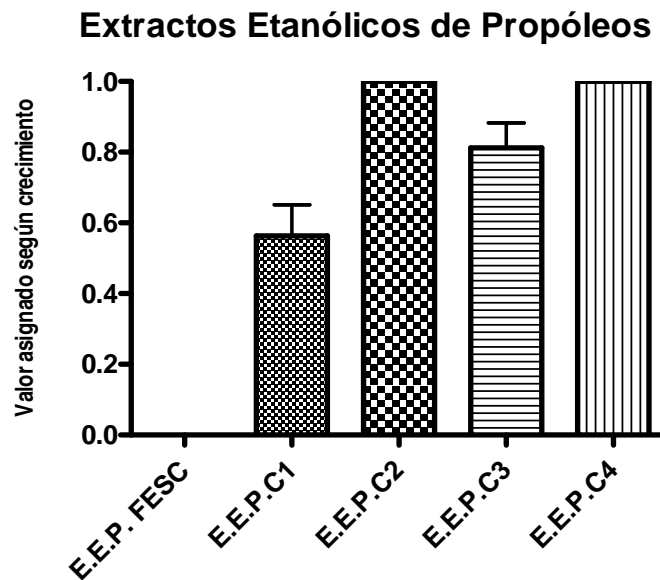
$H_A$ : Existe comparativo de la actividad entre los Extractos Etanólicos de Propóleos probados.

Criterio de Aceptación

Si  $F_{cal} < F_{crítica}$  No se rechaza  $H_0$

Si  $F_{cal} > F_{crítica}$  Se rechaza  $H_0$

Como:  $F_{cal} (78.29) > F_{crítica} (0.0001)$  Se rechaza  $H_0$



**Gráfico13. Gráfico de las Cepas desarrolladas en los medios con los Extractos Etanólicos de Propóleos.**

Existe menos del 0.01% de probabilidad de aleatoriedad, observando que el efecto es considerado extremadamente significativo, el Factor Columna tiene el 63.68 % del total de la varianza.

Para el Factor Fila (Row Factor) existe el 1.6% de probabilidad de aleatoriedad, observando que el efecto es considerado significativo. Este factor tiene el 11.11% de total de la varianza.

## 10. DISCUSIÓN

Los beneficios del propóleo se conocen desde tiempos remotos (Castalado, 2002; Mani, 2006; Vassya Bankova, 2005; Dong Myung, 2008; Cuesta 2005; Lessio, 2009; Popova, 2005), la composición química del propóleo es altamente variable y depende de la flora local del sitio donde fue recolectado por las abejas *Apis mellifera*, (Lozina, 2005; Kujumjiev, 1999; Quintero Mora, 2008; Castalado, 2002; Peña 2008; Sacozzo, 2006; Fernández, 2005; Sawaya, 2002; Freitas, 2004). Algunos autores mencionan que la especie de las abejas que recolectan el polen, también se ve relacionado con la composición de los distintos propóleos (Silici, 2005).

Es importante el tratamiento que se da a los propóleos para trabajar en pruebas en el laboratorio, tal es el caso de los solventes que se utilizan para extraer el extracto; si se trabaja con soluciones glicerinadas, hay una baja actividad biológica frente a bacterias Gram positivas, mientras que el etanol y el propileno glicol muestran buena actividad contra levaduras (Peña, 2008); por tal motivo para este estudio se decidió trabajar con extractos etanólicos, quedando claro que para este trabajo, no existió ninguna interferencia en cuanto a los medios o disolventes utilizados para la determinación, esto fue comprobado al trabajar con controles negativos (medios de cultivo que solo contenían etanol), el crecimiento no se vio inhibido, este tipo de controles está asegurando la confiabilidad en los resultados que además se realizaron por duplicado.

Los métodos empleados para la extracción de compuestos de propóleo requieren una adecuada estandarización, varios autores proponen mezclas de etanol, cloroformo y acetona, seguido de hidróxido de potasio etanol y acetólisis que permite separar gran cantidad de material orgánico post-extracción (Peña, 2008; Popova, 2009).

En México la apicultura es un ramo que no ha sido aprovechado en su totalidad. La investigación científica y el desarrollo tecnológico (aplicados en todos los sectores productivos) han sido y seguirán siendo las herramientas principales del progreso económico de las naciones desarrolladas. Por ello, estos pilares deben ser prioritarios en las políticas de toda nación para mejorar las condiciones de vida de sus habitantes.

En el caso de la apicultura mexicana, fermentar la investigación repercute en el progreso de aproximadamente 500 mil personas que viven en ella, directa o indirectamente. Mas de 75% de los apicultores son campesinos de bajos recursos que ven en la apicultura un medio para complementar sus ingresos. Desde el punto de vista económico, México es uno de los cinco países con mayor producción de miel en el mundo y mantiene el tercer lugar como exportador de este producto, lo que rinde divisas por más de 55 millones de

dólares anuales. No obstante, su valor más importante estriba en la riqueza generada por el efecto polinizador de las abejas en cultivos agrícolas, la cual se estima en montos superiores a 2 mil millones de dólares por año. (Guzmán, 2004).

La apicultura mexicana atraviesa por momentos difíciles, debido a la gama de problemas que la afectan: por lo tanto, es necesario promover la investigación estratégica, así como las políticas de fomento, capacitación y comercialización. Aunque desde hace muchos años se han publicado tesis de licenciatura relacionadas con la apicultura, la investigación formal en este sector productivo apenas se inició en nuestro país hace menos de 20 años. (Guzmán, 2004).

