



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

**TESIS**

**“CONTROL DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE *Rosmarinus  
Officinalis* (ROMERO) y NISTATINA PARA INHIBIR EL  
CRECIMIENTO DE *Cándida albicans*, JULIACA 2018”**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PRESENTADO POR:**

**DARINKA MARYORI UGARTE GOMEZ**

**ASESOR:**

**CD. CESAR PEDRO MAMANI CATACTORA**

Juliaca – Perú

2018



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

**TESIS**

**“CONTROL DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE *Rosmarinus  
Officinalis* (ROMERO) y NISTATINA PARA INHIBIR EL  
CRECIMIENTO DE *Cándida albicans*, JULIACA 2018”**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PRESENTADO POR:**

**DARINKA MARYORI UGARTE GOMEZ**

**ASESOR:**

**CD. CESAR PEDRO MAMANI CATACTORA**

Juliaca – Perú

2018

# HOJA DE APROBACIÓN

DARINKA MARYORI UGARTE GOMEZ

**“CONTROL DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE  
*Rosmarinus Officinalis* (ROMERO) y NISTATINA  
PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO DE *Cándida*  
*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**

---

Mg. Gian Carlo Valdez Velazco  
Nº de colegiatura: 21784  
**Miembro**

---

MSc. Kandy Faviola Tuero Chirinos  
Nº de colegiatura: 21076  
**Presidente**

Juliaca – Perú

2018

Dedico este trabajo a Dios, a mis queridos padres José Luis y Margot por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, tanto académica, como de la vida por su incondicional apoyo en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.

A mi amado esposo Henry Gonzalo, por su apoyo y ánimo que me brinda cada día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales así como su comprensión, cariño y amor.

A mi adorada hija Cataleya Vianney, a quien amo demasiado y cuidaré hasta verte hecha una persona de bien y que puedas valerte por sí misma, por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más, y así poder luchar para que la vida nos depara un futuro mejor.

Agradezco a la Universidad Alas Peruanas, por haberme permitido formarme en ella, y ser un profesional.

A mi asesor de tesis Dr. Cesar Mamani Catacora por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

Gracias a cada maestro que hizo parte de este proceso de formación, que deja como producto terminado la tesis.

Finalmente agradezco a quien lee este apartado y más de mi tesis, por permitir a mis experiencias, investigaciones y conocimiento, incurrir dentro de su repertorio de información mental.

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el control de la actividad in vitro de *Rosmarinus Officinalis*(Romero) y Nistatina para inhibir el crecimiento 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 *Rosmarinus officinalis* al 40%, 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 *Rosmarinus officinalis* al 40% presentó una inhibición de crecimiento promedio de 8.27mm, con una desviación estándar de 0.86mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 7mm y el máximo de 10mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 15.8mm, con una desviación estándar de 1.03mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 14mm y el máximo de 18mm.

**Conclusiones:** Al evaluar el control de la actividad in vitro de *Rosmarinus Officinalis* ( Romero) y nistna para inhibir el crecimiento de cándida albicans, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.

**Palabras clave:** *Rosmarinus officinalis*, Mycostatin 100 000 UI/ml, Agar Sabouraud, discos filtros de difusión tipo whatman, escala McFarland.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the control of in vitro activity of Rosmarinus Officinalis (rosemary) and nystatin to inhibit the growth 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 Rosmarinus officinalis at 40%, embedded in Whatman No. 3 diffusion filter discs were inoculated on culture media prepared with Saboraud 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 Rosmarinus officinalis at 40% presented an inhibition of average growth of 8.27mm, with a standard deviation of 0.86mm, the minimum inhibitory halo was 7mm and the maximum of 10mm, on the other hand the nystatin had an average of 15.8mm, with a standard deviation of 1.03mm, the minimum inhibitory halo was 14mm and the maximum was 18mm.

**Conclusions:** When evaluating the control of in vitro activity of rosmarinus officinalis ( rosemary) and nystatin to inhibit the growth of candida albicans, Juliaca 2018, there is a significant difference.

