



**UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS
DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA**

TESIS

**“COMPARACIÓN DE LA INHIBICIÓN HIDROALCOHÓLICA DE LA
Mentha spicata Y LA NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO
IN VITRO DE *Candida albicans*, JULIACA 2018”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA**

**PRESENTADO POR:
FLORENCIA SOFIA MAMANI HUAYHUA**

**ASESORA:
MG. BETSY QUISPE QUISPE**

Juliaca – Perú

2018

HOJA DE APROBACIÓN

FLORENCIA SOFIA MAMANI HUAYHUA

**“COMPARACIÓN DE LA INHIBICIÓN HIDROALCOHÓLICA DE LA
Mentha spicata Y LA NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO
IN VITRO DE *Candida albicans*, JULIACA 2018”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del Título de
Cirujano Dentista por la Universidad Alas Peruanas

CD. Paul Tineo Cayo
Nº de colegiatura: 19707
Secretario

CD. Milton Emilio Salcedo Molina
Nº de colegiatura: 21067
Miembro

CD. Cesar Pedro Mamani Catacora
Nº de colegiatura: 21070
Presidente

Juliaca – Perú

2018

A mis padres, por toda una vida de trabajo y esfuerzo que hicieron para darme una profesión, por los sacrificios, por la paciencia y comprensión incondicional que demostraron todos estos años.

Mi agradecimiento muy especial a mi asesora por todos sus consejos, su paciencia, su asesoría en el desarrollo de este trabajo y la confianza depositada en mí.

A mí Universidad Alas Peruanas, especialmente la Escuela Profesional de Estomatología por abrirme sus puertas y haber permitido formarme como una profesional.

De igual manera para todos los docentes que me brindaron sus conocimientos, experiencia y motivación que sirvieron de gran ayuda para la culminación de mi carrera profesional.

Resumen

Objetivo: Evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y la nistatina para inhibir el crecimiento fúngico in vitro en muestras de *Candida albicans*, Juliaca 2018.

Metodología, Investigación es de tipo cuantitativo, de nivel investigativo aplicativo, el tipo de estudio es transversal, prospectivo de diseño experimental; la muestra de n=30, luego de preparar el extracto etanolico de *Mentha spicata* al 70%, embebidos en discos filtros de difusión tipo Whatman N°3 se inocularon en medios de cultivos preparados con agar Saboraud glucosado con la siembra de *Candida albicans* a escala de turbides de Mcfarland 0.5, así también se utilizó como control a un antifúngico convencional de uso oral, Nistatina (Mycostatin ®) de 100 000 UI/ml embebido en discos de difusión; las muestras se llevaron a la incubadora a 37° Celsius por 24 horas, se midió el diámetros del halo inhibitorio con un calibrador Pie de Rey. **Resultados:** el extracto etanólico de *Mentha spicata* al 70% presentó una inhibición de crecimiento promedio de 7.27mm, con una desviación estándar de 0.86mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 6mm y el máximo de 9mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 14.8mm, con una desviación estándar de 1.03mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 13mm y el máximo de 17mm. **Conclusiones:** Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico in vitro en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.

Palabras clave: *Mentha spicata*, Mycostatin 100 000 UI/ml, Agar Sabouraud, discos filtros de difusión tipo Whatman, escala McFarland.

Abstract

Objective: To evaluate the hidroalcoholic extract of *Mentha spicata* and the nystatin to inhibit fungal growth *in vitro* in samples of *Candida albicans*, Juliaca 2018.

Methodology, Research is of quantitative type, of investigative level, the type of study is transversal, prospective of experimental design; the sample of n = 30, after preparing the ethanol extract of *Mentha spicata* at 70%, embedded in Whatman No. 3 diffusion filter discs were inoculated on culture media prepared with Sabouraud glucosado agar with the sowing of *Candida albicans* at scale of Mcfarland 0.5 turbidity, so a conventional oral antifungal drug, Nistatin (Mycostatin ®) of 100 000 IU / ml embedded in diffusion discs was also used as a control; the samples were taken to the incubator at 37 ° Celsius for 24 hours, the diameters of the inhibitory halo were measured with a foot gauge. **Results:** the ethanolic extract of *Mentha spicata* at 70% presented an inhibition of average growth of 7.27mm, with a standard deviation of 0.86mm, the minimum inhibitory halo was 6mm and the maximum of 9 mm, on the other hand the nystatin had an average of 14.8mm, with a standard deviation of 1.03mm, the minimum inhibitory halo was 13 mm and the maximum was 17 mm. **Conclusions:** When assessing the hidroalcoholic extract of *Mentha spicata* and nystatin to inhibit fungal growth *in vitro* in samples of *Candida albicans*, Juliaca 2018, there is a significant difference

Key words: *Mentha spicata*, Mycostatin 100 000 IU / ml, Sabouraud agar, whatman diffusion filter discs, McFarland scale.

LISTA DE CONTENIDO

Carátula	1
Hoja de aprobación.....	2
Dedicatoria.....	3
Agradecimiento.....	4
Resumen	5
Abstract.....	6
LISTA DE CONTENIDO	7
LISTA DE TABLAS	10
LISTA DE GRÁFICOS	11
INTRODUCCIÓN.....	12
CAPÍTULO I:.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.1. Descripción de la Realidad Problemática.....	13
1.2. Formulación del Problema.....	15
1.2.1. Problema General.....	15
1.2.2. Problemas Específicos	15
1.3. Objetivos de la Investigación	15
1.3.1. Objetivo General	15
1.3.2. Objetivos Específicos.....	16
1.4. Justificación de la Investigación	16
1.4.1. Importancia de la Investigación	17
1.4.2. Viabilidad de la Investigación.....	17
1.5. Limitaciones del Estudio	18

CAPÍTULO II:	19
MARCO TEÓRICO	19
2.1. Antecedentes de la Investigación.	19
2.2. Bases Teóricas	26
<i>2.2.1.1. Clasificación taxonómica:</i>	27
<i>2.2.1.2. Epidemiología</i>	28
<i>Factores predisponentes</i>	29
<i>Factores de patogenicidad</i>	31
<i>Mecanismos de defensa del huésped (11)</i>	32
2.2.2. Descripción del género Mentha	33
Compuestos activos	36
Toxicidad	38
2.2.4. Definición de la terminología	40
CAPÍTULO III	42
HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	42
3.1. Formulación de la Hipótesis principal y derivadas	42
3.1.1. Hipótesis General	42
3.1.2. Hipótesis Específicas.....	42
3.2. Variables	43
3.2.1. Operacionalización de Variables.....	44
CAPÍTULO IV	45
METODOLOGÍA	45
4.1. Diseño Metodológico	45
4.1.1. Tipo de Investigación	45

4.1.2. Nivel de Investigación	45
4.1.3. Diseño de la Investigación	45
4.2. Diseño muestral	45
4.2.1. Población y Muestra de la Investigación.....	46
4.3. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos.....	47
4.3.1. Técnicas	47
4.3.2. Instrumentos	50
4.3.3. Validez	50
4.4. Técnicas de Procesamiento de la información.....	50
4.5. Técnicas Estadísticas utilizadas en el análisis de la información	51
CAPITULO V.....	52
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	52
5.1. Análisis Descriptivo de Tablas y Gráficos	52
Comprobación de hipótesis	58
5.2. Discusión	59
CONCLUSIONES	62
RECOMENDACIONES	63
FUENTES DE INFORMACIÓN	64
ANEXOS	67
Anexo 01: Matriz de consistencia	67
Anexo 02: Carta de presentación	68
Anexo 03: Consentimiento informado	69
Anexo 04: Ficha de recolección de datos	70
Anexo 05: Matriz de datos	71

LISTA DE TABLAS

Pág.

TABLA N°1: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y nistatina, Juliaca 2018.....52

TABLA N°2: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*, Juliaca 2018.....54

TABLA N°3: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con nistatina, Juliaca 2018.....56

LISTA DE GRÁFICOS

Pag.

GRÁFICO N°1: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y nistatina, Juliaca 2018.....53

GRÁFICO N°2: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*, Juliaca 2018.....54

GRÁFICO N°3: Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida albicans* con nistatina, Juliaca 2018.....56

INTRODUCCIÓN

La *Candida albicans* es un hongo oportunista que causan infección fúngica en cavidad bucal de pacientes inmunocomprometidos, siendo esta dolorosa con características clínicas como una placa blanda y blanca en cavidad bucal, debajo de este material puede estar enrojecida aumentando la lesión; el odontólogo casi siempre puede diagnosticar esta lesión ayudada de la evaluación microscópica de una muestra bucal y el cultivo de las lesiones bucales, para el tratamiento de la Candidiasis bucal se dispone de antimicóticos específicos y/o sistémicos, limitándose en ciertas sociedades, lo que ha estimulado a la búsqueda de alternativas en los productos naturales como la *Mentha Spicata* llamadas comúnmente en las zonas andinas como Hierba Buena, con propiedades curativas, sumado a los trabajos de investigación se garantiza su producción de preparados que posteriormente serán de utilidad para la medicina.

Primeramente se presentan y exponen el problema de investigación y formulación, luego proseguir con la exposición de los objetivos general y específicos, a su vez la justificación, importancia y limitaciones del estudio, seguidamente los antecedentes internacionales y nacionales, y presentar las bases teóricas actuales del tema a tratar, después correctamente plantear la hipótesis principal y derivadas, prosiguiendo con la operacionalización de variables y explicando la metodología de la investigación especificando en el método, población y muestra, técnicas de recolección de datos, luego presentar los resultados así como su interpretación y análisis correspondiente, luego la discusión con los antecedentes citados, para finalmente mostrar las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la Realidad Problemática

El muget o candidiasis bucal es una lesión blanca que se define como una infección causada por un hongo oportunista del género *Cándida* (1), el término de candidiasis sólo se utiliza cuando se describe una lesión clínicamente visible en la cavidad bucal y cuyo causante es un microorganismo llamado *Cándida albicans*. La lesión puede variar en tamaño, forma y color, dependiendo en gran medida de los factores predisponentes a la enfermedad (2).