En numerosos trabajos se ha descrito que el propóleo posee diversas actividades, entre ellas: **actividad antifúngica** (Kujumgiev, 1999; Lozina, 2005 y 2006; Pozi, 2006; Silici, 2005), **antibacterial** (Duarte 2006; Kujumgiev, 1999; Sacozzo, 2006; Fernández, 2005; Popova, 2005 y 2009; Uzel Ataç, 2005; Silici, 2005; Klic, 2005; Trusheva, 2010; Londoño Orozco et. al., 2010; Cushnie, 2005; Banskota, 2001), **antiparasitaria** (Freitas, 2006), **antioxidante** (Kumazawa, 2004); **antiinflamatoria** (Aparecido, 2009; Sy Leticia, 2006), **hepatoprotectora** (Banskota, 2001), antiviral (Kujumgiev, 1999; Genya, 2005), **radioprotectiva** (Suárez, 2000; Benkovic, 2008), **citotóxica** (Banskota, 2000; Feng 2009), **anticancerígena** (Dong, 2008; Ozkul, 2005), Protector de daño en DNA (Russo, 2006), que **incrementa la resistencia natural del cuerpo ante infecciones** (Missima, 2009; Genny, 2005; Cuesta, 2005; Dimov, 1992; Gozde, 2009; Lopes, 2003; Pagliarone, 2009; Ozkul, 2005; Clancy, 2008; Rossi, 2002), **antiséptica**; ayuda diversos tratamientos contra: úlcera duodenal, dermatitis; baja los niveles de presión sanguínea y de colesterol; además uno de sus componentes de ácido cafeico fenil, (CAPE) por sus siglas en inglés ha mostrado **actividad citotóxica** frente a células tumorales (Peña 2008).

Es difícil saber con exactitud cuál de entre los distintos componentes químicos del propóleo causa la inhibición en el crecimiento de las levaduras, sin embargo en la literatura se mencionan ciertos constituyentes químicos que se encuentran presentes como componentes básicos y éstos probablemente actúan en la membrana microbiana causando daños funcionales y estructurales (Marcucci, 2001), entre algunas de estas sustancias podemos encontrar a los polifenoles, flavonoides como quercetina, galangina, pinocembrina, crisina; ácido cafeico, ácido cinámico, ácidos fenólicos y sus ésteres, aldehídos fenólicos, cetonas, ácidos aromáticos, aceites volátiles, ceras, resinas, sales como magnesio, nickel, calcio, hierro y zinc (Peña 2008). Esto justifica la búsqueda de una estandarización química para cada región que ayude a identificar los compuestos con actividad farmacológica para que el propóleo sea aceptado oficialmente dentro de los principales tratamientos para el cuidado de la salud (Vassya, 2005; Zhou, 2008; Sacozzo, 2006; Peña, 2008).



Se decidió utilizar la técnica de dilución en agar, basada en un trabajo realizado por Sawaya y colaboradores en 2002, en éste trabajo se demostró que este método en comparación con otros mostraba resultados más claros al analizar la actividad de extractos de propóleos con diferentes composiciones contra especies de *Candida spp.*

Un método considerado como "Estándar de oro", para la determinación de las susceptibilidades de organismos a antimicrobianos, es la obtención del valor de la Concentración Mínima Inhibitoria, definida como la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción de un crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba este método es usado para juzgar el comportamiento de todos los demás métodos de susceptibilidad incubando una cantidad conocida de bacterias o levaduras con diluciones definidas del agente antimicrobiano; es usado en los diagnósticos de laboratorios para confirmar resistencias inusuales, además de que brinda una respuesta definitiva cuando un resultado no puede ser obtenido por otros métodos de prueba, o cuando los métodos de difusión en disco no son apropiados (Andrews, 2001).

Con anterioridad se había comparado la actividad biológica de distintos extractos etanólicos de propóleos donde se encontraron valores de Concentraciones Mínimas Inhibitorias que van entre 0.2 a 12 mg/mL (Sawaya, 2002; Quintero Mora, et. al. 2008; Londoño Orozco, et. al. 2007). Además en el Laboratorio 6 de microbiología de la UIM de la F.E.S. Cuautitlán en un trabajo previo se probaron discos impregnados con concentraciones de 2 y 4 mg de propóleo por disco mediante pruebas de dilución en agar y microdilución.

Para el caso de el propóleo de la F.E.S. Cuautitlán los valores promedio de CMI fueron obtenidos mediante la suma del valor de CMI correspondiente a cada una de las cepas y divididos entre el número total de cepas. Los valores que se tomaron en cuenta para la realización del análisis de resultados fueron el porcentaje de inhibición de todos los extractos y para el caso del propóleo de la F.E.S. Cuautitlán, la obtención del valor de la CMI promedio que se encontró en 0.5 mg/mL.

El extracto etanólico de propóleos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán ya había sido probado en otros trabajos frente a cepas clínicas, (Quintero Mora, et. al. 2008); estas referencias señalan que los valores de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias se encuentran entre 0.8mg/mL a 2.0 mg/mL, al realizar la primer prueba para conocer dicho valor con una cepa de referencia, en este trabajo, se obtuvo una Concentración Mínima Inhibitoria de 0.5mg/mL, este valor fue el esperado ya que se encontró dentro de los valores referidos, por lo que se decidió trabajar con concentraciones que estarían entre los 0.0612 mg/mL hasta los 2.0 mg/mL.

Los resultados mostraron que la CMI promedio obtenida fue la esperada, además de corresponder al valor obtenido en el ensayo para conocer el valor de la CMI de la cepa de referencia. Estos datos se graficaron, de igual forma el número de cepas desarrolladas a las distintas concentraciones para poder obtener el porcentaje de inhibición en el medio.

En las gráficas se compara el porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos comerciales con el extracto etanólico de la F.E.S. Cuautitlán ya que éste parámetro si pudo ser comparado con la concentración de 2.0 mg/mL. No se obtuvo un valor de C.M.I. para los extractos etanólicos de propóleos comerciales debido a que no habría sido posible obtener dicho valor ya que la eficacia de los extractos etanólicos comerciales 2 y 4 era menor, en dichos casos solamente se habría podido encontrar un valor de reducción en el desarrollo, lo cual no era un objetivo para este trabajo.

Los E.E.P. comerciales refieren el 20% de concentración en el marbete pero los resultados no reflejaron que dicha información fuera real, lo cual nuevamente nos lleva a sugerir que es necesario tener un mayor control de calidad en cuanto a la venta de este tipo de productos, ya que no existe una regularización en procesos para estos últimos.