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

## LISTA DE CONTENIDO

|  | Pag.      |
|--|-----------|
| Caratula .....   | ii        |
| Hoja de aprobación .....                                 | iii       |
| Dedicatoria.....   | iv        |
| Agradecimiento .....                                     | v         |
| Resumen.....   | vi        |
| Abstract.....  | vii       |
| Lista de Contenido .....                                 | viii      |
| Lista de Tablas.....                                     | xi        |
| Lista de gráficos .....                                  | xii       |
| Introducción .....                                       | xiii      |
| <br>   |           |
| <b>CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>      | <b>14</b> |
| <br>   |           |
| <b>1.1 Descripción de la realidad problemática .....</b> | <b>14</b> |
| <b>1.2 Formulación del problema .....</b>                | <b>16</b> |
| 1.2.1 Problemas específicos .....                        | 16        |
| <b>1.3 Objetivos de la investigación.....</b>            | <b>16</b> |
| 1.3.1. Objetivo General .....                            | 16        |
| 1.3.2. Objetivos específicos .....                       | 17        |
| <b>1.4 Justificación de la investigación .....</b>       | <b>17</b> |
| 1.4.1 Importancia de la investigación .....              | 18        |
| 1.4.2 Viabilidad de la investigación .....               | 18        |
| <b>1.5 Limitaciones del estudio .....</b>                | <b>18</b> |
| <br>   |           |
| <b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>                   | <b>19</b> |
| <br>   |           |
| <b>2.1 Antecedentes de la investigación.....</b>         | <b>19</b> |
| 2.1.1 Antecedentes internacionales.....                  | 19        |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.1.2 Antecedentes nacionales .....                                 | 24        |
| <b>2.2 Bases teóricas.....</b>                                      | <b>28</b> |
| 2.2.1 Candidiasis o Candidosis .....                                | 28        |
| 2.2.1.1 Clasificación Taxonómica.....                               | 28        |
| 2.2.1.2 Epidemiología.....  | 29        |
| <b>2.2.2 <i>Rosmarinus officinalis</i> “Romero” .....</b>           | <b>34</b> |
| 2.2.2.1 Clasificación Sistemática.....                              | 35        |
| 2.2.2.2 Distribución Geográfica .....                               | 35        |
| 2.2.2.3 Descripción General.....                                    | 36        |
| 2.2.2.4 Composición química .....                                   | 36        |
| 2.2.2.5 Propiedades del romero .....                                | 38        |
| 2.2.2.6 Mecanismo de acción.....                                    | 40        |
| 2.2.2.7 Reacciones adversas .....                                   | 41        |
| 2.2.2.8 Uso del romero en la medicina.....                          | 41        |
| <b>2.2.3 Nistatina .....</b>  | <b>42</b> |
| 2.2.3.1 Indicaciones .....  | 42        |
| 2.2.3.2 Dosificación.....   | 42        |
| 2.2.3.3 Efectos adversos.....                                       | 43        |
| <b>2.2.4 Definición de la terminología.....</b>                     | <b>43</b> |
| <br>  |           |
| <b>CAPITULO III: HIPOTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN.....</b> | <b>45</b> |
| <br>  |           |
| <b>3.1 Formulación de hipótesis principal y derivadas .....</b>     | <b>45</b> |
| 3.1.1 Hipótesis principal .....                                     | 45        |
| 3.1.2 Hipótesis derivadas .....                                     | 45        |
| <b>3.2 Variables; definición conceptual y operacional .....</b>     | <b>46</b> |
| 3.2.1 Variable independiente.....                                   | 46        |
| 3.2.2 Variable dependiente.....                                     | 46        |
| 3.2.3 Operacionalización de variables.....                          | 47        |
| <br>  |           |
| <b>CAPITULO IV: METODOLOGIA .....</b>                               | <b>48</b> |
| <br>  |           |
| <b>4.1 Diseño metodológico.....</b>                                 | <b>48</b> |
| <b>4.2 Diseño muestral .....</b>                                    | <b>49</b> |