Cándida albicans es un hongo perteneciente a la clasificación de microorganismos oportunistas, su ocurrencia en la cavidad oral es de un 50% de los individuos sanos (3), comúnmente se encuentra en mayor porcentaje en pacientes adultos de tercera edad, neonatos, pacientes inmunosuprimidos, con enfermedades sistémicas, portadores de prótesis con malos hábitos de higienización.

La medicina tradicional peruana en el Perú, herencia de tiempos precolombinos, sigue siendo la primera instancia de consulta y tratamiento con estos productos naturales en gran parte de nuestro país. En ella las plantas medicinales ocupan un rol muy importante, con una variada flora de aproximadamente 80,000 especies.

Las plantas medicinales son usadas en las ciencias odontológicas de dos maneras: una mediante la información que la medicina tradicional provee y otra bajo la forma científica mediante preparados tales como pasta dental, pasta tópica, enjuagues bucales, colutorios, etc. para el tratamiento de gingivitis, aftas, odontalgias, procesos inflamatorios; como fungicidas y antibacterianos.

La planta *Mentha Spicata*. Conocida usualmente como hierba buena en la población alto Andina, es conocida desde la antigüedad por sus usos medicinales, estudios recientes le dan propiedades antimicrobianas y antioxidantes

En el Perú y sobre todo en la región Puno existen poblaciones aisladas del medio urbano sin alcance de los medicamentos convencionales y estas son descritas como inequidades en salud oral, estando principalmente asociadas a nivel socio-económico y grupo étnico

Este trabajo de investigación tiene importancia teórica ya que define la eficacia de estos antifúngicos de compuestos etanolicos de *Mentha spicata*, además en lo Social permite dar alcance a las poblaciones alejadas de los servicios de salud, disminuyendo el costo del tratamiento y el tiempo, ya que estos productos mejora la calidad de Vida.

El propósito del presente estudio es determinar la eficacia de la evaluación del

extracto hidroalcohólico de la *Mentha spicata* para inhibir el crecimiento Fúngico *in vitro* de muestras de *Candida Albicans*, Juliaca 2018.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema General

¿Cuál será el resultado de la evaluación del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y la nistatina para inhibir el crecimiento Fúngico *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca 2018?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* después de la intervención?
- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo la nistatina después de la intervención?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

Evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y la nistatina para inhibir el crecimiento Fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans*, Juliaca 2018.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* después de la intervención.
- Determinar la inhibición del crecimiento fúngico en la Nistatina después de la intervención.

1.4. Justificación de la Investigación

La incidencia de infecciones bucales ocasionada por *Cándida albicans* reportados en los diferentes centros de salud es preocupante. El hongo *Candida albicans* puede crecer, llevando a que se presenten lesiones en la boca y la lengua cuando la persona está inmunocomprometida por algún tipo de enfermedad, la infección prevalece y se puede diseminar a otros órganos, como el esófago (causando dolor al deglutir), o por todo el cuerpo, lo cual puede ser mortal. Se plantea la necesidad de buscar una forma de controlarlas y prevenirlas en base a los recursos naturales como la *Mentha spicata* para que su uso sea una alternativa de tratamiento. Sin embargo, los reportes de trabajos son mínimos con este componente natural llamado comúnmente en la población como Hierba buena. Los resultados que se consiga en este estudio permitirán determinar si el extracto acuoso tiene actividad anti fúngica, así como también su uso en terapia o como desinfectante o como indicador de inhibición del crecimiento microbiano, casi también para elaboración de posibles colutorios.

1.4.1. Importancia de la Investigación

Este trabajo de investigación tendrá importancia teórica y social porque enriquecerá los conceptos de utilización de compuestos naturales a base de *Mentha spicata* para la prevención y tratamiento de enfermedades como la candidiasis bucal, teniendo con ello la posibilidad de incentivar otros estudios *in vitro* para demostrar el efecto inhibitorio sobre otros organismos microscópicos y a larga data realizar evaluaciones en pacientes con padecimiento de enfermedades fúngicas.

1.4.2. Viabilidad de la Investigación

La investigación que se pretende realizar es viable en el sentido de la estandarización de las variables y aplicación de los instrumentos, además del acceso a los sujetos de estudio *in vitro* de las respectivas muestras.

1.4.2.1. Teórico.

La presente investigación contó con la suficiente información primaria tanto en libros, internet, Journals, etc. Extrayendo la información de los buscadores CienceDirect, Scielo, Web of science y Scopus.

1.4.2.2. Humano.

Éticamente la investigación no alteró, ni causó ningún daño al paciente, comunidad o ambiente.

1.4.2.3. Financiero.

Autofinanciado por el investigador

1.4.2.3. Temporal.

La investigación se realizó de agosto a noviembre del 2018.

1.5. Limitaciones del Estudio

Las muestras serán obtenidas de cavidad bucal lo suficientemente necesarias para este estudio siendo una limitante en número, para que se cumplan los criterios de selección. Además del factor económico para el transporte de los medios de cultivo ya que el proceso se elaborara en el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas Filial- Juliaca.

CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación.

2.1.1. Antecedentes Internacionales:

Flores Colcha K.F. (2017). Actividad antifúngica “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* “hierba buena” sobre *Candida albicans* cepa atcc 10231”. El objetivo es comparar la actividad antifúngica “In vitro”, de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* (Hierba buena), mediante un estudio microbiológico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. La metodología se realizó una investigación de tipo experimental, comparativa, in vitro, de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* (Hierba buena) a diferentes concentraciones, aplicado sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 cultivadas en cajas Petri, realizando una siembra de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* a través de la técnica de barrido con la ayuda de un hisopo, colocando las cajas Petri en incubadora por 48 horas a 37° C para la

posterior lectura del halo de inhibición. Los resultados son la escala de aceites esenciales según Duraffourd se identificó que la *Candida albicans* frente a mayores concentraciones de aceite esencial de *Mentha piperita* presentó una actividad nula. En cuanto al extracto alcohólico de la *Mentha piperita* el promedio del halo de inhibición fue menor a 3 mm. La comparación de la actividad antifúngica derivada del extracto alcohólico y el aceite esencial de la *Mentha piperita*, sobre cepas de *Candida albicans*, demostró que el efecto antifúngico del aceite es mejor que el obtenido con el extracto alcohólico, esto en función del diámetro del halo de inhibición reportado. (4)

Aizaga Zurita S. J.(2017) Efecto antifúngico del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 25%,50%,75% y 100% sobre *Candida albicans* ATCC® 10231. La *Candida albicans* es considerada como un agente patógeno primario en la patogenia de la Candidiasis oral; siendo esta una enfermedad de distribución universal, que puede establecerse en personas de cualquier sexo, de todas las edades, desde lactantes hasta adultos mayores. Presentándose así, alternativas naturales a través del uso de plantas, con propiedades antifúngicas. El propósito de esta investigación fue determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre *Candida albicans* ATCC® 10231™. El aceite esencial de canela fue extraído mediante método de Destilación por arrastre de vapor utilizando componentes como tween 20 y glicerina, en concentraciones 25%,50%,75% y 100%. La cepa fue sembrada en 16 cajas Petri de agar Mueller Hinton a través del Método Difusión en Disco, colocando cada una de las concentraciones en cada caja, con un grupo control positivo (Nistatina) y un

grupo control negativo (suero fisiológico), a las cuales se las llevó a incubar a 37° C, durante 24 horas. Se realizó 16 repeticiones de cada concentración del aceite, obteniéndose 64 tratamientos del grupo experimental. Para el análisis de los datos se utilizó una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel 2010 y el análisis estadístico se efectuó en el programa SPSS en su versión 22 en español. Resultados: El aceite esencial de canela al 100% tiene un mayor valor en comparación con las otras tres concentraciones con un halo de inhibición promedio de 24,06 mm. Concluyendo que el aceite esencial de canela al 100% presenta un efecto antifúngico de la *Candida albicans*, siendo superior a las diferentes concentraciones comparadas. (5)

Sheccid J. Marias Almeda, E, Gómez-González J. (2017) Inhibición de *Candida albicans* con extractos de *Menta spicata* y *Menta piperita*. Existen más de 100 especies de *Candida spp.* que son patógenas para los seres humanos. La mayoría de ellas vive como comensal en el tracto gastrointestinal, aparato reproductor y/o en la piel, ‘esperando’ el momento propicio para que aumente su población y entonces generar molestias. Es decir, son patógenos oportunistas que se hacen evidentes cuando el ‘equilibrio’ se rompe o se altera por algún factor (Reynaud, 2007). Candidiasis se le denomina al padecimiento que genera *Candida albicans*, cuando se establece en la cavidad oral, se le conoce como “candidiasis oral” Entre las personas sanas, las bacterias “amistosas” y el sistema inmunológico impiden que el hongo se produzca y cause una infección. No obstante, cuando el sistema inmunológico se encuentra debilitado o deteriorado, es más factible que la *Candida* se desarrolle y produzca la enfermedad, por ejemplo, existen medicamentos que

pueden alterar la población de microorganismos naturales que se encuentran en la boca, lo cual puede entonces impulsar el crecimiento de la *Candida*. El mentol extraído, mediante etanol, de la *Menta piperita* es más efectivo en la inhibición del hongo de *Candida albicans* en comparación de la *Menta spicata*. (6)