Los porcentajes de inhibición se relacionan con la actividad biológica que presenta cada extracto, por lo que el que el extracto etanólico de la F.E.S.C. presentó la mayor actividad con el 100% de inhibición, éste extracto fue el único capaz de inhibir el desarrollo de las 32 cepas de *Candida spp.*, a la mayor concentración 4.0 mg/mL, el 78% de cepas fueron inhibidas con el E.E.P.C. 3, el 63% de inhibición se obtuvo con el E.E.P.C. 1 mientras que el E.E.P. C 2 y 4 obtuvieron un porcentaje nulo de inhibición, por lo que no se observó actividad biológica por lo menos con las concentraciones probadas lo cual sugiere una mayor actividad con respecto a los extractos comerciales.

Se realizó un análisis de varianza para comprobar que existe una diferencia de la actividad entre los propóleos, como muestra la gráfica, se asignaron valores de 0 y 1 para poder realizar un análisis estadístico por el Análisis de Varianza ANOVA de 2 vías, los resultados mostraron que existe una diferencia significativa de la actividad entre los distintos propóleos, como se muestra en las gráficas, los resultados sugieren que la actividad del E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán es mayor respecto a los E.E.P. Comerciales.

El utilizar una cepa de referencia de *Candida albicans* ATCC 10231, sirvió como control de calidad, lo mismo ocurrió al montar controles negativos, esto nos aseguro un buen respaldo en cuanto a calidad del medio y cuidados en cuanto a contaminación en la inoculación de las cepas, los controles que contenía la máxima cantidad de etanol como vehículo para el extracto de propóleo en los medios, demostraron que no existió ningún tipo de interacción que pudiera impedir el desarrollo de las cepas, es por esto, que el implementar el uso de controles negativos en las técnicas nos ofrece una garantía de seguridad y confiabilidad en los resultados.

Los propóleos comerciales pueden ser encontrados en tiendas naturistas de la República Mexicana. En este estudio se comprobó que la actividad que poseía el E.E.P. de la FES Cuautitlán era mayor que el de los E.E.P. Comerciales debido a que con menores CMI un menor número de cepas se habían desarrollado.

Las levaduras del genero *Candida spp*, tienen mucho interés clínico, en cuanto a cómo afectan a la población infantil,(Esteves Jaramillo, 2009; Giusiano, 2000; Reyes Romero,2003, Reséndiz Sánchez, 2004; Carrillo Muñoz, 2001; Rodríguez Cruz, 2005; Da Silva, 2007; Zia, 2007; Whyte, 1982; Wanjari 2008; Tiraboschi, 2007; Reyna Figueroa, 2007); a población hospitalizada (Shivaprakasha Sharma, 2007; Manzano Gayosso, 2008;); a mujeres embarazadas, (Braun, 2006); y como siguen encontrándose afecciones por infecciones localizadas como: onicomicosis (Veer, 2007) y candidiasis bucal (Lazarde, 2003) entre otras.

Diversos trabajos, evalúan distintos métodos para mejorar la obtención de las cepas que son aisladas de muestras clínicas, (Ballesté 2007; Rubio, 2008; Godoy, 2001; Quindos, 2001). No debemos perder de vista que las infecciones causadas por esta entidad continúan causando estragos en la población infantil (Zia, 2007; Salcedo, 2002, Reyna Figueroa, 2008; Rodríguez Cruz, 2005; Wanjari, 2008; Albusu Yon, 2006) por lo que es necesario encontrar un tratamiento eficaz mediante la evaluación de la actividad de distintos antifúngicos (Fernández, 1998; Pfaller, 1998, 2002 y 2003; Swinne, 2005; González, 2008; Murillo, 2007; Martínez, 1998; Sugizaki, 1998; Gutiérrez, 2007; Mujica, 2004; Vaishnavi, 2008; Zia, 2007; Ga Won, 2007).

Para este estudio no fue necesario realizar una investigación en cuanto a historiales clínicos o estadística clínica ya que esos puntos no estaban contemplados dentro de los objetivos, sin embargo fue posible observar que 9 cepas que representa el 28% pertenecieron a la especie *albicans*, el mismo porcentaje lo ocupo la especie *parapsilosis*, sólo una cepa pertenece a la especie *glabrata* por lo que constituye al 3%, mientras que el 41% restante no tienen especificación (Gráfico 4).

El 66% del total de las muestras provenían de orina, el 9% de muestras pertenecían a exudados cérvico vaginales, el 6% correspondía a muestras de punta de catéter y para las muestras de exudado Faríngeo, Hemocultivo, muestra cutánea, rectal y coprocultivo, cada una estuvo representada por el 3%.

Las mayoría de las cepas provenían de muestras de orina; para *Candida albicans* y *Candida parapsilosis*, representaron el 67%, (Gráficos 6 y 7); en el caso de *Candida spp.* constituyeron el 61%,(Gráfico 8), para *Candida glabrata* solo se reporto una cepa; de las 7 cepas que reportaron más resistencia al crecer con mayores concentraciones de los extractos que constituyen a las cepas 5, 6, 13, 17, 21, 30 y 31 se reportó el 72% .Con respecto a estas cepas el 28.5% pertenecen a la especie *albicans* y *spp.* respectivamente; el 43% pertenece a la especie *parapsilosis.*, y. de estas últimas en particular provenían de muestras de recién nacidos que se infectaron durante un brote en la UCIN del INPerIER en 2004.

La cepa ATCC. se desarrollo con las concentraciones más bajas del E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán en el medio: 0.0612 mg/mL y 0.125 mg/mL por lo que su C.M.I. se reporta en 0.25 mg/mL a las 48 horas. Con respecto a los E.E.P. Comerciales mostró desarrollo con el E.E.P.C 2 y 4 con ambas concentraciones en cambio no se desarrollo con los E.E.P. C 1 y 3 con ambas concentraciones, lo que nuevamente sugiere una mayor actividad con los E.E.P. C 1 y 3 y el E.E:P. . de la F.E.S.Cuautitlán.

