



---

**PROPIEDADES QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE MEMBRANAS DE  
QUITOSANO/PROPÓLEO CON UTILIDAD PARA REGENERACIÓN TISULAR  
EN CAVIDAD BUCAL.**

**Leo, Marisen<sup>1</sup>., Martínez, Leonardo<sup>1</sup>., Rincón, Fernando<sup>1</sup> y Ortiz, Reynaldo<sup>2</sup>.**

- 1- Cátedra de Anatomía Humana, Departamento de Biopatología. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**
- 2- Laboratorio de Electroquímica. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.**

**CORRESPONDENCIA:** Avenida 3, Independencia. Edificio el Rectorado. Catedra de Anatomía Humana.

**Email:** [marisenleo@gmail.com](mailto:marisenleo@gmail.com)

**RESUMEN**

Ante procedimientos que involucren lesiones tisulares en la cavidad bucal, se generarán reacciones inflamatorias, por ello se han incorporado técnicas de regeneración tisular guiada y expansión de tejidos blandos, a fin de restaurar la forma y la función del tejido afectado. Con ese objetivo, en este trabajo se prepararon membranas de quitosano y propóleo para analizar algunas de sus propiedades químicas y microbiológicas con miras a su posible



utilidad en la regeneración de tejidos blandos en la cavidad bucal. Se realizó un estudio con nivel descriptivo y diseño pre-experimental, con una muestra de 9 fracciones de 3 membranas de quitosano/propóleo. Se determinó el pKa de las membranas de quitosano mediante curvas de titulación potenciométrica. Se realizaron estudios de liberación controlada de propóleo mediante la elaboración de curvas de calibración espectrofotométrica y se realizó un estudio microbiológico de susceptibilidad microbiana de *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*, frente a las membranas. Se encontró que la obtención de las membranas de quitosano/propóleo, resulta de un proceso simple, estándar, reproducible y accesible económicamente, por lo cual podría ser una alternativa viable en la práctica clínica, en vista de la propiedad mucoadhesiva, efectivo proceso de liberación de propóleo controlada y efectividad antimicrobiana frente a las cepas estudiadas.

**PALABRAS CLAVE:** Regeneración tisular guiada, expansión de tejidos blandos, quitosano, propóleo.

**CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF CHITOSAN /  
PROPOLIS MEMBRANES WITH UTILITY FOR TISSUE REGENERATION IN  
ORAL CAVITY.**

**ABSTRACT**

In the event of procedures involving tissue lesions in the oral cavity, inflammatory reactions will be generated; therefore, guided tissue regeneration and soft tissue expansion techniques have been incorporated to restore shape and function of the affected tissue. With this aim, in this work, chitosan and propolis membranes were prepared to analyze some of their chemical



and microbiological properties, for their possible usefulness in the regeneration of soft tissues in the oral cavity. Study with a descriptive level and pre-experimental design was performed, with a sample of 9 fractions of 3 chitosan / propolis membranes. The pKa of the chitosan membranes was determined by potentiometric titration curves. Controlled release of propolis studies were carried out by means of spectrophotometric calibration curves, and finally a microbiological study of the microbial susceptibility from membranes front *Pseudomona aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* was performed. Preparation of chitosan/propolis membranes was found to result from a simple, standard, reproducible and economically accessible process, making it a viable alternative in clinical practice, due to of mucoadhesive properties, controlled propolis release and antimicrobial effectiveness front to the studied strains.

**KEYWORDS:** Guided tissue regeneration, soft tissue expansion, chitosan, propolis.

## INTRODUCCIÓN

El avance de las especialidades odontológicas, trae consigo el desarrollo de nuevas técnicas y el empleo de nuevos materiales que han ayudado a incrementar el conocimiento científico y a mejorar el diagnóstico y plan de tratamiento en el área de la salud bucal. Ante los procedimientos que involucran lesiones tisulares en cavidad bucal, los tejidos

blandos siempre reaccionan con inflamación (entre otros signos y síntomas), que pueden exacerbarse por factores propios de la técnica quirúrgica o del paciente (1, 2).

Razón por la cual, se han incorporado técnicas que involucran los principios de regeneración tisular guiada (RTG) y expansión de tejidos blandos, buscando restaurar forma y función, devolviendo la



arquitectura del tejido lesionado, favoreciendo el cierre oportuno de las heridas quirúrgicas; resultando de estas técnicas el empleo de biomateriales que promueven un enfoque biológico (3, 4).