|   |    |
|---|----|
| 4.2.1 Criterios de inclusión .....  | 49 |
| 4.2.2 Criterios de exclusión .....  | 49 |
| 4.3 <b>Técnicas de recolección de datos</b> .....                                   | 50 |
| 4.4 <b>Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información</b> .....      | 54 |
| 4.5 <b>Aspectos éticos</b> .....  | 54 |
| <br>  |    |
| <b>CAPITULO V: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN</b> .....                                       | 55 |
| <br>  |    |
| 5.1. <b>Análisis descriptivo</b> .....  | 55 |
| 5.2. <b>Comprobación de hipótesis</b> .....   | 61 |
| 5.3. <b>Discusión</b> .....   | 63 |
| <br>  |    |
| <b>CONCLUSIONES</b> .....   | 65 |
| <b>RECOMENDACIONES</b> .....  | 65 |
| <b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b> .....   | 66 |
| <br>  |    |
| <b>ANEXOS</b>   |    |
| <br>  |    |
| Anexo 01: Solicitud de permiso para ejecución de proyecto de investigación<br>..... | 70 |
| Anexo 02: Consentimiento informado .....  | 71 |
| Anexo 03: Instrumento de recolección de datos n°1 .....                             | 72 |
| Anexo 04: Ficha de recolección de datos n°2 .....                                   | 73 |
| Anexo 05: Registro fotográfico .....  | 74 |
| Anexo 06: Matriz de consistencia .....  | 75 |

## LISTA DE TABLAS

Pág.

|   |    |
|---|----|
| TABLA N°1: Control de la actividad <i>in vitro</i> de <i>Rosmarinus Officinalis</i><br>(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de <i>Candida Albicans</i> Juliaca<br>2018..... | 55 |
| TABLA N°2: control de la actividad <i>in vitro</i> en muestras<br>de <i>Candida Albicans Rosmarinus officinalis</i> (Romero)<br>Juliaca 2018.....                                       | 57 |
| TABLA N°3: control de la actividad <i>in vitro</i> en muestras<br>de <i>Candida Albicans</i> con nistatina, Juliaca 2018 .....  | 59 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|   | Pág. |
|---|------|
| GRAFICO N°1: Control de la actividad <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida Albicans</i> con Romero y Nistatina , Juliaca 2018 .....                   | 56   |
| GRAFICO N°2: Control de la actividad <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida Albicans</i> con <i>Rosmarinus Officinalis</i> (Romero), Juliaca 2018..... | 58   |
| GRAFICO N°3: Control de la actividad <i>in vitro</i> en muestras de <i>Candida Albicans</i> con Nistatina, Juliaca 2018.....                              | 60   |

## INTRODUCCION

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, limitandose en ciertas sociedades, lo que ha estimulado a la búsqueda de alternativas en los productos naturales como el romero (*Rosmarinus officinalis*) 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, despues 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.

# CAPITULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. DESCRIPCION DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA:

La candidiasis es una lesión blanca que se define como una infección causada por el hongo del género *Cándida* (1), a nivel bucal el término a considerarse es candidiasis oral o muget y 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 microorganismo oportunista, 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.

Las enfermedades provocadas por hongos han incrementado su frecuencia y su importancia clínica, a causa del aumento del uso de drogas inmunosupresoras potentes en trasplantes, en terapia anticancerosa y por la aparición de infecciones virales que causan inmunodeficiencia (1).

La medicina tradicional peruana, herencia de tiempos precolombinos, sigue siendo la primera instancia de consulta y tratamiento 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 la odontología 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 *Rosmarinus officinalis* . Conocida usualmente como romero, 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 etanólicos de *Rosmarinus officinalis*, 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 del control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018.

## **1.2. FORMULACION DEL PROBLEMA:**

¿Cuál será el resultado del control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus officinalis*(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Cándida albicans*, Juliaca 2018?

### **1.2.1. PROBLEMAS ESPECIFICOS:**

- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en la Nistatina después de la intervención?
- ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo de *Rosmarinus officinalis* después de la intervención?