Para que el Propóleo pueda ser aceptado como tratamiento alternativo, se necesita una estandarización química que garantice su calidad, seguridad y eficacia. Si quisiera realizarse la estandarización, partiríamos de los principios activos que son conocidas y aceptados, estos tienen que ser cuantificados usando un método analítico apropiado, sobre este punto, existen muchos trabajos que se encargan de la caracterización química del propóleo (Drapak, 2005; Ackerman, 1991; Popova, 2005 y 2009; Uzel Ataç, 2005; Lessio, 2009; Marcucci, 2009; Daughsch, 2007; Kumazawa, 2008; Zhou, 2008; Silici, 2009; Cushnie, 2005). Si los compuestos activos no son conocidos o aun están en discusión, el extracto total se tratara como Principio Activo, y en ese caso los componentes marcados deben ser usados para control de calidad (Peña 2008).

Debe de investigarse con más profundidad la actividad alergénica de estos extractos, debido a que existen personas susceptibles al polen contenido en los extractos y a ciertos constituyentes de la mezcla que el propóleo representa, por lo que no podría ser utilizado en población abierta. (Burdock 1998).

## 11. CONCLUSIONES

1. Se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* del extracto etanólico de Propóleo obtenido en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán frente a 32 cepas aisladas de muestras de pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes; por lo que el objetivo de este trabajo experimental se cumplió.
2. Con el E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán, se obtuvo una Concentración Mínima Inhibitoria que osciló entre 0.125 a 1.5 mg/mL, presentando una inhibición de crecimiento del 100% de las cepas a una concentración de 1.5 mg/mL.
3. Entre los extractos comerciales la mayor actividad biológica a la concentración de 2.0 mg/mL la presentó el E.E.P.1 con inhibición del 47% de las cepas, seguida del E.E.P.C. 3 con el 22% de inhibición. A la concentración de 4.0 mg/mL, la mayor inhibición la presentó el E.E.P.C.3 con el 78% de cepas inhibidas seguido del E.E.P.C.1 con el 63% de inhibición, mientras que los extractos comerciales 2 y 4 no mostraron ninguna actividad frente a las cepas con ambas concentraciones probadas.
4. La hipótesis alterna se aceptó ya que se demostró con el análisis de varianza que existe un comparativo de la actividad entre los distintos Extractos Etanólicos de Propóleos probados
5. Los resultados de porcentajes de inhibición sugieren que la actividad biológica del Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán podría ser mayor con respecto a los 4 E.E.P Comerciales.
6. Este estudio ofrece resultados que apoyan a futuras investigaciones encaminadas a desarrollar y proponer al E.E.P. de la F.E.S. Cuautitlán como un tratamiento alternativo.
7. Es necesaria crear una cultura de investigación para propóleos en cada país y región, de esta forma, bajo estándares de calidad se beneficiaría a un gran sector de la sociedad ya que tendría acceso a un probable tratamiento natural económico y eficaz.
8. México como país en vía de desarrollo que cuenta con una gran diversidad en recursos naturales debe contar con trabajos que ayuden y respalden la creación de una conciencia de investigación para desarrollar nuevas tecnologías que ayuden al avance científico y tecnológico.

## 12. BIBLIOGRAFÍA:

1. Ackermann, Th. (1991). Fast Chromatographic study of propolis crudes. *Food Chemistry*.42,135-138.
2. Andrews, Jennifer M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 48, (51), 5-16.
3. Aparecido, Sandra. (2009.) Brazilian green propolis inhibits inflammatory Angigenesis in a Murine Sponge model. *Water extract of propolis on chronic inflammation*. 2-7
4. Arendrup, Marrken. Comparison of E-test and a tablet diffusion test with the NCCLS broth microdilution method for fluconazole and amphotericin B susceptibility testing of *Candida* isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47.521-526.
5. Arias, T.D. (2001) Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de Salud.
6. Ávila, J. (2001) *Química Orgánica. Experimentos con un enfoque ecológico*. UNAM
7. Balows In A. (1991). Preparation of McFarland Standards (Adapted from D.A, Hendrickson and M.M. Krenz. Reagents and stains. *Manual of Clinical Microbiology*. 5ª edición. Editorial American Society for Microbiology. Washington D.C.
8. Ballesté, Raquel. (2005). Evaluación del medio cromógeno CHROM agar *Candida*™ para la identificación de levaduras de interés médico. *Revista Med. Uruguay*. 2,186-193
9. Banskota, Arjun H. (2001). Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine*.8. (1), 16-23.
10. Banskota, Arjun H. (2000). Citotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Perú, the Netherland Island and China. *Journal of Ethnopharmacology*.72, 239-246,
11. Barry, A. L. (2000). Quality control limits for Broth Microdilution susceptibility tests of Ten Antifungal agents. *Journal Of Clinical Microbiology*. 38. (9). 3457-3459,
12. Bellergrand, Stephania. (1996). Propolis allergy in an HIV-positive patient. *Journal of American Academy of Dermatology*. 35, 644.
13. Benkovic, Vesna. (2008). Evaluation of radioprotective effects of Propolis and Quercetin in Human white blood cells in vitro. *Biology Pharmacology Bull*. 31 (9), 1778-1785.
14. Braun, Hernan. (2006). Infección intraamniótica por *Candida albicans* asociada a dispositivo intrauterino. *Boletín Escuela de Medicina U. C. Pontificia Universidad Católica de Chile*, 31 (1), 47-50.
15. Burdock, G.A. (1998). Review of the Biological properties and toxicity of bee propolis (Propolis). *Food and Chemical Toxicology*. 36, 347-363.
16. Carrillo Muñoz, Alfonso J. (2001). Métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad in vitro a los antifúngicos. *Revista Iberoamericana de Micología*.18.150-155.
17. Casanova Josep (2002) *Candidiasis Curso de actualización Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida*
18. Castaldo, S. (2002). Propolis an old remedy in modern medicine. *Fitoterapia*.7. (1), 51-56.
19. Cermeño Vivas, Julman Rosiris. (2001). Sensibilidad de hongos miceliares dermatiáceos a diez antifúngicos empleando un método de difusión en agar. *Revista Iberoamericana de Micología*.18,113-117
20. Cornelius, Clancy J. (2008). Immunoglobulin G responses to a panel of *Candida albicans* antigens as accurate and early markers for the presence of systemic *Candidiasis*. *Journal Of Clinical Microbiology*. 46. (5) ,1647–1654.
21. Cuenca M, Estrella. (2002). Infecciones por *Candida* spp. Infecciones superficiales y profundas. *Clínica actual*. 8 .(68),3615 – 3624,
22. Cuenca M, Estrella. (2004). Combinations of antifungal agents in therapy - what value are they? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 54, 854-869.
23. Cuesta, Alberto. (2005). In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses. *Fish and Shellfish immunology*.18, 17-80.
24. Cushnie, Tim. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*.26, 343-356.
25. Da Silva, Elza Helena. (2007). *Candiduria* in a public hospital of São Paulo (1999-2004): characteristics of the yeast isolates *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. 49. (6), 349-353