Entre los enfoques biológicos, se propone el uso de biopolímeros naturales, siendo el quitosano uno de ellos. El quitosano, es un biopolímero, biocompatible, biodegradable y no tóxico, que se obtiene del exoesqueleto de crustáceos a partir de la desacetilación de la quitina (5) y es empleado en odontología en la curación de heridas (2, 6-9). Presenta propiedades hemostáticas, aumenta la actividad osteoblástica, por lo que ha sido utilizado en regeneración ósea guiada y gracias a la buena adaptación celular que posee también se ha empleado en la regeneración tisular guiada (2, 10).

El propóleo, material pegajoso de color oscuro que recolectan las abejas, es otro elemento terapéutico propuesto, que posee propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales y

antioxidantes (11-13), con grandes potencialidades para el tratamiento como anticaries (14-16), antimicótico (16), antiviral, analgésico (17), anestésico (18), sedante (19), e inmunomodulador (20, 21). En odontología, son diversas las investigaciones que ponen de manifiesto las propiedades del quitosano (2) y del propóleo (11), en el caso del quitosano se demostró a través de la evidencia clínica la regeneración osteomucosa producida por membrana de quitosano (9), la efectividad de los liposomas de quitosano en la regeneración ósea alveolar postextracción dental (2), de las esponjas de quitosano como materiales de andamiaje para crecimiento osteoblástico (22) y el quitosano como coadyuvante en el tratamiento de la periodontitis crónica (23).

Por otro lado, sobre el propóleo, se evidencia que tiene acción antimicrobiana y de medicación intraconducto a corto plazo frente a cepas estandarizadas de *E. faecalis* (24). Pudiendo ser usado con éxito



en el tratamiento de la enfermedad periodontal, como medio de conservación, en epitelización de heridas y aceleración de la cicatrización (25), en pacientes con alveolitis (26), contra algunas bacterias anaerobias estandarizadas que causan infecciones en cavidad bucal (27). En conjunto el quitosano y el propóleo se han empleado como barniz de liberación sostenida a base de quitosano, para prevención de la caries (28), así como en la elaboración de un gel de quitosano/propóleo para comparar la eficacia de este sobre las cepas *Enterococcus faecalis* (29).

A pesar de los beneficios antes expuestos de ambos biomateriales, no se encontraron estudios previos acerca de propiedades químicas de membranas de quitosano/propóleo, propiedades tales como: pKa, condicionante de la capacidad bioadhesiva de las membranas y velocidad de liberación de propóleo desde la membrana de quitosano, propiedad relevante, pues al implementar tecnologías

de liberación controlada se presentan ventajas de dosificación con respecto a otras presentaciones.

En vista de los pocos estudios en relación a ésta temática, en busca de proporcionar a la práctica clínica una alternativa simple, estándar y reproducible que acelere la cicatrización y potencie la actividad antimicrobiana para la regeneración de tejidos blandos, se propone como objetivo de este trabajo analizar las propiedades químicas de las membranas de quitosano/propóleo de posible utilidad en la regeneración de tejidos blandos en cavidad bucal.

#### METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de nivel descriptivo, bajo un diseño pre-experimental. Las variables fueron el valor pKa cuyo indicador estuvo representado por los valores arrojados por la titulación ácido-base, menor a 6 fue inadecuado y mayor o igual a 6-6,5 adecuado, velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, variable que tuvo como



indicador la respuesta espectroscópica de los componentes del propóleo, identificando la presencia de liberación sostenida y proporcional en el tiempo, y susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a las membranas de quitosano/propóleo, variable que tuvo como indicador la presencia o ausencia de halos de inhibición.

Los procedimientos químicos para la obtención del compuesto de quitosano/propóleo, se llevaron a cabo a través del procedimiento estandarizado del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (ULA), (4). Para ello se preparó una solución de quitosano pesando 5 gr quitosano, Quitosan®, GUINAMA certificado para uso médico, colocándolo en 2 ml de ácido acético al 99 %, y luego enrasando en un matraz aforado de 100 ml y dejándolo en agitación constante por 12 horas

obteniendo un gel de quitosano ácido. El volumen total de la solución de quitosano fue doblemente filtrado para eliminar las impurezas que pudieran contaminar la solución.