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Zuni Mamani Y. (2017) Actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*Mentha piperita L.*) frente a *Escherichia coli* enteropatógena (epec) el estudio actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*Mentha piperita L.*) frente a *Escherichia coli* enteropatógena (epec), Se realizó en el laboratorio de microbiología de la facultad de ciencias biológicas de la universidad nacional del altiplano de puno, durante los meses de agosto a diciembre del 2016, cuyos objetivos fueron determinar la concentración mínima inhibitoria (cmi) del aceite esencial y comparar el efecto inhibitorio respecto a la tetraciclina. la extracción del aceite esencial se realizó por el método de arrastre a vapor de agua. la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (cmi) se realizó por el método de dilución en placa a dosis de 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 1, 2.5 y 5 % respectivamente. para la comparación inhibitoria se empleó el método de difusión en placa a dosis de 5 µl, 10 µl, 15 µl, 20 µl, 25 µl y 30 µl de aceite esencial, teniendo como control positivo el antibiótico tetraciclina 30 µg. se aplicó estadística descriptiva, análisis de varianza y prueba de rango múltiple de tukey. la concentración mínima inhibitoria (cmi) del aceite esencial de menta (*Mentha piperita L.*) frente a epec, “in vitro” fué 2.5 % se determinó además que el efecto de la inhibición comparativo porcentual del aceite

esencial de menta frente a *Escherichia coli* enteropatógena respecto al control positivo (tetraciclina) fue de 54,20 % a una dosis aplicable de 30 µl por disco de sensibilidad de aceite esencial, en donde para la fuente de variación de dosis se obtuvo diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.0001$). (7)

Castro Negreiros Y. B. (2016). Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. El objetivo principal de la presente investigación fue evaluar la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” y *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. el método aplicado fue por conveniencia con una muestra de 30 placas por cada planta. en el procedimiento se cultivó la cepa en el medio de mueller hinton. mediante el método de kirby y bauer, se preparó los discos con los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha piperita*, los aceites de dichas plantas fueron obtenidos por arrastre por vapor de agua. al llevar a cabo el estudio microbiológico, se usó el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; *Mentha piperita* al 25%, 50%, 75% y 100%. estos aceites esenciales fueron comparados con la amoxicilina de 250mg. al ejecutar el estudio in vitro se lograron los subsiguientes resultados: los halos inhibitorios de la amoxicilina de 250mg fue de $26,100 \pm 1,4227$ mm en comparación con el aceite de romero que fue al 25 % $6,757 \pm ,4281$ mm; al 50% $7,417 \pm ,5427$ mm, al 75% de $8,067 \pm ,7397$ mm y al 100% de $7,400 \pm ,6074$ mm frente al *S. aureus* con el aceite esencial de mentha al 25 % tuvo un promedio de halos de inhibición de $2,600 \pm 2,8479$ mm; al 50% $1,783 \pm 2,5854$ mm, al 75% de $3,000 \pm 3,0822$ mm y al 100% $5,567 \pm 2,0583$ mm en comparación con amoxicilina de 250 µg fue

25,667±1,7876mm frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*. Concluyendo finalmente que de los dos aceites esenciales ninguno presento eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* así mismo la amoxicilina de 250mg tampoco mostro ser eficaz contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, sin embargo comparando los halos inhibitorios de ambos aceites esenciales con la amoxicilina de 250mg, esta obtuvo halos inhibitorios más amplios. (8)

Colpa Zamora, M. D. (2016). "Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Candida Albicans* estudio *in vitro*. La *Candida albicans* es un hongo pleomórfico ya que además de levadura produce pseudohifas e hifas verdaderas, en el género *Cándida* hay muchas especies que pueden causar Candidiasis; infección causada por este hongo, también son flora normal en el hombre, ya que se encuentran en la piel, mucosas y el aparato gastrointestinal; pueden colonizar al hombre poco después del nacimiento aunque hay registros de que también en el periodo de gestación se puede presentar la infección por este género. El objetivo de este estudio es determinar el efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans*. Se prepararon 80 placas Petri con Agar Sabouraud y se inocularon las cepas de *Cándida albicans*; se dividió en 2 partes de 40 placas para el *Origanum vulgare* y 40 para *Mentha piperita*, se colocaron 4 pozos con las concentraciones (25%, 50%, 75% y 100), 1 pozo de control negativo con agua destilada y 1 pozo de control positivo con Nistatina para cada placa, haciendo un total de 6 pozos por placa Petri; las placas fueron incubadas a 37°C y se midieron los halos de inhibición generados a las 24 y 48 horas. Los datos se procesaron con la prueba estadística de

comparación de medias para muestras independientes; con lo que se concluye que el *Origanum Vulgare* presenta un halo de inhibición a las 24 y 48 horas de 45.73mm y 46.35mm respectivamente, mayor que la Nistatina de 17.83mm y 18.20mm respectivamente; y con la *Mentha piperita* de 18.85mm y 19.88mm, muy cercano al de la Nistatina de 19.60mm y 20.30mm. (9)

Maraví Inga, G. G. (2012) Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* atcc 25175, *Lactobacillus acidophilus* atcc 10746 y *Candida albicans* atcc 90028. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto antibacteriano y antifúngico in vitro del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) mediante el método de difusión en agar con disco, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028. Los aceites esenciales de dichas plantas se obtuvieron por el método de arrastre por vapor de agua. Para realizar el análisis microbiológico se utilizó el aceite esencial de menta al 50 y al 100 %, de orégano al 50 y al 100 % y de hierba luisa al 50 y al 90 %. Asimismo, para obtener concentraciones al 50 y a l 90 %, se diluyeron en agua destilada y DMSO (dimetilsulfóxido). Estos aceites esenciales fueron comparados con nistatina como control positivo (para los hongos) y gluconato de clorhexidina al 0,12 % (para las bacterias). Como controles negativos se utilizó H₂O destilada y DMSO. Al realizar las pruebas de sensibilidad in vitro se obtuvieron los siguientes resultados: de los tres aceites esenciales, el que tuvo mayor efecto sobre *Streptococcus mutans* fue el orégano. Frente a *Lactobacillus acidophilus* y a *Candida albicans* el mayor efecto

lo tuvo la hierba luisa. El aceite esencial de orégano y hierba luisa tienen mayor efectividad antibacteriana y antifúngica que los controles positivos clorhexidina al 0,12 % y nistatina, a excepción de la *Mentha piperita* (menta) al 50 %, cuya acción fue menor que los controles positivos. (10)

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Candidiasis

Definición: También llamada candidosis, es una infección primaria o secundaria causada por levaduras del género *Candida*, con manifestaciones clínicas muy variables de aguda, subaguda, evolución crónica o episódica, en la que las lesiones de la piel por hongos, mucosa de la piel, causan profunda o se pueden propagar (11)

Agentes etiológicos: El principal agente es *Candida albicans*, pero pueden estar implicadas otras especies de *Candida*, como, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida famata*, *Candida krusei*; *C. lusitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, etc. Levaduras de otros géneros distintos de *Candida* como *Saccharomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula* pueden dar cuadros clínicos similares a la Candidiasis (11)

2.2.1.1. Clasificación taxonómica:

Considerando la reproducción sexual de las levaduras se las incluye en las subdivisiones *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* y *Deuteromycotina* (cuando no se conoce la reproducción sexuada) (11).

Dominio:

Eucarya Reino:

Fungi División:

Eumycota

Subdivisión:

Deuteromycotina Clase:

Blastomycetes Familia:

Cryptococaceae Género:

Candida

Especies: *C. albicans*; *C. glabrata*; *C. krusei*; *C. parapsilosis*; *C. tropicalis*, etc.

A algunas de estas especies se les conoce su teleomorfo (forma sexual):

C. famata: *Debaryomyces hansenii*;

C. krusei: *Issatchenkia orientalis*;

C. lusitaniae: *Clavispora lusitaniae*

2.2.1.2. Epidemiología

Es una infección cosmopolita. Es una de las infecciones oportunistas más comunes en los seres humanos. La incidencia ha aumentado significativamente en los últimos 20 años. Las levaduras son responsables de 7,45% de las infecciones por hongos, el 25% de las micosis superficiales y entre el 75 y el 88% de las infecciones fúngicas nosocomiales. No hay personas de todas las edades, género o etnia sin infección por levaduras del género *Candida*, que se encuentran en la naturaleza, en el suelo y el agua fresca, verduras, frutas, exudado árbol, granos y en general cualquier sustancia rica en hidratos de carbono simples. Además, son residentes habituales de los sistemas digestivo, respiratorio y áreas muco-cutáneas de las personas y de otros hospederos. El sistema gastrointestinal humano tiene un pequeño pero constante población de *C. albicans*. En los adultos, existen dos factores regulan el número de levaduras en el intestino: (1) otros miembros de la flora intestinal, la densidad de población de levaduras (principalmente bacterias lactobacilos y anaerobios) por factores antimicrobianos, inhibidores de la adherencia, de oxidación- reducción competencia potencial y control por los nutrientes disponibles y (2) dieta, ya que el consumo excesivo de frutas frescas, dulces u otros materiales fermentables en un aumento considerable en el número de levaduras intestinales, especialmente *C. albicans*. Además de *C. albicans* otras especies que pueden colonizar la mucosa oral y del tracto gastrointestinal humano como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*. La piel normal también puede presentar flora de levaduras residentes, que incluye *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*. Otras especies como *C. albicans* y *C. tropicalis* no se encuentran con regularidad en la piel normal, salvo en la región

ano-genital y alrededor de la boca. En la mucosa vaginal normal se puede aislar *C. albicans* y, con menor frecuencia, *C. glabrata*, *C. tropicalis* *C. parapsilosis* y *C. krusei*.