26. Dausch, Andreas. (2007). Brazilian Red Propolis-Chemical composition and Botanic origin. *Advanced Acces Publication*. 5.(4),435-441.
27. Dimov, Valentin. (1992). Immunomodulatory action of propolis: IV Prophylactic activity against Gram negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. *Vaccine*. 10 (12), 817-823
28. Dong, Myung. (2008). Preparation of Propolis nanofood and application to human cancer. *Biology Pharmacology Bull*. 31.(9),1704-1710
29. Dawson James (2003). *Lo esencial en Farmacología*. 2ª edición. Editorial Elsevier. Madrid España
30. Drapak, S.I. (2005). Structural and optical characterization of the propolis films. *Applied Surface Sciences*. 253, 279-282.
31. Duarte, Simone. (2006). The influence of a novel propolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. *Archives of Oral Biology*. 51, 15-22.
32. Esteves, A. (2009). Prevalencia de hemocultivos positivos para *Candida* spp. Distribucion de levaduras aisladas de pacientes internados en un hospital de Segundo nivel de la Ciudad de México. *Dermatología Rev. Mex*. 53. (1), 3-6.
33. Feng, Li. (2009). *Cytotoxic constituents of propolis from Myanmar and their Structure-Activity relationship*. *Biology Pharmacology Bull*. 32. (12), 2075-2078
34. Fernandes, Júnior Ary. (2005). *Propolis: anti Staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 100. (5), 563-566
35. Fernández, Carlos M. (1998). Determinación de la CIM de Anfotericina B en levaduras de interés médico. *Revista Cubana de Medicina Tropical "Pedro Kouri"*.50. (1), 48-53
36. Florez Jesus. (1997). *Farmacología Humana*. 3ª edición. Editorial: Masson. Barcelona España
37. Freitas, S. F. (2006). In vitro effects of Propolis action on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicine*. 131, 170-175.
38. Ga Won, Yonse Jean. (2007). A comparison of Ambisome to Amphotericin B for treatment of systemic Candidiasis in very low birth weight infants. *Medical Journal*. 48.(4), 619-626.
39. Gadea, Ignacio. ( 2007). Procedimientos de Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica* . 25. (5), 336-340.
40. García Martos, Pedro. (2002). Sensibilidad a antifúngicos de especies de *Cryptococcus* de interés clínico. *Med. Clin. (Barc.)*.119. (6), 211-213
41. Genya, Gekker. (2005). anti VIH-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*.102, 158-163
42. Giusiano, Mangiateria Infecciones por levaduras en pacientes pediátricos hospitalizados. *Instituto de Medicina Regional Univ. Nal. Del Nordeste de Argentina*.
43. Godoy, Patricia. (2001). Identificación de *Candida albicans* utilizando el medio cromogénico Albicans *Revista Iberoamericana de Micología*. 18. 197-199
44. González Maldonado, Sosa González.(2004) Brote por *Candida parapsilosis* en prematuros de una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN), reporte de cinco casos. 1
45. González, Gloria M. (2008). Trends in Species Distribution and Susceptibility of blood stream isolates of *Candida* collected in Monterrey, México, to seven antifungal agents: results of a 3 year (2004 to 2007) surveillance study. *Journal Of Clinical Microbiology*. 46. (9), 2902-2905.
46. Gozde, Girgn. (2009). Immunomodulatory effects of Turkish propolis: Changes in neopterin release and tryptophan degradation. *Immunobiology*. 214, 129-134
47. Gutiérrez, Carolina. (2007). Sensibilidad a Fluconazol y Voriconazol de aislamientos de *Candida* spp. obtenidos de mucosa oral de pacientes con SIDA. *Infection*.11.(4), 183-189
48. Guzmán, E. (2004) La Investigación apícola en México. *Imagen Veterinaria*.4 (2), 44-48.
49. Jawetz Ernest, (1987). *Microbiología Médica*. 17ª edición. Editorial: El manual Moderno. México D.F.
50. Jürgens, C. (2009) Factores que influyen en la producción y almacenado del Propóleo. *Vida Apícola [Revista Electrónica]*. Disponible en: [www.vidaapicola.com/.../manejo/almacenado.html](http://www.vidaapicola.com/.../manejo/almacenado.html)