Luego de obtenida la solución ácida de quitosano al 5% se procedió a dispersar la solución ácida de quitosano en cápsulas de plástico. Se realizaron una serie de ensayos en la elaboración de las membranas a fin de escoger las menos quebradizas y de fácil manipulación. De esta forma se optimizó el procedimiento para preparar 3 membranas de quitosano/propóleo, agregando 2 cc de quitosano como medida estándar para todas las membranas y variando solo la cantidad de propóleo al 4%, así la membrana nro 1, fue elaborada con 1 cc de propóleo, la nro 2 con 1,5 cc y la nro 3 con 2 cc, introduciéndose en una estufa de calor seco a 40° C durante 16 horas con la finalidad de evaporar completamente la fase líquida, obteniendo la deshidratación del compuesto, en una fina película. Las membranas en envases



plásticos fueron sometidas finalmente a una esterilización con luz ultravioleta, en un equipo Beautytech ®. Las membranas estudiadas representaron 3 grupos (P1, P2, P3), cada membrana, representante de cada grupo, se fraccionó para obtener 9 muestras (P1a, P1b, P1c, P2a, P2b, P2c, P3a, P3b y P3c), con el fin de comprobar la homogeneidad de las mismas.

Una vez elaboradas las membranas de quitosano/propóleo, se determinó el pKa de la solución ácida de quitosano, empleando el método potenciométrico, titulación ácido-base. El procedimiento para calcular el pKa de las películas, se basó en disolver la película en la cantidad mínima de HCl diluido y luego realizar una curva de titulación con una solución de NaOH 0,05 M, que en éste caso se realizó utilizando un pHmetro SperScientific, modelo Benchtop Water Quality Meter 860033.

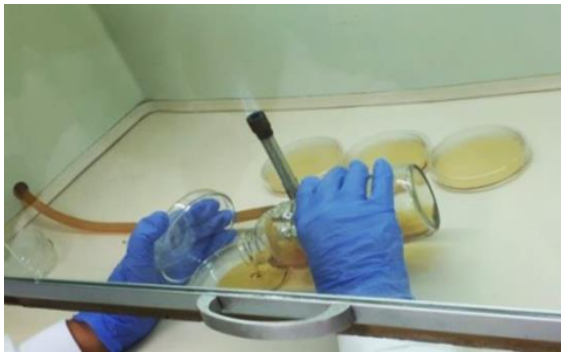
Como una primera aproximación para los estudios de liberación de propóleo *in vitro*, se escogió como medio de liberación agua

destilada, por tratarse del medio que menos complicaciones introduce al sistema. Inicialmente, se realizó un espectro patrón de una solución 0,04 % de propóleo, para obtener una señal que identifique su liberación de las membranas en agua destilada, empleando para este y todos los experimentos, un espectrofotómetro Marca Perkin-Elmer modelo lambda 25 de doble haz, acoplado a un sistema computarizado y controlado mediante el software *UV WinLab* y celdas de cuarzo de 1 mm de camino óptico.

Posteriormente las distintas series de cortes de las películas, se sumergieron en agua destilada en la parte inferior de la cubeta de muestreo del espectrofotómetro, para permitir que el propóleo fluyera libremente de la membrana a la fase líquida y así ir tomando espectros UV-visible a distintos tiempos, para obtener el valor de absorbancia a 280 nm que es directamente proporcional a la concentración de propóleo y así

determinar si se produce y como es la naturaleza del proceso de liberación.

Por último, se analizó el componente microbiológico, a través de la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, empleando aquella membrana



**Figura 1. Preparación de medios de cultivo.**  
Fuente: Propia.

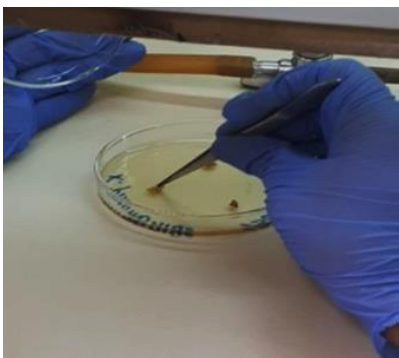
con mayor cantidad de propóleo (0,5 ml) que mantuviera las mejores propiedades físicas, a fin de alcanzar una más rápida concentración de propóleo en la totalidad del medio de cultivo. Este estudio fue realizado a través de un método de difusión en agar, mediante el uso de la técnica Kirby-Bauer, prueba que permite medir *in vitro* la susceptibilidad de patógenos y fitopatógenos, frente a una sustancia desconocida. Dicha prueba para fines del presente estudio fue modificada al emplear membranas cortadas de forma rectangular. Para la realización de ésta prueba, se prepararon los medios de cultivo Agar Muller Hinton, tal como se observa en la figura 1.

Posteriormente se inoculó al 2% el medio, fundido y temperado a 45° C con una suspensión 0,5 McFarland de la bacteria patógena a evaluar y se dejó solidificar.