## **1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION:**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar el control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis*(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018.

### 1.3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Determinar la inhibición del crecimiento fúngico en la Nistatina después de la intervención.
- Determinar la inhibición del crecimiento fungico en el grupo de *Rosmarinus officinalis* después de la intervención.

### 1.4. JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACION:

Existe gran incidencia de infecciones bucales ocasionada por *Cándida albicans* reportados a nivel hospitalario y centros de salud y que pueden ser resistentes a muchos antifúngicos de uso común y vehiculizadas por equipos o procedimientos invasivos. 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 prevenir las en base a los recursos naturales con *Rosmarinus officinalis* como una alternativa de tratamiento

Además, los reportes de trabajos son mínimos con este componente natural que revele el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Candida albicans*. Los resultados de este estudio permitirán determinar si el extracto acuoso tiene actividad antifúngica, así como también su uso en terapia o como desinfectante o como indicador de

inhibición del crecimiento microbiano, como también para elaboración de posibles colutorios.

#### **1.4.1. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACION:**

La presente investigación tendrá importancia teórica y social porque enriquecerá los conceptos de utilización de compuestos naturales a base de *Rosmarinus officinalis* 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 microorganismos o con grupos de pacientes (in vivo).

#### **1.4.2. VIABILIDAD DE LA INVESTIGACION:**

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.

#### **1.5. 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, el mantenimiento específico del hongo..

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEORICO**

#### **2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION:**

##### **2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES:**

**Reyes (2017)** Enfermedad periodontal: actividad de *Rosmarinus Officinalis* sobre su microbiota bacteriana. Las enfermedades gingivales y periodontales se consideran la segunda causa asociada a pérdida dental, siendo los microorganismos presentes los responsables del comienzo y desarrollo de la enfermedad. Ante las inmensas propiedades terapéuticas del *Rosmarinus Officinalis*, nuestro objetivo fue determinar su actividad antimicrobiana sobre bacterias presentes en enfermedad periodontal. Obtenidas las muestras de pacientes se cultivaron en agares MAS, EMB, SIM, MH y AS, se realizaron pruebas bioquímicas para su identificación y aislamiento y se evaluó el efecto antibacterial por técnicas tradicionales de

susceptibilidad y proliferación celular mediante ensayo MMT. Se identificaron *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi) y *Tannerella forsythensis* (Tf). Se observó la ausencia de efecto antibacteriano contundente. Concluimos que en la enfermedad periodontal *Rosmarinus officinalis*, bajo las condiciones evaluadas, no presentó efecto antibacteriano. (4)

**Montero-Recalde (2017)** Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus Officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli* Effect antimicrobial of extract of *Rosmarinus officinalis* on strain of *Escherichia coli*. El trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto oleoso crudo de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre *Escherichia coli*. Se evaluaron concentraciones al 20%, 40%, 60 y 80% en dilución en etanol al 70%. Se determinó la CIM mediante el método de microdilución en caldo, el inóculo bacteriano de la cepa ATCC 25922 se activó en el agar diferencial para Enterobacterias MacConkey y se la estandarizó al 0.5 de la escala de MacFarland en espectrofotómetro, teniendo como resultado que el tubo al 60% y 80% de extracto oleoso de romero no presentaron turbidez, los cuales al ser sembrados en agar Mueller-Hinton determinó la CMB en la que no se observó crecimiento de colonias. Se realizó la medición de los halos de inhibición formados a partir de los discos OXOID impregnados con las concentraciones del extracto oleoso de romero más etanol y se concluye que el extracto oleoso al 60% y 80% presentaron el mayor efecto antibacteriano al formar halos de 9.10 mm y 10.90 mm respectivamente. (5)