Las rutas de infección mencionadas son las infecciones de origen endógeno desde depósitos mucocutáneas o cutánea, se puede evidenciar también en los hospitales donde las levaduras pueda transmitirse a lactantes de biberones contaminados, pacientes con trasplantes o pacientes inmunocomprometidos a partir de instrumentos quirúrgicos, instrumentos utilizados en diálisis o endoscopios contaminados o por la existencia de infecciones por hongos en las uñas de las manos o los empleados que trabajan en unidades de cuidados intensivos, transmitidos, sin la protección adecuada. **Patogenia:** El equilibrio entre dichas comensal (levadura) y el anfitrión podría ser invadido y dar al parasitismo o el desarrollo de infecciones oportunistas. El desarrollo de la enfermedad de *Candida* depende de la interacción de determinados factores:

- Factores predisponentes para la infección.
- Patogenicidad intrínseca del microorganismo.
- Mecanismos de defensa del huésped.

Factores predisponentes

Los factores que desencadenan la enfermedad son comunes las modificaciones en los mecanismos de defensa del huésped, los cuales, inducen

transformaciones en el comportamiento del hongo (11). Las manifestaciones clínicas y la severidad de la infección están en relación con la naturaleza y el grado de compromiso de las defensas normales del huésped.

- **Locales:** maceración, contacto con agua, mala higiene.
- **Fisiológicas:** recién nacidos, vejez (edades extremas), embarazo.
- **Endocrinas:** diabetes, hipotiroidismo.
- Alteración de la flora normal: por uso de antibióticos (ATB). Las causas predisponentes se pueden agrupar en:
- **Enfermedades hematológicas:** linfomas, leucemias, anemia aplásica, agranulocitosis, neutropenia, hipo y agamaglobulinemia.
- **Factores iatrogénicos:** uso prolongado de corticoides, quimioterápicos, inmunosupresores, agentes citotóxicos, alimentación parenteral, transplantes, cirugía abdominal, utilización de sondas y catéteres, radioterapia, prótesis, hemodiálisis, cateterismo.
- **Enfermedades debilitantes:** infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), neoplasias, inanición, quemaduras graves y extensas, drogadicción, tuberculosis y otras enfermedades infecciosas. En general, la candidiasis cutáneo mucosa es frecuente en pacientes con deficiencias en las células T, tal como ocurre en los pacientes con SIDA, en pacientes diabéticos y con otras endocrinopatías. La infección más seria, la candidiasis invasiva (CI), que compromete la

vida del paciente, se desarrolla en individuos severamente inmunocomprometidos, y, en la mayoría de los casos de CI confluyen dos o más de estos factores predisponentes. La neutropenia es una de las principales causas de CI; aunque los pacientes sometidos a trasplantes de órganos, con tumores sólidos o con enfermedades malignas de la sangre, también tienen alto riesgo de sufrir.

Factores de patogenicidad

El potencial patogénico de las levaduras varía considerablemente. Estas no son un componente pasivo del proceso infeccioso, sino que poseen una serie de factores de virulencia. No existe un único factor que pueda ser considerado por sí solo como responsable de la patogenicidad, sino que se ha propuesto una combinación de diferentes factores que contribuyen a una o más etapas de la infección. Los principales factores de virulencia, que han sido estudiados en profundidad para *C. albicans* (aunque algunos de ellos han encontrados en otras especies) (11) son:

- **Capacidad de adherencia de las levaduras a diferentes superficies:** es una interacción fuerte entre una adhesina de la levadura y un receptor de la célula del hospedero.
- **Producción de enzimas extracelulares:** son proteinasas y fosfolipasas específicas de cada cepa. Se han detectado en *C. albicans* una familia de 10 isoenzimas con actividad proteínasa conocidas como Sap (secreted

aspartic proteinase), de las cuales Sap 1-3 son cruciales para la infección superficial y Sap 4-6 serían importantes en la candidiasis invasiva.

- **Producción de hifas y pseudohifas:** Aumenta de la capacidad invasiva de la levadura, la capacidad de adherencia, aumenta la resistencia a la fagocitosis, aumenta el poder agresivo sobre las células del hospedero
- **“Switching” o variabilidad fenotípica y antigénica:** Es un cambio espontáneo, frecuente y reversible entre diferentes fenotipos distinguibles por la morfología de la colonia o por la morfología celular.

Mecanismos de defensa del huésped (11)

a. No inmunes:

a.1. La interacción con otros miembros de la flora microbiana.

a.2. La integridad funcional del estrato córneo.

a.3. El proceso de descamación debido a la proliferación epidérmica inducida por la inflamación.

b. Inmunes:

b.1. Inmunidad mediada por células.

b.2. Inmunidad humoral.

Una alta contaminación fúngica, (colonización) como resultado de la administración de antibióticos de amplio espectro o la ocurrencia de una lesión o

alteración del epitelio intestinal puede conducir a cambios en la expresión del fenotipo (switching) y en las levaduras se adhieren. Las levaduras pueden emitir un tubo de germen que penetra en el epitelio y la membrana basal, facilitado por la producción de proteinasas y fosfolipasas. En un pacientes inmunocompetentes esta invasión está limitada por los macrófagos y / o células polimorfonucleares. Los pacientes neutropénicos cuando la respuesta celular innata falla (disfunción inmune), la levadura pueden ingresar al torrente sanguíneo y propagarse. Otra forma de propagarse por vía de entrada directa de la levadura en el torrente sanguíneo, con la inserción a través de un catéter, que puede estar contaminada o que puede llevar la levadura en la piel del paciente o el personal médico o paramédico.

2.2.2. Descripción del género *Mentha*

El género *Mentha* pertenece a la familia Lamiaceae (Labiadas) y está compuesto por unas 25 especies, que se pueden hibridar con suma facilidad; además presenta una gran plasticidad morfológica y genética, lo que hace, en numerosos casos, que no se pueda conocer con precisión los límites de cada especie; por todo ello existen notables discordancias entre los autores del género. Dicha plasticidad hace posible la existencia de múltiples "tipos" locales, posteriormente fijados, que dan lugar a numerosas variedades de cultivo. (12)

Son especies herbáceas con aceites esenciales, lo que ha hecho que hayan sido cultivadas desde hace mucho tiempo como saborizantes (los romanos ya usaban

la *M. aquatica* L. y la *M. longifolia* L. Hudson se supone que era la menta que se cita en la Biblia ya que se cultivaba abundantemente en Oriente Medio). (12)

En la actualidad los cultivos más comunes son de las siguientes especies:

- *Mentha spicata*
- *Mentha arvensis*
- *Mentha pulegium*
- *Mentha piperita*
- *Mentha gentilis*
- *Mentha longifolia*

Partes medicinales: El aceite extraído de las partes aéreas de la planta, las hojas secas, las puntas de las ramas florecientes, la planta fresca floreciente, y la planta entera, constituyen las partes medicinales de la Menta.

Flor y fruto: Las flores son esquinas falsas con numerosas brácteas que destacan poco. El cáliz es de forma tubular con un anillo de cabellos. La corola es de color violeta y posee un margen plano dividido en cuatro partes.

Hoja, tallo y raíz: La planta es perenne, mide de 50 -90 cm. Los tallos están usualmente ramificados y tienen un color violeta. Las hojas presentan forma rectangular-ovoide y son serradas.(12)

Tolerancia: Es una especie que se desarrolla bien en zonas de clima templado, con elevada luminosidad, son tolerantes a heladas. (12)

Suelo: Se desarrolla en gran variedad de suelos, pero son favorables los ligeros, areno – arcillosos, francos, que sean fértiles, profundos y bien drenados. Si el

suelo es arcilloso, el crecimiento de la planta resulta defectuoso y su rendimiento disminuye. Son desfavorables los terrenos en los que se estanca el agua. Se cultiva desde el nivel del mar hasta los 3,800 msnm, es una planta que requiere elevada luminosidad. Los suelos humosos (negros) son los más recomendables por contener bastante materia orgánica. (12)

Orígenes: Centro de origen: Europa y África del norte; con amplia presencia en Asia y América.(12)

Composición Química: Las hojas contienen de 10 a 12 % de elementos minerales, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos. Contiene de 0.5 % a 1 % de aceite esencial. Según el análisis realizado en la Comunidad de Tranca (Ayacucho) reporta 2.5 % de aceite esencial. (12)

El contenido de aceites esenciales, oscila entre 1.3 y 2.1 %. La menta negra (menta piperita var. Micham) cultivada en el Departamento de Ayacucho tiene alto contenido de aceite esencial, esta por encima de los estándares europeos. (12)

El aceite esencial de la menta, es un líquido incoloro con olor fuerte y sabor picante que se halla localizado en glándulas pequeñas situadas en la superficie superior e inferior de las hojas; los tallos contienen en mínima proporción aceite.