Por último, dos membranas con una concentración de 0,5 ml fueron recortadas



con forma rectangular en tres porciones cada una, y colocadas sobre los medios preparados, como se puede observar en la figura 2. Al colocar las porciones de membrana en el agar se hizo ligera presión para garantizar un contacto adecuado. Estas se ubicaron a 15 mm o más del borde de la caja Petri a fin de que no se produjera ninguna interferencia entre los halos de inhibición, colocando solo tres membranas por caja dejando incubarse a 37°C por 24 horas para realizar después del periodo de incubación la lectura de los halos de inhibición al reverso de la caja Petri



**Figura 2. Colocación de membranas en medios de cultivo.**  
Fuente: Propia.



**Figura 3. Observación de halos de inhibición con el contador de colonias.**  
Fuente: Propia.

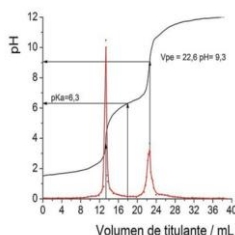
observando los resultados para su posterior interpretación (figura 3). En el caso de presentarse crecimientos totalmente asimétricos éstos fueron excluidos de la medición.

## RESULTADOS

### Determinación potenciométrica del pKa

En todas las muestras estudiadas la presencia de propóleo en las películas no afectó la forma de la curva y los valores de pKa obtenidos en ambos casos fueron los mismos, lo cual implica que el propóleo en

estas condiciones carece de actividad ácido-base y no influye sobre el valor del pKa del quitosano, esto puede evidenciarse en la curva de titulación potenciométrica que se muestra en la figura 4.



**Figura 4.** Curva de titulación potenciométrica de muestra representativa de los grupos de películas de quitosano en estudio, una vez disuelta en HCl.

El volumen gastado de NaOH entre el primer punto y el segundo punto de inflexión, es la cantidad de NaOH que se requiere para deprotonar todo el quitosano, la mitad de ese volumen ( 17,9 mL de NaOH), es el volumen para deprotonar la mitad del quitosano, por lo tanto en este el  $\text{pH} = \text{pKa} = 6,3$ . Este mismo procedimiento se siguió para las películas

de quitosano y quitosano/propóleo obteniéndose con mayor frecuencia un valor de pKa de  $6,3 \pm 1$ .

### Estudio de liberación de propóleo

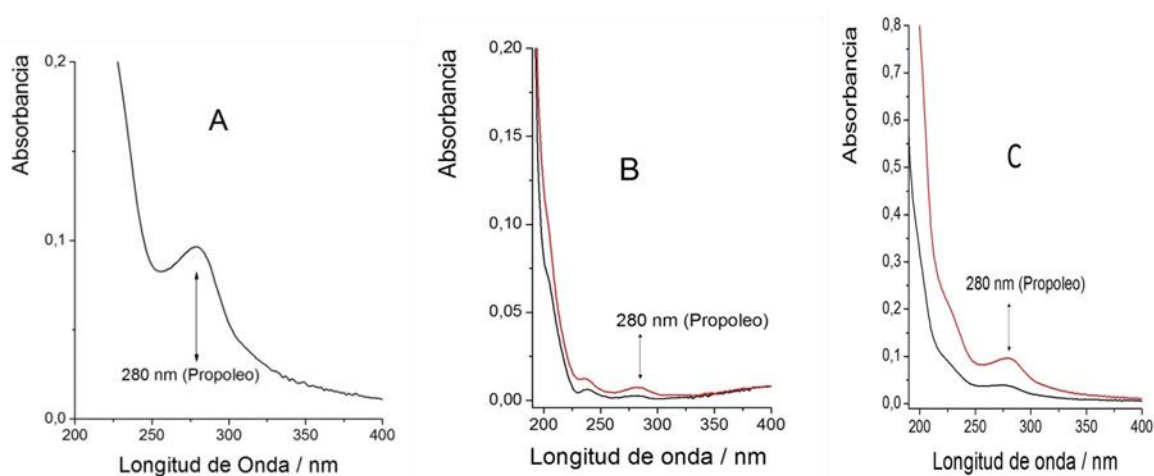
En la figura 5A se muestra el espectro UV-visible obtenido para una solución muy diluida de propóleo al 0,04 % en agua destilada, en este se puede observar un máximo de absorbancia a 280 nm, el cual se puede atribuir a uno o varios de los componentes de la compleja mezcla de sustancias los cuales conforman al propóleo. En relación al proceso de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, se evidenció para el espectro obtenido de una película de quitosano/propóleo inmersa en agua destilada, un pico de absorbancia a 280 nm, el cual se incrementa a medida que se adquieren espectros a distintos tiempos (Figuras 5B y 5C), demostrando que existe

desprendimiento del propóleo en el tiempo.