**Vázquez (2017)** Evaluación del uso de fitoquímicos para el tratamiento de bacterias multirresistentes. El tratamiento de las bacterias multirresistentes a antibióticos de uso común en la clínica humana representa uno de los mayores desafíos para la salud pública mundial en la actualidad. Los fitoquímicos que presentan actividad antimicrobiana, en general derivados de plantas medicinales, son una potencial estrategia para combatir las bacterias resistentes a múltiples antibióticos (mdr, del inglés multi-drug resistant). Si bien se conocía que el diterpeno principal de hojas de *Rosmarinus Officinalis* (romero) el ácido carnósico y el monoterpeno volátil 1,8- cineol que es uno de los componentes principales de sus aceites esenciales presentaban efectos antimicrobianos, en este trabajo se investigó si los mismos eran capaces o no de inhibir cepas nosocomiales multirresistentes a antibióticos como *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (sarm) y *Klebsiella pneumoniae* multirresistentes (mdr-kp). Se estudió la actividad antibacteriana mediante la técnica de dilución en medio líquido en placas de 96 pocillos. Se evaluó el efecto antibiofilm mediante tinción con cristal violeta y análisis por microscopía confocal. Los resultados mostraron que el ácido carnósico exhibió actividad antibacteriana contra todos los aislados clínicos de sarm ensayados en estado planctónico y que presentaban entre 4 a 9 resistencias a antibióticos. Demostramos en este trabajo que la combinación del diterpeno con gentamicina no solo disminuyó las concentraciones inhibitorias mínimas (cims) de ambos compuestos entre 4 a 5 veces, sino que notablemente fue capaz de potenciar la acción bactericida de la gentamicina entre 32 a 40 veces tanto en aislados clínicos

de sarm susceptibles como sobre 2 aislados altamente resistentes a la gentamicina. además, los resultados obtenidos en este trabajo permitieron caracterizar la actividad antibiofilm (disminución del biofilm preformado) del 1,8-cineol sobre aislados nosocomiales de mdr-kp. todos los resultados obtenidos aquí soportan la idea que los fitoquímicos de romero estudiados exhiben un alto potencial para la prevención/tratamiento de infecciones asociadas a bacterias multirresistentes, en particular asociadas con sarm y mdr-kp. (6)

**Bracho (2017)** Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarius Officinalis* (romero) en cepas de *Porphyromonas Gingivalis* estudio *in-vitro*. La fitoterapia mediante investigaciones ha demostrado ser un método alternativo eficaz frente a distintas afecciones en seres humanos, por lo que, el aporte en distintos campos como en la Odontología sería de gran beneficio. Es así que el propósito de este estudio *in vitro* es determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Rosmarius Officinalis* (Romero), frente a la cepa de *Porphyromonas Gingivalis*. En este estudio se obtuvo el aceite de Romero mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua, y se trabajó en dos concentraciones de 100% y 50%. Mediante el método de Kirby Bauer (difusión en agar) se determinó su inhibición, a los siete días de exposición, para lo cual se colocaron cuatro discos blancos en cada una de las diez cajas petri, embebidos previamente con aceite esencial a sus dos concentraciones, clorhexidina al 0.12% como control positivo y suero fisiológico como control negativo y se lo incubó en un ambiente de anaerobiosis. Los resultados obtenidos fueron analizados con las pruebas de

ANOVA y TUKEY con las que se pueden determinar que existieron discrepancias significativas en el grupo de estudio, comprobando que el aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis* en sus dos concentraciones posee efecto inhibitorio sobre la *Porphyromonas Gingivalis* (7)

**Vásconez (2016).** Efecto anti fúngico “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcoholico de *Rosmarinus Officinalis* “Romero” sobre *Candida Albicans* cepa ATCC 10231. El presente trabajo tiene por finalidad evaluar el efecto anti fúngico “*in vitro*” de aceite esencial y EARO (Extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis*) en concentraciones al 100%,75%,50% y 25% sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231. Para dicho fin se sembró en agar Sabouraud utilizando el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales y se incubó durante 18 h a 37° C, pasado dicho tiempo se procedió a la lectura de los diámetros del halo de inhibición. Los resultados que se obtuvieron fueron halos de inhibición en promedio de 5,8 mm en 15% de EARO, 9,1 mm en 20% de EARO, 10,66 mm en 25% de EARO, 11,83 mm en 50% de EARO, 12,5 mm en 75% de EARO, 14,73 mm en 100% de EARO, el halo de inhibición generado por el aceite esencial fue de 9,2 mm. Comprobándose que el extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero”, presenta una efectividad anti fúngica sobre *Candida Albicans* cepa ATCC 10231. Se determinó que el extracto alcohólico es más efectivo que el aceite esencial a nivel fúngico y que ambas substancias son potencialmente útiles en la terapia contra la candidiasis. (8)