El principal componente de la esencia es el mentol, que se halla en la proporción de 45 a 70 %. (12)

Compuestos activos

La química del aceite de menta es compleja. Más de 100 compuestos han sido encontrados en el aceite y la concentración relativa de cada uno depende grandemente de la localización geográfica. (16)

Los extractos de la menta deben protegerse de la luz. (17)

La planta puede contener entre un 0.1% y un 1% de aceite volátil el cual está compuesto principalmente de mentol, mentona, metilacetato. (15,16)

Componentes de las hojas

Aceite volátil, entre los principales compuestos pueden citarse: mentol (35-45%), mentona (15-20%), acetato de mentil (3-5%), isomentona (2-3%) neomentol (2.5-3.5%) mentofurano 2-7%); también pueden hallarse limoneno, pulegona, el alfa y beta – pineno, y el trans – sabineno hidratado, además contiene jasmona, taninos y principio amargo. (15,16)

Ácido caféico, incluyendo entre otros el ácido rosmárico. (13)

Flavonoides, apigenina, diosmetina y glicosidos de luteolina, flavonoide metoxilado lipofílico libre, además de xantomicrool y gardenia D, entre otros. (13)

Farmacología:

El aceite de menta es un carminativo aromático que reduce la presión intracolónica y alivia la flatulencia. (13,17)

Es un agente antibacterial, insecticida, colerético y secretolítico, además tiene un efecto refrescante en la piel. (13)

Es capaz de bloquear el estímulo excitatorio del calcio debido a su característica antiespasmódica propia de los bloqueadores de canales de calcio que presenta el mentol, por lo que presenta una actividad antiespasmódica a nivel del músculo liso del tracto gastrointestinal. (13, 17)

Algunos reportes han sugerido la utilidad del aceite de menta, bajo una forma dosificada con cubierta entérica, en el síndrome del colon irritable, por medio de una acción meramente local sobre el tracto gastrointestinal. (14,17)

Produce efecto relajante sobre los músculos de las vísceras y es por esta razón que se inyecta el aceite a una solución diluida del mismo para reducir el espasmo colónico que se presenta durante la endoscopia²²; es antiflatulenta y estimula la producción de bilis y la secreción de jugos digestivos, lo que la convierte en un buen remedio para los cólicos intestinales y de la digestión difícil y flatulenta. (15)

El aceite volátil que contiene actúa como anestésico suave del estómago lo que ayuda a combatir las náuseas y vómitos. (12)

El aceite de menta ha sido utilizado, junto con otros aceites volátiles en preparaciones para desórdenes respiratorios. (17)

También alivia los dolores de cabeza producidos por la mala digestión. Tiene acción tranquilizante sobre los nervios, por lo que se puede utilizar en caso de tensión nerviosa, ansiedad e histeria. Alivia los dolores menstruales y disminuye la tensión relacionada con ésta condición. Para aliviar las molestias nerviosas se puede combinar con tilo, manzanilla o valeriana. La infusión de menta puede remplazar al té y el café. (15)

Las hojas de menta tienen un efecto sedante leve, además presenta propiedades antivirales, antimicrobiales, diuréticas, actúa como colerético, carminativo y antiespasmódico. (13)

Toxicidad.

El aceite de menta puede ser irritante y raramente ocasiona reacciones de hipersensibilidad. Las reacciones reportadas incluyen rash cutáneo eritematoso, cefalea, bradicardia, tremor muscular y ataxia. También se ha reportado pirosis.²² Estas reacciones alérgicas han sido atribuidas al mentol.(16)

No se debe usar durante más de 12 días seguidos porque puede causar daño al corazón. (15)

La aplicación de preparaciones que contengan mentol, en niños menores de 2 años, para el tratamiento de los síntomas del resfriado puede causar colapso. (16)

Las tabletas entéricas no deben ser administradas inmediatamente después de las comidas o de haber ingerido un antiácido. (17)

2.2.3. Nistatina:

Solución oral, 100,000 UI/ mL en frasco de 100 ml; comprimidos de 100,000 y 500,000 UI; óvulos de 100,000 UI. La Nistatina, un antibiótico antifúngico poliénico

derivado de *Streptomyces noursei*, es eficaz sobre infecciones producidas por un amplio grupo de levaduras y hongos similares a las levaduras. Su absorción es escasa por vía gastrointestinal y no se absorbe a través de la piel ni de las membranas mucosas tras su aplicación tópica. (18)

2.2.3.1. Indicaciones:

Candidiasis oral, esofágica, intestinal, vaginal y cutánea. En pacientes inmunosuprimidos no se recomienda el uso de Nistatina como profilaxis y tratamiento de la Candidiasis. En la práctica se recomienda Fluconazol. No está indicada en el tratamiento de micosis sistémicas ya que no se absorbe desde el tracto gastrointestinal. (18)

2.2.3.2. Dosificación:

Candidiasis oral: en adultos y niños mayores de 1 mes, 100,000 UI PO 4 veces al día, después de las comidas.

Candidiasis intestinal y esofágica: en adultos, 500,000 UI 4 veces al día; en niños mayores de 1 mes, 100,000 UI 4 veces al día; continuar durante 48 horas tras la curación clínica.

Candidiasis vaginal: en adultos, aplicar 1 – 2 óvulos por la noche durante 2 semanas como mínimo. (18)

2.2.3.3. Efectos adversos

Efectos que necesitan atención si son persistentes. Menos frecuentes náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal. Con las presentaciones tópicas y vaginales, puede ocurrir irritación de piel y mucosa vaginal no presentes antes de la terapia:
(18)

2.2.4. Definición de la terminología

Antifúngico: Sustancias que destruyen hongos al suprimir su capacidad para crecer o reproducirse (19).

Inmune: Complejo formado por la unión de moléculas de antígeno y anticuerpo. La deposición de grandes complejos antígeno-anticuerpo produce daño tisular y genera enfermedades de inmunocomplejos (19).

Extracto de vegetales: Concentrados de plantas obtenidas mediante la eliminación de componentes activos con un disolvente adecuado, que se evapora a distancia, y ajustando el residuo a una norma prescrita (19).

Levadura: Término general para hongos redondos unicelulares que se reproducen por brotes (19).

Micosis: Enfermedades causadas por hongos (19).

Antígeno: Sustancias que son reconocidas por el sistema inmune y que inducen una reacción inmune (19).

Fenotipo: Apariencia externa del individuo. Es producto de las interacciones entre genes y entre el genotipo y el ambiente (19).

Huésped: Relación entre un invertebrado y otro organismo (el huésped), uno de los cuales vive a expensas del otro. Tradicionalmente se excluye de la definición de parásitos a las bacterias, hongos, virus y plantas patógenos, aunque puedan vivir de forma parasitaria (19).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Formulación de la Hipótesis principal y derivadas

3.1.1. Hipótesis General

Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y Nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*. Juliaca, 2018, existe diferencia significativa.

3.1.2. Hipótesis Específicas

- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 9 mm en el grupo del Extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* después de la intervención.

- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15 mm en la Nistatina después de la intervención

3.2. Variables

a) Variable Independiente

- Extracto hidroalcohólico de *Mentha Spicata*

a.1. Variable de grupo control

- Nistatina

b) Variable Dependiente

- Inhibición del crecimiento fúngico

3.2.1. Operacionalización de Variables

Variables	Definición conceptual	Dimensión	indicadores	Escala	categoría
<p>Variable independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Mentha Spicata</i></p>	<p>Material resinoso de color amarillento verdoso con concentración hidroalcohólica de <i>Mentha spicata</i> al 70%</p>	<p>Aplicación de: - extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> al 70%</p>	<p>Solución líquida embebida en discos filtros de tipo wathman</p>	<p>Nomina</p>	<p>Si no</p>
<p>Nistatina</p>	<p>Antifungico en gotas de 100000 U/l</p>	<p>Líquido de color amarillento con actividad antifúngica (tópico)</p>	<p>Solución líquida embebida en discos filtros tipo wathman</p>	<p>Nominal</p>	<p>Si no</p>
<p>Variable Dependiente</p> <p>Inhibición del crecimiento fungico (<i>Candida Albicans</i>)</p>	<p>Actividad antifúngica que no permite el crecimiento de <i>Cándida Albicans</i> alrededor de un halo de inhibición que se mide en milímetros (mm).</p>		<p>formación del halo de inhibición</p>	<p>De Razón</p>	<p>mm</p>

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Diseño Metodológico

4.1.1. Tipo de Investigación

- Experimental
- Prospectivo
- Transversal
- Analítico

4.1.2. Nivel de Investigación

- Explicativo

4.1.3. Diseño de la Investigación

- Cuasi - experimental

4.2. Diseño muestral

4.2.1. Población y Muestra de la Investigación

4.2.1.1. Población

La población de Estudio se obtendrá de muestras de micosis de la boca de pacientes que acuden a la clínica estomatológica, previo consentimiento informado, para luego aislar al microorganismo fúngico: *Candida Albicans* “*in vitro*” en el laboratorio de Universidad Alas Peruanas Filial- Juliaca.

4.2.1.1.1. Criterios de Inclusión

- Tinción Gram Positivo
- Análisis microbiológico positivo para *Cándida albicans*
- Medios de cultivo vigentes a la fecha de vencimiento

4.2.1.1.2. Criterios de Exclusión

- Tinción Gram Negativo
- Análisis microbiológico negativo para *Cándida albicans*.
- Medios de cultivo contaminados por otros microorganismos

4.2.1.2. Muestra

La selección de la muestra es no probabilístico por conveniencia que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Con un tamaño de muestra de = 30 medios de cultivos.

4.3. Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

4.3.1. Técnicas

1. Con una prueba piloto en cinco muestras de *Cándida albicans* por cada grupo de estudio para la validación del instrumento.

2. Selección de las unidades de estudio:

. La *Mentha spicata* se preparó en laboratorio de la Universidad Alas Peruanas la hierba buena proviene de la serranía de Ayaviri, departamento de Puno. El procesamiento fue de la siguiente manera:

- Se usó las hojas frescas de *Mentha spicata* previamente seleccionadas, estas fueron lavadas con agua y secado por 48 horas para que esté libre de humedad. Fue pulverizado en mortero de porcelana.
- Se procedió a colocar en un frasco de vidrio de color ámbar 500g. de las hojas luego se le agrego una mezcla hidroalcoholica al 96° (etanol), dejándose macerar por 1 semana, agitándolo todos los días.
- El producto se filtró 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado se realizara con papel filtro Whatmann N° 2 y por ultimo un

tercer filtrado será en papel Whatmann N° 1. Del cual se obtuvo 300 ml de extracto purificado libre de gérmenes.

- Se concentran las soluciones al 70% (tintura madre) por maceración durante tres días a 37°C contenidos en frascos de color ámbar
- A continuación se conservara e un frasco pequeño
- La Nistatina se consiguió de una farmacia convencional.