Realizando un estudio detallado a distintos tiempos de liberación para las películas escogidas, se encontró una respuesta lineal de absorbancia en el tiempo, lo que implica que la concentración en el seno de la solución aumenta gradualmente, liberándose aproximadamente la misma cantidad de fármaco por unidad de tiempo, observándose además que al aumentar la cantidad de propóleo de la película, la

velocidad de liberación también aumenta en forma proporcional, pues la pendiente de la recta aumenta, tal como se evidencia en la figura 6.

Los resultados obtenidos para comprobar si las películas de quitosano/propóleo eran homogéneas, demuestran que la pendiente de la curva obtenida para cada porción no difiere de forma significativa, lo cual implica que la composición de las mismas es bastante homogénea (figura 6).

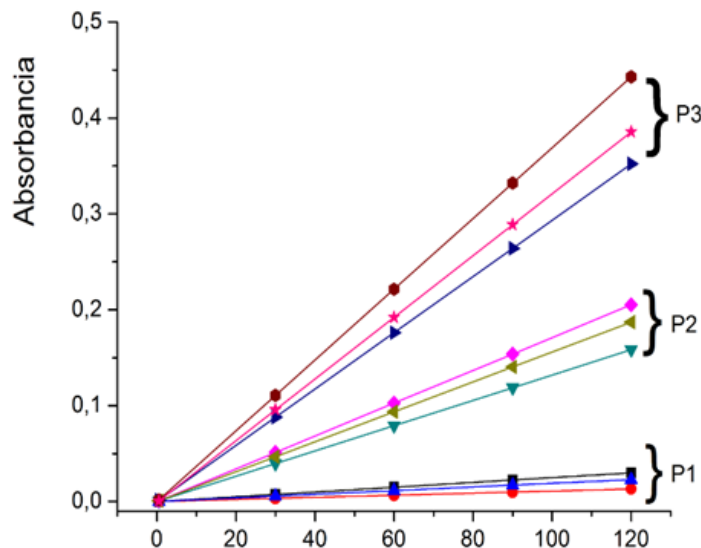


**Figura 5.** Respuesta espectrofotométrica del propoleo y las películas de quitosano/propoleo a distintos tiempos de inmersión en agua destilada A) Solución diluida de propoleo, B) película de quitosano/propoleo después de 5 y 60 segundos de inmersión, C) película de quitosano/propoleo después de 60 min y 24 horas de inmersión.

### Componente Microbiológico

En relación a los resultados obtenidos para determinar la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC23357 frente a las membranas de quitosano-propóleo con concentración de 0,5 ml, se evidenció susceptibilidad de las cepas bacterianas empleadas en la prueba por triplicado realizada para cada bacteria, pues se observaron zonas de inhibición

(espacios en los que no se produjo crecimiento bacteriano), alrededor de cada porción rectangular de las membranas de quitosano/propóleo colocadas en los medios de cultivo (figura 7).



**Figura 6.** Curvas de concentración de grupos estudiados P1 (0,3 ml), P2 (0,4 ml) y P3 (0,5 ml), en función de intervalos de tiempo constantes.



**Figura 7.** Zonas de inhibición en el crecimiento bacteriano de *P. aeruginosa* (izquierda) y *K. pneumoniae* (derecha).

**Fuente: Propia.**

## DISCUSIÓN

En relación a los resultados evidenciados en la determinación del valor pKa, se demuestra en concordancia con Cortés y Alvares, 2008 (30), que la presencia de propóleo en las películas no afecta la forma de la curva ni los valores de pKa que caracterizan los grupos aminos del quitosano, es decir, se mantienen

invariables las características y por tanto propiedades físicas del mismo.

Igualmente, se refleja que las membranas de quitosano/propóleo poseen un potencial de disociación (pKa) que oscila entre 6,2 y 6,5, en concordancia con los estudios de Barrios, 2012 (31), James, 2011 (32), Duarte et al, 2016 (33) y Suárez *et al*, 2011 (9), representando éstos, valores positivos, que según la literatura clínicamente justifican una propiedad mucoadhesiva de los compuestos estudiados a membranas corporales que poseen carga negativa,



haciéndolos biomateriales ideales para transporte de drogas a través de las superficies epiteliales (30),(34).