51. Klic, Abdullah. (2005). In vitro antimicrobial activity of propolis against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. *Annals of Microbiology*. 55. (2), 113-117
52. Koneman, Elmer. (1985). *Diagnóstico microbiológico*. Editorial Panamericana. pp. 393-395.
53. Koya Miyata, Satomi. (2009). Propolis prevents diet induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. *Biology Pharmacology Bull*. 32. (12), 2022-2028.
54. Kujumgiev A. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*. 64, 235-240.
55. Kumazawa, Shigenori. (2008). Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*. 95, 781-786.
56. Kumazawa, Shigenori. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. 84, 329-339.
57. Lazarde, L.J. (2003). Candidiasis multifocal bucal. Reporte de un caso. *Acta Odontológica Venezolana*. 41. (2).
58. Lenette Edwin. (1987). Manual de Microbiología Clínica. 4ª ed. Editorial Panamericana. pp.619-622.
59. Lessio, Myrella. (2009). Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian propolis type 6. *Bio organica and Medicinal Chemistry*. 17. (209), 5532-5535.
60. Linares, Sicilia. (2001). Identificación de levaduras Pfizer. *Revista Iberoamericana de Micología*.
61. Londoño, Cruz Sánchez. (2010). Antibacterial comparative study between extracts of Mexican propolis and of three plants which use *Apis mellifera* for its production. *Journal Of Veterinary Advances*. 9. (8), 1250-1254.
62. Londoño, Penieres, Quintero, Cruz Sánchez. (2008). Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del estado de México. *Tecnología en Marcha*. 21. (1), 49-55.
63. Lopes, F. C. (2003). Effect of three vegetal sources of propolis on macrophages activation. *Phytomedicine*. 10, 343.
64. Lozina, Lavia A. (2005). Extrapolación en una forma posológica de valores obtenidos in vitro sobre actividad antifúngica del propóleo. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad Nacional del Nordeste*. 18.
65. Lozina, Lavia A. (2004). Eficacia del propóleo sobre levaduras (*Malassezia pachydermatis*). Correlación de distintas técnicas *in vitro*. *Acta Farm. Bonaerense*. 25. (4), 560-3.
66. Mani, F. (2006). Effect of different concentrations, extracts and intake period on serie biochemical variables. *Journal of Ethnopharmacology*. 105, 95-98.
67. Manzano Gayosso, Hernández Hernández. (2008). Candiduria en pacientes con Diabetes mellitus tipo 2. Sensibilidad antifúngica in vitro. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Social*. 46. (6), 603-610.
68. Manzano Gayosso, Patricia. (2008). La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. *Gaceta Méd. Méx.* 144. (1).
69. Marcucci, (1995). Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 26, 83-99.
70. Marcucci, M.C. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 74, 105-112.
71. Martínez Javier, Albrect. (1998). Sensibilidad a fluconazol y a Anfotericina B en cepas de *Candida* provenientes de aislamientos clínicos. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15, 298-299.
72. Martínez García, JJ. (2008). Infecciones nosocomiales por *Candida* spp. en niños. *Paediatr Mex* 1, 47-52.
73. Missima, Fabiane. (2007). Green Brazilian Propolis action macrophages and lymphoid organs of chronically stressed mice. *Advanced Access Publication*. 5. (1), 71-75.
74. Mujica, M.T. (). Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas. Periodo 1999-2001. *Revista Argentina de Microbiología*. 36. (3)
75. Murillo, Luis A. (2007). Fungicidal activity of a phospholipase A2-derived synthetic peptide variant against *Candida albicans*. *Revista Esp. Quimioterap*. 20. (3).



76. Ozkul Y, Silicib S., Eroglu E. (2005). The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture. *Phytomedicine*.12, 742-747.
77. Pagliarone, A. C. Missima, Fabiane. (2009). Propolis effects on Pro-inflammatory cytokine production and Toll-like receptor 2 and 4 expression in stressed mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 9, 1352-1356.
78. Pagliarone, A. C. Missima, Fabiane. (2009). Propolis effects on Th1/Th2 cytokines production by acutely stressed mice. *Journal of Ethnopharmacology*.125, 230-233
79. Pardi, Germán. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Acta Odontológica Venezolana*. 40 (1).
80. Peña, C Raul. (2008). Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. *Ciencia e Investigación Agr*. 35(1), 17-26.
81. Pfaller, M.A. (1998). In vitro susceptibilities of *Candida* Bloodstream isolates to the new Triazole antifungal agents BMS-207147, Sch 56592, and Voriconazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 42 (12), 3242-3244.
82. Pfaller, M.A. (2002). In vitro activities of Ravuconazole and Voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6,970 Clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46 (6), 1723-1727.
83. Pfaller, M.A. (2003). Activities of Fluconazole and Voriconazole against 1,586 recent clinical Isolates of *Candida* species determined by Broth Microdilution Disk Diffusion and E-test methods Report from the ARTEMIS Global antifungal susceptibility Program 2001. *Journal Of Clinical Microbiology*. 41 (4), 1440-1446.
84. Popova, M. (2005). Antibacterial activity of Turkish propolis and quantitative chemical composition. *Phytomedicine*.12, 221-228.
85. Popova M. (2009). Terpens with antimicrobial activity from Cretan propolis. *Phytochemistry*. 70, 1262-1271
86. Pozzi A. C., Oliveira. (2006) Antifungal activity of propolis extract against yeast isolated from onychomycosis lesions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*.10 (5), 493-497
87. Quindós Guillermo (2001). Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida* ID™) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. *Revista Iberoamericana de Micología*. 19, 23-28
88. Quintero-Mora, Londoño Orozco, Carrillo Miranda, Cruz Sánchez. (2008). Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. *Revista Iberoamericana de Micología*.25, 46-50.
89. Reséndiz Sánchez, Morales Aguirre (2007). Factores asociados a mortalidad por fungemias causadas por *Candida* sp. en niños. Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. *Bol. Med. Hosp. Infant*. 61, 289-96.
90. Reyes Romero. (2006). Candidiasis *Antibióticos e Infección*. 2(3-4), 95-107.
91. Reyna Figueroa, Ortiz Ibarra, (2008). Recién nacidos pretérmino con sepsis nosocomial: Comparación de dos consensos y una escala clínica, utilizados en la identificación de sepsis mediante un estudio de evaluación de pruebas diagnósticas. *Revista de enfermedades infecciosas en Pediatría*. 22 (85), 18-23.
92. Reyna Figueroa, Soriano Becerril, (2007). Epidemiología hospitalaria de candidiasis neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología en un periodo de cinco años. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*. 27(4), 110-113.
93. Rodríguez Cruz (2005). Aspectos microbiológicos de la Candidiasis en neonatos. *Academia Venezolana*. 3, 1- 4.
94. Rossi A., (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine*. 9, 530-535.
95. Rubio Ma. Del C. (2008). Comparison of results obtained by testing with three different agar media and by the NCCLS M27-A Method for in vitro testing of Fluconazole against *Candida* spp. *Journal Of Clinical Microbiology*. 41 (6), 665-2668.
96. Russo A. (2006). Propolis protects human spermatozoa from DNA damage caused by benzo[a]pyrene and exogenous reactive oxygen species. *Life Sciences*. 78, 1401-1406.