· Calibración para niveles óptimos de seguridad con el asesor.

· La muestras de cándida se obtuvo por el método del frotis orofaríngeo de un paciente que presento Cándida seudomembranosa aguda, a los cuales se les explico del asunto previo consentimiento informado (Anexo 2), y se transportó la muestra en un tubo de ensayo de tapa rosca hacia el laboratorio de la Universidad Alas Peruanas. Donde se realizó los siguientes procedimientos supervisados y dirigidos en todo momento con el asesor:

- a. Se sembró la muestra recolectada en agar saboraud en tubo de ensayo.
- b. El tubo de ensayo que contiene el agar saboraud con la siembra de micosis bucal se llevó a la incubadora a 37° como detalla la literatura por un periodo de dos días para el crecimiento de colonias.
- c. Se realizó pruebas de tinción Gram para la identificación de levaduras.
- d. Confirmadas las levaduras en microscopio se procedió a la diferenciación de tubos germinativos de la muestra de levadura para luego ser transportado a una lámina de vidrio (porta-objeto) junto con un aceite de inmersión para poder observarlo al microscopio a 40X.
- e. Se confirmó la presencia de tubos germinativos y la presencia de *Candida albicans* y se procedió a seleccionar las muestras positivas.

- f. Se estandarizo las muestras de *Cándida Albicans* a la escala de Mc Farland 0.5 como estipula en la literatura y por el método de comparación de turbidez con agua destilada estéril.
- g. Obtenidas las escalas de turbidez 0.5 de Mc Farland, se procedio a inocular en la superficie de la placa de agar saboraud glucosado al 2% (con cloranfenicol) estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo (*Cándida albicans*).

El grupo experimental estuvo conformado por discos de papel whatman N°3 de 6mm de diámetro con Extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*, utilizando la técnica del disco de difusión se aplicó la sustancia a base de Extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* al 70% a cada disco, estos fueron inoculados en un medio de cultivo con agar saboraud que contiene *Candida albicans*, validado al estándar de turbidez 0.5 de Mc. Farland. Y el grupo experimental (control) con Nistatina que contenía un disco embebido en una solución liquida de Mycostatin (nistatina) de 100 000 UI/ml. inoculados al medio de cultivo con agar saboraud que contiene *Candida albicans* y también los discos con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*.

3. La aplicación de la sustancia se realizó cerca de un mechero búnzen en llama de la siguiente manera:

- Se depositaron los discos de papel tipo Whatman N° 3 de 6 milímetros de diámetro impregnados con 20 ul de las soluciones alcohólicas de *Mentha*

spicata correspondientes al 70% y un segundo disco impregnado con 20 ul de la solución Nistatina 100 000 UI/ml.

- Los discos depositados fueron aplicados con una pinza estéril hacia el medio de cultivo de agar saboraud sembrado con *Candida albicans*,

Las placas petry con agar saboraud se cubrieron con sus respectivos cubre-placas para ser depositados en una incubadora a 37°C hasta 24 horas.

4.3.2. Instrumentos

- Ficha de recolección de datos

4.3.3. Validez

Se elaboró una ficha de recolección de datos la cual se validó por juicio de expertos.

4.4. Técnicas de Procesamiento de la información

Los controles del grado de inhibición de la sustancia experimental fueron por medio de la medida del diámetro del halo inhibitorio.

- Se retiraron de la incubadora y se secaron con algodón.
- Se observó la inhibición del halo inhibitorio en la sustancia experimental del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*.

- Se realizó la medición con una regla milimetrada calibrada tipo pie de rey. La medición se realizó desde la colonia más interna del halo inhibitorio medición hecha contando milímetro por milímetro.
- La medición se realizó con una regla milimetrada, apoyada en la parte posterior de la placa en un ambiente con luz sobre una superficie oscura para poder visualizar los halos de inhibición.
- El asesor y el investigador corroboraron las medidas diametrales de los halos inhibitorios observados en las placas y anotaron en la ficha de recolección de datos.
- El control se hizo a las 24 horas.
- Se revisó las fichas de recolección de datos. (ANEXO 3)
- Se enviaron a una base de datos.
- Se tabularon los datos
- Se efectuaron los análisis de datos.
- Se Graficaron e interpretaron.
- Se obtuvieron resultados.

4.5. Técnicas Estadísticas utilizadas en el análisis de la información

Se usó estadística descriptiva mediante el uso de tablas de frecuencia y gráfico de barras, Caja-Bigote Y también se utilizará estadística inferencial para la comprobación de hipótesis mediante la prueba T Student por tratarse de un estudio experimental.

CAPITULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis Descriptivo de Tablas y Gráficos

TABLA N°1

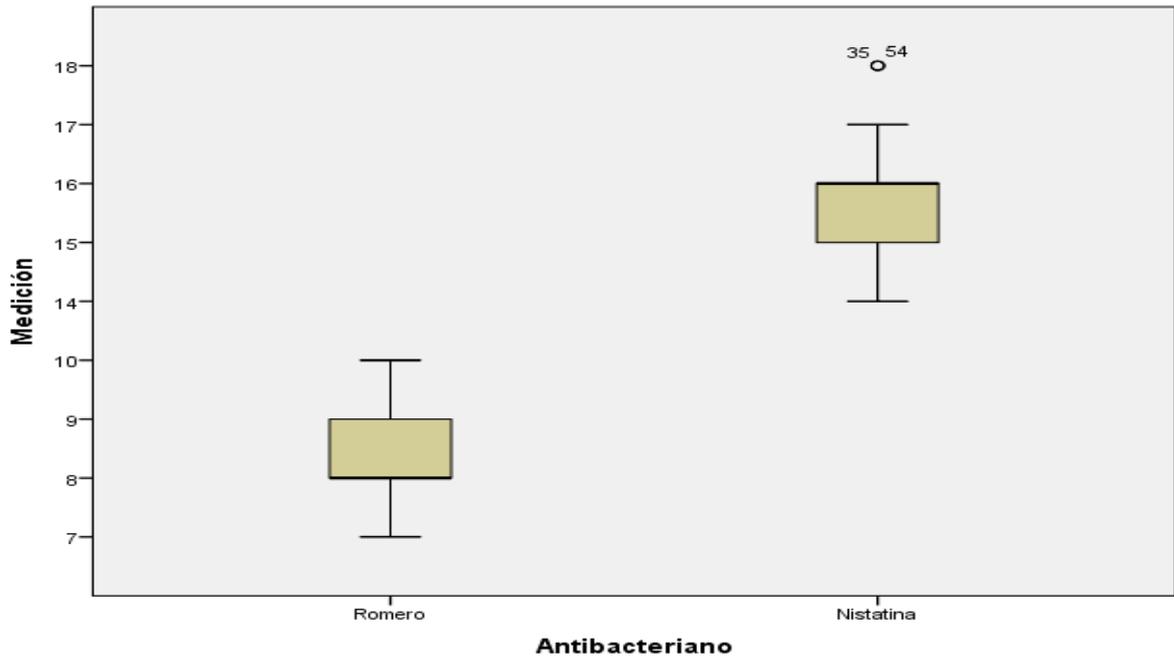
Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha Spicata* (Hierba buena) y Nistatina ,
Juliaca 2018

	<i>Mentha spicata</i>	Nistatina
N	30	30
Mínimo	6	13
Máximo	9	17
Media	7.27	14.8
Desviación estándar	0.86	1.03

Fuente: matriz de datos

Gráfico N°1

Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y Nistatina, Juliaca 2018



Interpretación y análisis: en la tabla N°1 y gráfico N°1, en la muestra estudiada, se puede observar que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* (*hierba buena*) presentó una inhibición de crecimiento promedio de 7.27mm, con una desviación estándar de 0.86 mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 6 mm y el máximo de 9 mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 14.8mm, con una desviación estándar de 1.03mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 13mm y el máximo de 17mm

Tabla N°2

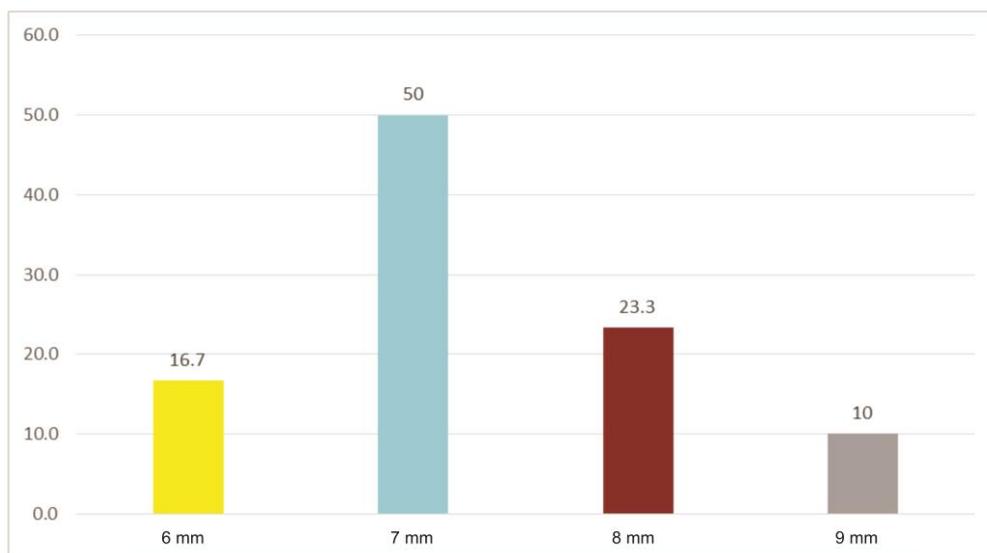
Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*, Juliaca 2018

	N	%
6 mm	5	16.7
7 mm	15	50
8 mm	7	23.3
9 mm	3	10
Total	30	100

Fuente: matriz de datos

Gráfico N°2

Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata*, Juliaca 2018



Interpretación y análisis: En la tabla N°2 y gráfico N°2, en la muestra estudiada, se puede observar que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* (*hierba buena*) presento halos de inhibición de 6 mm en 16.7 %, 7 mm en 50%, 8 mm en 23.3 % y 9 mm en 10% de las muestras estudiadas.