Con respecto a la identificación de la velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, así como la homogeneidad en su composición, a través del uso de espectroscopia UV-visible, se observa que el desprendimiento del propóleo en el tiempo es lineal, siendo éste un mecanismo de liberación ideal, cuando se quiere conseguir una acción farmacológica prolongada, ya que al implementar tecnologías de liberación controlada se presentan ventajas de dosificación con respecto a otras presentaciones, entre ellas se encuentran la disminución de los efectos colaterales secundarios, el tiempo de actividad prolongado, y el brindar protección a fármacos sensibles contra los ataques enzimáticos o degradación ácida debido al pH local, todo lo expuesto constatado por

Leonardi *et al*, 2015 (35) y por Arias *et al*, 2012 (36).

Dadas las propiedades del quitosano como polímero bioadhesivo, además de incrementador de la absorción, se evidencia que promueve el paso de fármacos a través de la barrera mucosa, este se convierte en un potencial sistema para aplicaciones en liberación controlada, prolongando el tiempo de contacto en el sitio de absorción, sosteniendo el perfil de liberación y mejorando la biodisponibilidad de fármacos ello en concordancia con Barrios, 2012 (31), Leonardi *et al*, 2015 (35), Arias *et al*, 2012 (36) y Harris, 2010 (37).

En relación al componente microbiológico, destinado a la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, los resultados demostraron



susceptibilidad de ambos microorganismos en presencia de la membrana elaborada, visto a través de la presencia de halos de inhibición. Tal como se evidencia en los estudios de Leo *et al*, 2014 (1), Partir *et al*, 2007 (38), Cortés *et al*, 2008 (30), y del propóleo en correspondencia con Premoli *et al*, 2010 (11), Gil *et al*, 2010 (39) y Carrillo *et al*, 2011 (40).

## CONCLUSION

La obtención en laboratorio de membranas de quitosano/propóleo, resulta de un proceso simple, estándar, reproducible y accesible económicamente, por lo cual podría ser considerado como una alternativa viable en la práctica clínica. En relación al componente químico estudiado en la presente investigación los resultados sobre determinación de pKa de membranas de quitosano/propóleo, demuestran que la presencia de propóleo en las películas no

afecta la forma de la curva y los valores de pKa de los grupos aminos del quitosano, por lo cual las membranas conservan las propiedades mucoadhesivas que caracterizan al quitosano (30), manteniendo esa capacidad de liberación de fármacos.

Con respecto a la velocidad de liberación de propóleo de las membranas en agua destilada, objetivo cumplido mediante espectroscopia UV-visible, se evidencia un desprendimiento del propóleo en el tiempo es lineal, lo que implica que la concentración en el seno de la solución aumenta gradualmente, siendo ésta una liberación controlada, prolongando el tiempo de contacto en el sitio de absorción, sosteniendo el perfil de liberación y mejorando la biodisponibilidad (31). Sin embargo, el valor de velocidad no pudo ser calculado por el desconocimiento de la cantidad exacta de cada componente del propóleo por ser este una sustancia natural con gran diversidad de componentes.



El análisis del componente microbiológico, dado a través de la determinación de la susceptibilidad de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357 frente a membranas de quitosano-propóleo, empleando la prueba de Kirby-Bauer, refleja un resultado positivo evidenciado por la presencia de halos de inhibición en ambos cultivos a las 24 horas de ser incubados.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores quieren expresar su mayor agradecimiento al Laboratorio de Electroquímica del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones "Prof. Celina Araujo de Pérez" Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la ilustre Universidad de Los Andes, por haber permitido realizar

gran parte de este trabajo en sus instalaciones, así como por todo el apoyo suministrado.

#### DECLARACION DE CONFLICTOS DE INTERES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

#### REFERENCIA

1. Leo M, Parra S, Peña M, Martínez L, Oballos M. Biomateriales Para La Regeneración Del Reborde Alveolar: Revisión. Acta Bioclínica [Internet]. 2014;77–100. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/4965/4787>
2. Quiroz S, Suárez D, Mantilla A, Velazco G, González A, J. M. Efectividad de los liposomas de





- quitosano en la regeneración ósea alveolar de terceros molares mandibulares retenidos. Revista Europea de Odontoestomatología. Rev Eur Odontoestomatol [Internet]. 2016;14. Available from: <http://www.redoe.com/ver.php?id=237>
3. Bascones A, Ibero I, Castro J, Lizardo P. Revisión de los estudios comparativos entre regeneración tisular guiada V cirugía mucogingival en el tratamiento de recesiones gingivales. Av en Periodoncia e Implantol Oral [Internet]. 2000;12(1):9–27. Available from: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852000000100002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852000000100002)
4. Velazco G, Gonzáles A, Ortíz R, Yépez J. Membranas tridimensionales de hidroxiapatita y quitosano como terapéutica en regeneración ósea guiada. Estudio de caso. Int Association Dent Res [Internet]. 2014;2(1):27–34. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/rvio/article/view/4838>
5. Suárez D, García C, Velazco G, Ortiz R, González A. Biogel de Quitosano a partir de la desacetilación termoalcalina de conchas de camarón propuesta para el tratamiento de la estomatitis subprotésica. Rev Odontológica los Andes [Internet]. 2009;4(2):5–12. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.http://www.actaodontologica.com/ediciones/2014/2/art-2/odontoula/article/view/7199/7071>
6. Rodríguez A, Ramírez M, Rivero D, Bosquez E, Barrera L, Bautista S. Propiedades Químico-Estructurales Y Actividad Biológica De La Quitosana En