97. Salcedo Noris (2003). Prevalencia de *Candida dubliniensis* en mucosa de pacientes VIH positivo y negativo en la Ciudad de Santo Domingo, República Dominicana I, XII Congreso Dominicano de dermatología, Hotel Coral Canoa, Bayahibe, La Romana, R.D.Santo Domingo
98. Saco F. (2006). Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research*. 161, 327-333.
99. Salcedo Abizanda (2002). Recién nacido y riesgo obstétrico de infección. *Neonatología*. 35, 297.
100. Sanjeev Jain (2001). Itraconazol: un antifúngico oral eficaz frente a la onicomicosis. *Journal of Dermatology*. 4 (4), 221.
101. Sawaya A.C.H.F., (2002) Comparative study of in vitro methods used to analyse the activity of propolis extracts with different compositions against species of *Candida*. *Letters in Applied Microbiology*. 35, 203–207.
102. Shivaprakasha Sharma Savitri, (2007). *Candida* sp other than *C. albicans*: a major cause of fungaemia in a tertiary care center *Indian Journal of Medical Microbiology* 23 (4), 405-407.
103. Silici S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. 99, 69-73.
104. Silici S. (2005). Antifungal activities of propolis collected by different races of honeybees against yeast isolated from patients with superficial mycoses. *Journal of Pharmacological Sciences*. 99, 39-44.
105. Suárez Damarys. (2000) Estudio preliminar del efecto radioprotector de diferentes propoleos cubanos. *Apiciencia*. 2 (2), 1-9.
106. Sugizaki María Fatima, (1998). Prevalence and in vitro antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from clinical specimen in São Paulo Brazil. *Revista Iberoamericana de Micología*. 15,16.
107. Swinne Daniel. (2005). In vitro activities of Variconazole, Fluconazole, Itraconazole and Amphotericin B against non *Candida albicans* yeast isolates. *Revista Iberoamericana de Micología*. 22, 24-28.
108. Sy B. Leticia. (2006). Propolis extracts exhibit an immunoregulatory activity in an OVA-Sensitized airway inflammatory animal model. *International Immunopharmacology*. 6 (7), 1053-1060.
109. Tiraboschi Nora, (2005). Brote de candidemia por *Candida albicans* en neonatología. *Revista Iberoamericana de Micología* 24, 263-267.
110. Trusheva, Todorov (2010) .Antibacterial mono-and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis. *Chemistry Central Journal*. 4 (8), 1-4.
111. Uzel Ataç (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Antolian propolis samples. *Microbiological Research*. 160,189-195.
112. Vaishnavi Chetana (2008). Speciation of Fecal *Candida* Isolates in Antibiotic-Associated Diarrhea in Non-HIV Patients *Jpn. J. Infect. Dis*. 61 (1), 1-4
113. Vassya Bankova (2005) Recent trends important developments in propolis research. *Evidence based Complementary and Alternative Medicine*. 2 (1), 29-32.
114. Vassya Bankova (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standarization. *Journal of Ethnopharmacology*. 100,114-117.
115. Veer P, Patwardhan (2007). Study of onychomycosis: Prevailing fungi and pattern of infection. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 25 (1), 53-56.
116. Wanjari K. (2008). Congenital tuberculosis with candidal sepsis in a neonate. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 21 (2), 289-291.
117. Whyte R. K. (1982). Antenatal infections with *Candida* species. *Archives of Disease in Childhood*. 57, 528-535 .
118. Yon, Albisu (2006). Dermatología neonatal en atención primaria, diagnóstico visual. XXIII Jornada de Pediatría de Gipuzkoa
119. Zhou, Li, Zhao (2008). Geographical traceability of propolis by high-performance liquid-chromatography finger prints. *Food Chemistry*. 108, 749-759.
120. Zhu Wei, Chen Minli (2010). Biological activities of Chinese propolis and Brazilian propolis on Streptozotocin-Induced type 1 Diabetes mellitus in Rats. *Evidence based Complementary and Alternative Medicine*,1-8.



"EFECTO DE PROPÓLEOS DE *Apis mellifera* SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE CEPAS DE *Candida spp.* AISLADAS DE PACIENTES, ATENDIDOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES."

121. Zia U. Khan, (2007). Outbreak of Fungemia among Neonates Caused by *Candida haemulonii* Resistant to Amphotericin B, Itraconazole, and Fluconazole. *Journal Of Clinical Microbiology*. 2025-2027.