Tabla N°3

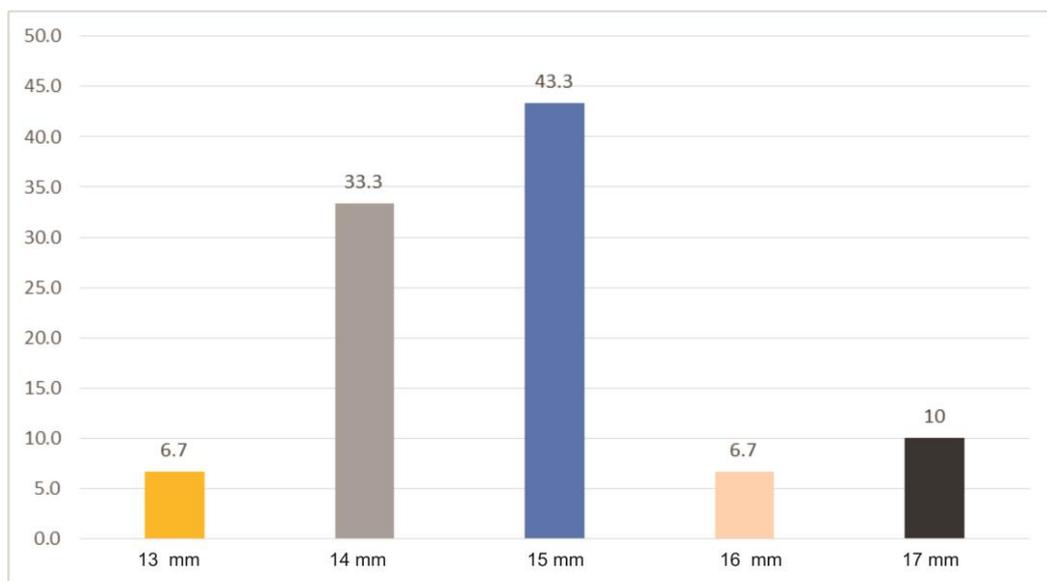
**Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans*
con Nistatina, Juliaca 2018**

	N	%
13 mm	2	6.7
14 mm	10	33.3
15 mm	13	43.3
16 mm	2	6.7
17 mm	3	10
Total	30	100

Fuente: matriz de datos

GRAFICO N°3

**Inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans*
con Nistatina, Juliaca 2018**



Interpretación y análisis: En la tabla N°3 y gráfico N°3, en la muestra estudiada, se puede observar que la nistatina (Grupo Control) (100 000 UI/ml) presento halos de inhibición de 13 mm en 6.7 %, 14 mm en 33.3%, 15 mm en 43.3 %,16 mm en 6.7%, 17 mm en 10%, de las muestras estudiadas

Comprobación de hipótesis

PRUEBA DE HIPOTESIS GENERAL MEDIANTE EL USO DE LA PRUEBA DE t de STUDENT

Planteamiento de hipótesis estadística:

Hipótesis general

Ho: Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, no existe diferencia significativa

Hi: Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa

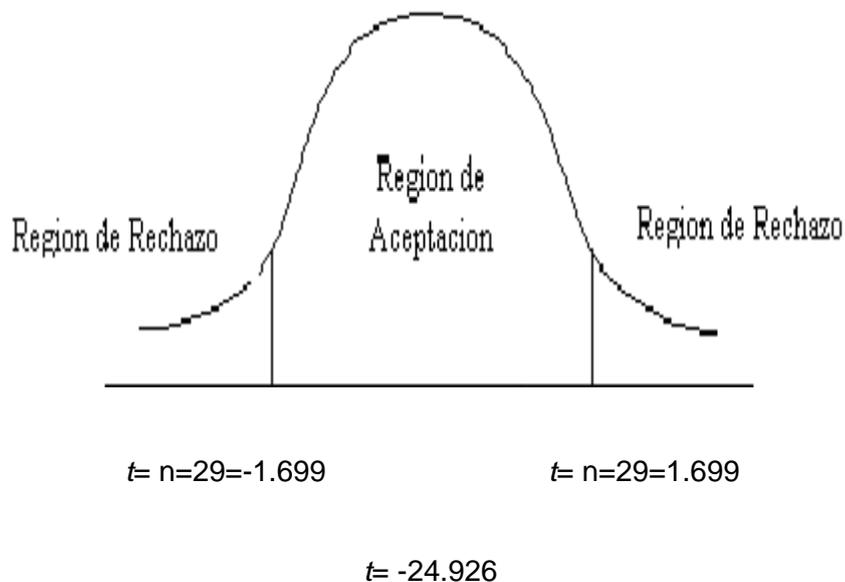
Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

Estadística de prueba

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

Regla de decisión.



Como la $t = -24.926$, esta cae en la zona de rechazo para la H_0 , por lo que se acepta la H_1 .

Conclusión: Al determinar el p-valor= 0.000, y un nivel de significancia del 0.05 y con una probabilidad de error del 0.0%; Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y Nistatina para inhibir el crecimiento fúngico in vitro en muestras de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa

5.2. Discusión

Las plantas medicinales en nuestro país en estos últimos años, están siendo investigadas y utilizadas en el área de la salud oral en diversas formulaciones farmacéuticas así tenemos: los enjuagues bucales colutorios, soluciones tópicas

pasta dental, entre otros. Debido a los beneficios que ofrece a la población tanto en el aspecto terapéutico como económico.

El hongo *Candida albicans* es el principal causante de las infecciones fúngicas en cavidad bucal, puede llegar a crecer, llevando a que se presenten lesiones en la boca y la lengua cuando la persona está inmunocomprometida por algún tipo de enfermedad, la infección prevalece y se puede diseminar a otros órganos, como el esófago (causando dolor al deglutir), o por todo el cuerpo, lo cual puede ser mortal.

El efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* (hierba buena) contra múltiples patógenos (bacterias, hongos, levaduras y virus) muestra efectividad por los investigadores, pero pocos son los estudios contra *Candida albicans*.

Dentro de los alcances de la presente investigación. Los resultados encontrados concuerda con Flores (2017) Al aplicar extracto acuoso de hojas de *Mentha spicata* con el método de difusión en pozo aplicado en su estudio contra *Candida albicans* y el presente estudio con el método aplicado en discos filtros de difusión tipo whatman (Kirby Bauer). Coincidente por otros estudios in vitro: Aizaga (2017) que demuestran la actividad antimicrobiana con diferentes especies de bacterias a través del método de difusión en disco o Kirby Bauer y difusión en Pozos. Y cuyas recomendaciones indican que podrían ser útiles para el uso bucal.

Se está de acuerdo con Sheccid (2016) al elegir el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* en comparación de los aceites esenciales (9.6mm al 20%) ya que los resultados que se obtuvieron fueron halos de inhibición similares al presente estudio (8.27 mm al 40%) a diferente concentración, con efectividad anti fúngica sobre *Candida Albicans* pero menor a 10 mm en ambos estudios. Posiblemente estos resultados presentan diferencia a los expuestos en la presente investigación por que los equipos y el laboratorio hayan sido diferentes y el lugar de recopilación de mentha spicata varia en cuanto a su composición por lo tanto el resultado no se espera con exactitud.

Se está de acuerdo con las investigaciones de Mamani (2017) Castro (2016) Colpa (2016) Quienes se refirieron a La fitoterapia como un método alternativo eficaz frente a distintas afecciones a las personas, siendo de gran beneficio en la comunidad odontológica.

CONCLUSIONES

- Al evaluar el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* y Nistatina para inhibir el crecimiento fúngico *in vitro* en muestras de *Cándida albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 7.27 mm en el grupo del Extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* al 70%.
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 14.8 mm en el grupo de la Nistatina 100 000UI/ml después de la intervención.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar investigaciones fúngicas con *Mentha spicata* de lugares o zonas donde crece esta planta a nivel nacional e internacional.
- Se recomienda probar a concentraciones alcohólicas más elevadas y así obtener nuevos resultados.
- Profundizar en el análisis en un agente fúngico específico.
- Realizar estudios con otros tipos de microorganismos.
- Incentivar a la comunidad odontológica desarrollar estudios con plantas naturales propias de la región.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ceccotti E. Micosis. Clínica estomatológica SIDA, cáncer y otras afecciones. Buenos Aires: Panamericana; 1993:162-4.
2. Lalla RV, Patton LL, Dongari-Bagtzoglou A. Oral candidiasis: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and treatment strategies. Journal of the California Dental Association. 2013; 41(4):263-8.
3. Janus MM, Crielaard W, Volgenant CMC, Van der Veen MH, Brandta BW, Krom BP. *Candida albicans* alters the bacterial microbiome of early in vitro oral biofilms. Journal of Oral Microbiology. 2017; 9(1): 1-10.
4. Flores Colcha K.F. (2017). actividad antifúngica “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de mentha piperita “hierba buena” sobre candida albicans cepa atcc 10231”. [Internet] universidad nacional de chimborazo facultad de ciencias de la salud carrera de odontología. [enero 2019. [www.http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4482/1/UNACH-EC-FCS-ODT-2017-0036.pdf](http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4482/1/UNACH-EC-FCS-ODT-2017-0036.pdf).]
5. Aizaga Zurita S. J.(2017) Efecto antifúngico del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) al 25%,50%,75% y 100% sobre *Candida albicans* ATCC® 10231. [internet] Universidad central del ecuador facultad de odontología carrera de odontología. [enero2019. www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11016/1/T-UCE-0015-688.pdf]
6. Sheccid J. Marias Almeda, E, Gómez-González J.(2017) Inhibición de *Candida albicans* con extractos de *Mentha spicata* y *Mentha piperita* [Escuela Superior de

Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Guerrero Acapulco](2017)V.8
p.4, 5

7. Zuni Mamani Y. (2017) Actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*mentha piperita* L.) frente a *escherichia coli* enteropatógena (epec). el estudio actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*mentha piperita* L.) frente a *escherichia coli* enteropatógena (epec),[Internet] Universidad nacional del altiplano facultad de ciencias biológicas escuela profesional de biología [enero 2019.http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4194/Zuni_Mamani_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y.]
8. Castro Negreiros Y. B. (2016). Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *mentha piperita* “menta” y *rosmarinus officinalis* “romero”, sobre *staphylococcus aureus*, estudio in vitro. [Internet]Universidad cesar vallejo. Facultad de ciencias médicas escuela académico profesional de medicina.[enero2019.http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/553/castro_ny.pdf?sequence=1&isAllowed=y]
9. Colpa Zamora, M. D. (2016). “efecto inhibitor del aceite esencial de *origanum vulgare* (orégano) y *mentha piperita* (menta) frente a cepas de *cándida albicans*. estudio in vitro. [internet]. universidad privada norbert wiener facultad de ciencias de la salud escuela académico profesional de odontología.[diciembre 2018.<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/580>]
10. Maraví Inga, G. G.(2012) efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *mentha piperita* (menta), *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *streptococcus mutans* atcc 25175, *lactobacillus acidophilus*

atcc 10746 y candida albicans atcc 90028.[internet]wuiner facultad de ciencias de la salud escuela académica profesional de odontología[enero2019.www <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/48>]

11. Biasoli M. Candidiasis [On line] [Consultado 10 de mayo del 2017] Disponible en: www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/...2013/.../CANDIDIASIS_2013-1.pdf
12. Percy D. Aronés Castro. Manual para la Producción de Plantas Aromáticas y Medicinales. Ministerio de la Mujer y Desarrollo Social – MIMDES. Mayo 2007
13. PDR for Herbal medicines. 2000 2ª Edición Editorial Medicor Economics Comp USA.
14. The Lawrence Review of Natural Products. 1992. Facts and Comparisons (ISSN 0734-4951) Missouri, USA.
15. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Bizkaina. Asociación española de Médicos Naturistas. Fitoterapia, Vademécum de Prescripción: Plantas medicinales. 1998. Barcelona, España.
16. La Valle, J. Natural Therapeutics Pocket Guide. 2000-2001. 1ª Edición. Lexi-Comp, Inc. Ohio, USA.
17. Heck, A, DeWitt, B, Likes, A. Potential Interacción between alternative therapeutics and warfarin. Am J Health-Syst Pharm. 2000: 57. Pag 1221- 1227.
18. OMS. Formulario Modelo de la OMS 2004. Anti-infecciosos: Antifúngicos 2004: 134 – 137
19. Portal Regional de la Biblioteca Virtual de Salud. Información y Conocimiento para la Salud. Disponible en: <http://pesquisa.bvsalud.org/portal/decs-locator/?output=site&lang=es&from=0&sort=&format=summary&count=20&fb=&page=1&q=&index=tw>.

ANEXOS

Anexo 01: Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSION	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál será el resultado de la evaluación del extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico <i>in vitro</i> en muestras de <i>Cándida albicans</i>, Juliaca 2018?</p> <p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo control después de la intervención? • ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo del Extracto Etanólico de <i>mentha spicata</i> después de la intervención? 	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar el extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico <i>in vitro</i> en muestras de <i>Cándida albicans</i> Juliaca 2018</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la inhibición del crecimiento fúngico del grupo control después de la intervención. • Determinar la inhibición del crecimiento fúngico del grupo del extracto etanólico de <i>mentha spicata</i> después de la intervención 	<p>Hipótesis principal</p> <p>Al evaluar el extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> y nistatina para inhibir el crecimiento fúngico <i>in vitro</i> en muestras de <i>Cándida albicans</i>, 2018, existe diferencias significativas.</p> <p>Hipótesis derivadas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se presenta inhibición de crecimiento fúngico de 15mm grupo control, nistatina 100 000UI/ml después de la intervención. • Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 9 mm en el grupo del extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> después de la intervención. 	<p>Variable independiente</p> <p>Extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i></p> <p>Variable independiente</p> <p>Nistatina 100 00</p> <p>U/l</p>		<p>Indicador: solución líquida</p>	<p>Diseño Metodológico</p> <p>Tipo de Investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Experimental • Prospectivo • Transversal • Analítico <p>Nivel de Investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Explicativo <p>Diseño de la Investigación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cuasi – experimental <p>Muestra:</p> <p>La selección de la muestra es no probabilístico por conveniencia que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Con un tamaño de muestra de = 30 medios de cultivos.</p>
			<p>Variable independiente</p> <p>Halo de inhibición fúngica</p>		<p>Indicador: solución líquida</p>	

Anexo 02: Carta de presentación

Juliaca, 21 de diciembre 2018

Señor Doctor

Juan Gualberto Trelles Yenque

Decano de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Universidad Alas Peruanas

Asunto: Carta presentación del proyecto titulado "COMPARACIÓN DE LA INHIBICIÓN HIDROALCOHÓLICA DE LA *Mentha spicata* Y LA NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Candida albicans*, JULIACA 2018"

Respetado Doctor Trelles.

Mediante la presente presento mi trabajo de Investigación para su Aprobación e Inscripción y Autorización de Ejecución del Desarrollo de Tesis.

Para lo cual me comprometo a:

1. Realizar la investigación en el tiempo estipulado en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad, así como cumplir con la entrega de los informes de avance (parcial y final) para su revisión por el comité evaluador.
2. Autorizar la publicación del producto o procesos de investigación/creación terminados, en espacios pertinentes para su valoración, así como en el Repositorio de la Universidad.
3. Anexar a esta investigación el acta o las cartas de participación de las instituciones vinculadas al proyecto.
4. Cumplir con las consideraciones Éticas de Helsinki y Nüremberg, así como garantizar las normas éticas exigidas por la aplicación de formatos de Consentimiento y/o Asentimiento Informado que requiera la investigación.

Además declaro:

1. Que es un trabajo de investigación es original.
2. Que son titulares exclusivos de los derechos patrimoniales y morales de autor.
3. Que los derechos sobre el manuscrito se encuentran libres de embargo, gravámenes, limitaciones o condiciones (resolutorias o de cualquier otro tipo), así como de cualquier circunstancia que afecte la libre disposición de los mismos.
4. Que no ha sido previamente publicado en otro medio.
5. Que no ha sido remitido simultáneamente a otra publicación.
6. Que todos los colaboradores han contribuido intelectualmente en su elaboración.

Cordialmente.

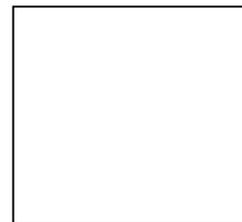
MAMANI HUAYHUA, FLORENCIA SOFIA
Cod. 2003171933
Facultad MHyCS
EP. De Estomatología

Anexo 03: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Yo,..... identificado con DNI N°.....doy mi consentimiento, para participar en el trabajo de investigación que titula **“COMPARACIÓN DE LA INHIBICIÓN HIDROALCOHÓLICA DE LA *Menta spicata* y LA NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Candida albicans*, JULIACA 2018”** donde acepto que se me tome una muestra de mi boca ya que se me ha referido que ello no comprometerá para nada en el estado actual de mi salud, además he realizado las preguntas que consideré oportunas, y el interesado me ha dado respuestas aceptables en la investigación anteriormente descrita.

Nombre y Firma (o huella digital):



Firma: _____ Fecha_____

Anexo 04: Ficha de recolección de datos

Ficha de recolección de Datos de muestra		
1. Lugar de obtención de la muestra:		
A. tinción GRAM:		
Presencia de levadura	positivo ()	negativo ()
2. Observación al microscopio:		
<i>Cándida albicans</i> :	positivo ()	negativo ()
3. cultivo de la muestra		
	Crecimiento ()	no crecimiento ()
4. numero de colonias	MC Farland	0.5

Anexo 05: Matriz de datos

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION EN mm EN PLACA PETRY

Siembra de <i>Cándida albicans</i>	Extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i> (Hierba buena)	Control Positivo Nistatina
Cultivo N° 01	9	13
Cultivo N° 02	8	14
Cultivo N° 03	8	15
Cultivo N° 04	7	14
Cultivo N° 05	7	17
Cultivo N° 06	7	17
Cultivo N° 07	6	15
Cultivo N° 08	7	15
Cultivo N° 09	9	14
Cultivo N° 10	8	14
Cultivo N° 11	9	14
Cultivo N° 12	8	15
Cultivo N° 13	7	15
Cultivo N° 14	7	15
Cultivo N° 15	7	14
Cultivo N° 16	6	15
Cultivo N° 17	7	13
Cultivo N° 18	6	15
Cultivo N° 19	7	15
Cultivo N° 20	7	15
Cultivo N° 21	8	14
Cultivo N° 22	7	16
Cultivo N° 23	7	15
Cultivo N° 24	6	17
Cultivo N° 25	7	15
Cultivo N° 26	8	14
Cultivo N° 27	8	15
Cultivo N° 28	7	14
Cultivo N° 29	6	16
Cultivo N° 30	7	14