- Microorganismos Fitopatógenos. Rev Chapingo Ser Hortic [Internet]. 2009;15(3):307–17. Available from: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2009000500012](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2009000500012)
7. Ying H, Wang W, Tang X, Liu X. Osteogenic induction of bone marrow mesenchymal cells on electrospun polycaprolactone/chitosan nanofibrous membrane. Dent Mater J [Internet]. 2017; Available from: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/advpub/0/advpub\\_2016-203/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/advpub/0/advpub_2016-203/_article)
8. Gómez C, Padilla M, Martínez V, Vaca F. Quitosana: alternativa terapéutica. Rev Mex Periodontol [Internet]. 2013;4(3):120–2. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/periodontologia/mp-2013/mp133e.pdf>
9. Suárez D, García C, Yépez J, González A, Velazco G. Regeneración Osteomucosa con Membrana de Quitosano: Reporte de un caso. Rev Eur Odontoestomatol [Internet]. 2011;18:33–9. Available from: <http://www.redoe.com/ver.php?id=122>
10. Wang M, Roy AK, Webster T. Development of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Electrospun Nanofibers for Infection Related Wound Healing. Front Physiol [Internet]. 2017;7(January):2016–8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2016.00683/full>
11. Premoli G, Laguado P, Díaz N, Romero C, Villareal J, González A. Uso del propóleo en Odontología. Acta Odontológica Venez



- [Internet]. 2010;48(2):1–13. Available from: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/2/art22.asp>
12. Vagish L. Propolis in dentistry and oral cancer management. *N Am J Med Sci* [Internet]. 2014;6(6):11–20. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4083525/>
13. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* [Internet]. 2002;73(SUPPL. 1):1–6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12495704>
14. Libério S, Pereira A, Araújo M, Dutra R, Nascimento F, Monteiro-Neto V, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2009;125(1):1–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19422903>
15. Reyes V. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de propóleo peruano sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica [Internet]. Universidad Mayor de San Marcos.; 2010. Available from: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3273/1/Reyes\\_cc.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3273/1/Reyes_cc.pdf)
16. Kukreja B, Dodwad V. Propolis mouthwash: A new beginning. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2011;15(2):121. Available from: <http://www.jisponline.com/text.asp?2011/15/2/121/84379>
17. Cerda E. Efecto inhibitorio de cepa enterococcus faecalis usando propóleos ecuatorianos , gluconato de clorhexidina e hiplocorito de sodio: In vitro. [Internet].



- Universidad Central de Ecuador; 2017. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/8278/1/T-UCE-0015-453.pdf>
18. Vaculik P, Rosende O, Cardozo J, Pérez S, Ramírez C. Acción antimicrobiana de extracto etanólico de propóleos sobre estreptococos mutans. 2014;16:81–6. Available from: <http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/ODONTOLOGIA/article/view/104/PDF>
19. Bravo A, Díaz L, Gónzales L. Tratamiento de la alveolitis dental con tintura de Treatment of dental alveolitis with 5 % propolis tincture. Rev Cuba Farm [Internet]. 2012;46(1):97–104. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v46n1/far12112.pdf>
20. Noriega V. El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica. Curso de adaptación al grado. 2014.
21. Miranda M, Panis C, Depieri A, Da Silva S, Kawakami N, Lopes L, et al. Nitric oxide and Brazilian propolis combined accelerates tissue repair by modulating cell migration, cytokine production and collagen deposition in experimental leishmaniasis. PLoS One [Internet]. 2015;10(5):1–19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973801>
22. Seol Y-J, Lee J-Y, Park Y-J, Lee Y-M, Young-Ku, Rhyu I-C, et al. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. Biotechnol Lett [Internet]. 2004;26(13):1037–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:BILE.0000032962.79531.f0>