**Bonilla (2016).** Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultivada *in vitro*. El interés por los productos naturales como fuente de agentes antimicrobianos ha ido en aumento. Estudios previos han demostrado que extractos de plantas pueden inhibir la proliferación bacteriana en la cavidad oral. El objetivo de este estudio fue determinar la susceptibilidad *in vitro* de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 frente al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*. Para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial se utilizó el método cuantitativo de dilución en agar, descrito por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para bacterias anaerobias. El aceite esencial de *R. officinalis* demostró una concentración mínima inhibitoria (CMI) contra *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 de 1000 µg/ml. Estos resultados sugieren que el aceite esencial podría ser útil como un agente antibacteriano en preparaciones de uso oral. (9)

### **2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES:**

**Vallejos (2017)** Objetivo: Determinar el efecto antifúngico *in vitro* del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* “Romero” contra *Candida albicans* Material y métodos: Estudio experimental, diseño de estímulo creciente. Se emplearon 12 unidades experimentales, se emplearon 6 concentraciones diferentes del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* y dos cepas de la especie de *C. albicans*. Con el método de dilución doble seriada se determinaron las diferentes concentraciones, para el efecto antifúngico se empleó el método de Kirby-Bauer y el método de difusión en pozo.

Resultados: Se emplearon 2g de residuo seco de *Rosmarinus officinalis*, se obtuvieron las siguientes concentraciones 40 mg/mL, 20 mg/mL, 10 mg/mL, 5mg/mL 2,5 mg/mL y 1,25 mg/mL. Presentó efecto antifúngico a 40 mg/mL, 20 mg/mL, 10 mg/mL respectivamente. Conclusiones: El extracto acuoso de hojas de *Rosmarinus officinalis* tiene efecto antifúngico contra *Candida albicans*. (10)

**Vázquez (2018)** Eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de Plantago mayor (llantén) y clindamicina en colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) *in vitro*. El objetivo principal de la presente investigación fue evaluar la eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de Plantago mayor (llantén) y clindamicina sobre colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); las muestras fueron recolectadas del departamento de Cajamarca, provincia de Cajamarca, distrito de Jesús, comunidad de la Huaraclla. El trabajo se realizó mediante el método de disco difusión en agar, utilizando concentraciones de 25, 50 y 100% del extracto metanólico de las hojas de llantén y discos con clindamicina de 2µg, el ensayo se realizó por triplicado. Los resultados mostraron que el extracto metanólico no presentó efecto inhibitorio (halos promedio de 6 mm) sobre el crecimiento de la cepa en estudio; sin embargo, con la clindamicina sí se obtuvo la inhibición de la cepa (halos promedio de 12,7mm). Además, la prueba de T-student reportó diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ) entre grupos de estudio. Se concluye que el extracto metanólico de las hojas de Plantago mayor (llantén) no presentan eficacia inhibitoria sobre colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) en comparación con clindamicina que sí la inhibió. (11).