### 13.1 Índice de Abreviaturas

ATCC	American Type Culture Collection
CAS	Chemical Abstracts Service
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute
C.M.I.	Concentración Mínima Inhibitoria
EtOH	Etanol
E.E.P.	Extracto Etanólico de Propóleo
E.E.P. C 1	Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 1
E.E.P. C 2	Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 2
E.E.P. C 3	Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 3
E.E.P. C 4	Extracto Etanólico de Propóleo Comercial 4
E.E.P. de la F.E.S.C.	Extracto Etanólico de Propóleo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
F.E.S.C.	Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
IN	Infecciones Nosocomiales
INPerIER	Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes
µg/mL	microgramos por mililitro
mg/mL	miligramos por mililitro
mg/Kg	miligramos por Kilogramo
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
S.S.F.	Solución Salina Fisiológica
UCIN	Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
UFC/mL	Unidades formadoras de colonias por mililitro
UIM	Unidad de Investigación Multidisciplinaria

## 13.2 Índice de Figuras

Número de Figura	Contenido	Página
1	Cultivo de <i>Candida albicans</i> en agar Sabouraud	2
2	Morfología de <i>Candida albicans</i>	3
3	Candidiasis de pañal	10
4	Prueba de formación de tubos germinativos en medio YEPD	11
5	Diferentes especies de <i>Candida</i> en CHROM Agar <sup>TM</sup>	12
6	Estructura Química de algunos antimicóticos	13
7	Códice Tro-Cortesiano maya, que muestra un personaje divino encerrando a la abeja en la colmena	17
8	Estructura base de un flavonoide	18
9	Estructura Química de algunos constituyentes de propóleos de diferentes orígenes	19
10	Replicador Steers	31
11	Montaje de las Policubetas de inóculos del replicador Steers	34
12	Diagrama del procedimiento experimental para la obtención del E.E.P. de la F.E.S.C	37
13	Procedimiento experimental para la obtención de la C.M.I. del E.E.P. de la F.E.S.C	38
14	Diagrama experimental para conocer el porcentaje de inhibición de Cepas de <i>Candida spp.</i> en placas con los E.E.P. Comerciales	39
15	Resultados de controles	48
16	Cepas desarrolladas en los medios con el E.E.P.C 1. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C	49
17	Cepas desarrolladas en los medios con el E.E.P.C 2. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C	50
18	Cepas desarrolladas en los medios con el E.E.P.C 3. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C	51
19	Cepas desarrolladas en los medios con el E.E.P.C 4. Lectura a las 48 Horas. Incubación a 37°C	52

### 13.3 Índice de Tablas

Número de Tabla	Contenido	Página
1	Taxonomía para <i>Candida spp</i>	2
2	Especies de <i>Candida spp.</i> aisladas en muestras Clínicas de Recién nacidos en el Instituto nacional de Perinatología en un periodo de 2002 a 2006	6
3	Mecanismos de defensa ante una infección por <i>Candida spp.</i>	7
4	Candidiasis superficiales	8
5	Candidiasis profundas	9
6	Factores del riesgo para Candidiasis	10
7	Clasificación de antimicóticos	13
8	Respuesta de resistencia de especies de <i>Candida</i> a compuestos azolicos	15
9	Investigaciones Apícolas en diversas Instituciones de México. (Guzmán 2004)	21
10	Volúmenes necesarios para la preparación de placas con diluciones del E.E.P. de la F.E.S.C. en el medio	34
11	Preparación de placas con diluciones del E.E.P. de la F.E.S.Cuautitlan en el medio	36
12	Preparación de placas con diluciones de los E.E.P. Comerciales	36
13	Resultados obtenidos de las Cepas desarrolladas con los E.E.P.	41
14	Determinación de la CMI de la cepa de referencia con el E.E.P. de la F.E.S.C.	42
15	Distribución de Cepas desarrolladas	43
16	Distribución de Cepas desarrolladas para mujeres adultas	43
17	Distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. albicans</i>	43
18	Distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. parapsilosis</i>	44
19	Distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. spp</i>	44
20	Resultados de Incubación de las Cepas en los medios con el E.E.P. de la F.E.S.C., Lectura a las 48 Horas	45
21	Resultados de Lecturas a las 48 horas de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias obtenidas con el E.E.P. de la F.E.S.C.	46
22	Resultados de Lecturas a las 48 horas de las cepas desarrolladas con las distintas Concentraciones del E.E.P. de la F.E.S.C.	47
23	Valores obtenidos de las Cepas desarrolladas con el E.E.P. Comercial 1	49
24	Valores obtenidos de las Cepas desarrolladas con el E.E.P. Comercial 2	50
25	Valores obtenidos de las Cepas desarrolladas con el E.E.P. Comercial 3	51
26	Valores obtenidos de las Cepas desarrolladas con el E.E.P. Comercial 4	52
27	Comparativo del Porcentaje de Inhibición con 2 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos	53
28	Comparativo del Porcentaje de Inhibición con 4 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales	53
29	Tabla ANOVA del Análisis de Varianza para los resultados de la actividad de los Extractos Etanólicos de Propóleos	54

### 13.4 Índice de Gráficos

Número de Figura	Contenido	Página
1	Gráfico de la distribución de <i>Candida</i> por edad en el Hospital General Dr. Manuel Gea González	4
2	Gráfico de Incidencias por <i>Candida spp.</i> en el Hospital Infantil de México Federico Gómez	5
3	Gráfico de la frecuencia por año de la infección nosocomial por <i>Candida spp.</i> en el Hospital Dr. Rigoberto Aguilar Pico en un periodo de 2002 a 2007	6
4	Gráfico de la distribución de Cepas desarrolladas	44
5	Gráfico de la distribución de Cepas desarrolladas para mujeres adultas	44
6	Gráfico de la distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. albicans</i>	44
7	Gráfico de la distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. parapsilosis</i>	45
8	Gráficos de la distribución del origen de las muestras para Cepas de <i>C. spp</i>	45
9	Gráfico de los resultados de Lecturas a las 48 horas de las C.M.I. obtenidas con el E.E.P. de la F.E.S.C.	46
10	Gráfico de los resultados de Lecturas a las 48 horas de las cepas Desarrolladas con el E.E.P. de la F.E.S.C.	47
11	Gráfico comparativo del Porcentaje de Inhibición con 2 mg/mL de los medios con los Extractos Etanólicos de Propóleos	53
12	Gráfico comparativo del Porcentaje de Inhibición con 4 mg/mL de los Extractos Etanólicos de Propóleos Comerciales	54
13	Gráfico de las Cepas desarrolladas en los medios con los Extractos Etanólicos de Propóleos	55