23. Paz D, Sosa M, Dávila L, Velazco G, Arteaga S, Morales O, et al. Efectividad del Quitosano como coadyuvante en el tratamiento local de periodontitis crónica. *Acta Bioclínica* [Internet]. 2012;2(4):53–71. Available from: <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/actabioclinica/article/view/4184/3974>
24. Awawdeh L, Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study. *Aust Endod J* [Internet]. 2009;35(2):52–8. Available from: [http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1747-4477.2008.00125.x/epdf?r3\\_referer=wol&tracking\\_action=preview\\_click&show\\_checkout=1&purchase\\_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase\\_site\\_license=LICENSE\\_DENIED](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1747-4477.2008.00125.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED)
25. Felitti R. Propóleo en Odontología. Usos y aplicaciones. *Atas Odontológicas* [Internet]. 2014;11(1):30–7. Available from: <http://revistas.ucu.edu.uy/index.php/actasodontologicas/article/viewFile/967/959>
26. Gómez Y, Pardillo L, Sánchez L, Diaz L. El uso del propóleos al 5% en el tratamiento de la alveolitis. 2008;10(1). Available from: [http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.\(1\)\\_06/vol.10.1.06.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/gme/pub/vol.10.(1)_06/vol.10.1.06.pdf)
27. Ozen T, Kilic A, Bedir O, Koru O, Sorkun K, Tanyuksel M, et al. In vitro Activity of Turkish Propolis Samples Against Anaerobic Bacteria Causing Oral Cavity Infections. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* [Internet]. 2009;16(2):293–8. Available from: [http://vetdergi.kafkas.edu.tr/extdocs/2010\\_2/293\\_298.pdf](http://vetdergi.kafkas.edu.tr/extdocs/2010_2/293_298.pdf)



28. Franca J, Luca M, Ribeiro T, Castilho R, Moreira A, Santos V, et al. Propolis - based chitosan varnish : drug delivery , controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria. *BioMed Cent* [Internet]. 2014;14:1–11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25495921>
29. Luaces G. Actividad antimicrobiana in vitro del chitosan/propóleo en gel sobre el *Enterococcus faecalis* [Internet]. Universidad de Cuenca; 2017. Available from: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28167/1/TESIS PDF.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28167/1/TESIS%20PDF.pdf)
30. Cortés RJ, Cortés OJ, Alvarez SR. Quitosano : un Material con Propiedades Regenerativas y su Aplicación Clínica. *Rev Eur Odontol*. 2008;17:(47):55.
31. Lisbeth A, Barrios P. Diseño de una película de quitosán como sistema terapéutico farmacéutico alternativo para el tratamiento de úlceras cutáneas. Universidad Nacional de Colombia; 2012.
32. Elizabeth L, James A. Incorporación de nanopartículas en películas de Quitosano Quinoa. 2011.
33. Duarte M, Mano J, Paiva M, Alves N. Chitosan nanocomposites based on distinct inorganic fillers for biomedical applications. *Sci Technol Adv Mater* [Internet]. 2016;17(1):626–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14686996.2016.1229104>
34. Avila AJ, Costamagna V, Barrientos E, Pucci G, Strumia MC. Películas de quitosano con sorbato de potasio unido física y covalentemente. estudios de



- aplicación. 2010;11(2):73–87.
35. Rómulo Leonardi, José Páez, Lorena Bustillos, Reynaldo Ortiz, Gladys Velazco AG. Detección de la liberación del fluconazol cargado en un adhesivo protésico. ACTA BIOCLINICA. 2015;5(10):140–8.
36. Arias B, Ortiz R, Velazco G. Determinación de la velocidad de liberación de metronidazol incorporado en membranas de quitosano , utilizando voltimetría de pulso diferencial. Acta Bioclínica. 2012;2(3).
37. Harris RE. Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos. Universidad Complutense de Madrid; 2010.
38. Partir DA, Camarón DEEDE, Juan P, Lemus F, Alejandra L, Zimeri M, et al. Obtención y uso de Quitosano para tratamientos [Internet]. 2007. Available from: [http://www.fsalazar.bizland.com/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin07/URL\\_07\\_QUI01.pdf](http://www.fsalazar.bizland.com/LANDIVAR/ING-PRIMERO/boletin07/URL_07_QUI01.pdf)
39. Gil M, Colarusso V, Ferreira J, Ochoa G, Perozo E. Efecto de un extracto etanólico de propóleos sobre Pseudomonas aeruginosa en estado planctónico y sésil. Rev Salus. 2016;20:27–33.
40. Carrillo ML, Castillo LN, Mauricio R. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Propóleos de la Huasteca Potosina (México). Inf Tecnol. 2011;22(5):21–8.