**Cano (2017).** Efecto del extracto etanólico de azadirachta indica (neem) sobre la viabilidad *in vitro* de *Streptococcus mutans* ATCC 25175". Se determinó el efecto *in vitro* del extracto etanólico de Azadirachta indica (NEEM) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La evaluación consistió en el enfrentamiento de un inóculo estandarizado de *S. mutans* frente a 10 concentraciones volumétricas del extracto las cuales fueron 1000 µg/mL, 2000 µg/mL, 3000 µg/mL, 4000 µg/mL, 5000 µg/mL, 6000 µg/mL, 7000 µg/mL, 8000 µg/mL 9000 µg/mL y 10000 µg/mL, un control positivo que fue gluconato de clorhexidina al 0,12% y el control del solvente de extracción que fue etanol al 80%. Se utilizaron dos métodos de evaluación, el método de discodifusión para evaluar el efecto antibacteriano y para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) se utilizó el método de microdilución en caldo. La lectura de los resultados para el método de difusión en disco se realizó mediante la medición del diámetro de los halos de inhibición y se reportó en milímetros. Por el método de microdilución se realizó la medición en el programa LASEZ Leica y se reportó en µm de diámetro de botón. Se determinó que tanto la CMI como la CMB estuvieron por debajo de la concentración de 1000 µg/mL. La mayor inhibición se encontró a la concentración de 9000 µg/mL. Experimentalmente se comprobó que el extracto etanólico de NEEM tiene efecto inhibitorio sobre *S. mutans* ATCC 25175 pero estadísticamente se demostró que no había significancia respecto al control positivo  $p < 0.05$ . Se presume que el efecto inhibitorio del extracto observado experimentalmente se pudo deber al compuesto fenólico presentes en las hojas de la planta

cuyos efectos antibacteriano se han sustentado en investigaciones previas. Se concluye que el extracto alcohólico de *Azadirachta indica* (NEEM) tiene efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 pero dicha inhibición cuando se compara con el control positivo gluconato de clorhexidina al 0.12% no es estadísticamente significativa. (12)

**San Roman (2013)** Actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* *in vitro* sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica, tomando como control positivo a la clorhexidina 0,12 %. Se seleccionaron 24 pacientes con diagnóstico clínico y radiográfico de periodontitis crónica, que acudieron a atenderse en la clínica de la Facultad de Odontología de la UNMSM. Se procedió a tomar la muestra con conos de papel número 30 se colocó dentro del saco periodontal durante 30 segundos, luego se llevaron las muestras al laboratorio de microbiología para su procesamiento. Se utilizó el método de difusión en pocillos con las soluciones experimentales y se incubó en condiciones de anaerobiosis, por 48 h a 37 °C, para luego proceder a la lectura de los diámetros del halo de inhibición. De los resultados se comprobó que existe igual actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* a una concentración de 75mg/ml con la clorhexidina 0,12% sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica. (13)

## 2.2. BASES TEORICAS:

### 2.2.1. CANDIDIASIS O CANDIDIOSIS

**Definición:** 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 (14)

**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 (14)

#### 2.2.1.1. Clasificación taxonómica:

Teniendo en cuenta la reproducción sexuada de las levaduras se las incluye en las subdivisiones *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* y *Deuteromycotina* (cuando no se conoce la reproducción sexuada) (14).

Dominio: Eucarya Reino: Fungi División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina Clase: Blastomycetes Familia:

Cryptococcaceae 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 sexuada):

*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. guillermondii*, *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<sup>16</sup>. 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 hong0 (14). 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. Las causas predisponentes se pueden agrupar en:

- **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).
- **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 transplantes de órganos, con tumores sólidos o con enfermedades malignas de la sangre, también tienen alto riesgo de sufrir CI.

### **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) (14) son:

- 1. 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.
- 2. 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.

3. **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
4. **“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 (14)**

1. No inmunes:
  2. La interacción con otros miembros de la flora microbiana.
  3. La integridad funcional del estrato córneo.
  4. El proceso de descamación debido a la proliferación epidérmica inducida por la inflamación.
- b. Inmunes:
  1. Inmunidad mediada por células.
  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. *Rosmarinus officinalis* “ROMERO”**

*Rosmarinus officinalis* ha sido utilizado desde la antigüedad como planta medicinal y para la obtención de aceites esenciales (15) Se dice que los faraones egipcios hacían poner sobre sus tumbas un ramillete de romero para perfumar su viaje al país de los muertos. Su aceite esencial fue obtenido por primera vez hacia el año 1330 por Ramón Llull y desde entonces, se emplea en perfumería. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para tratar el reumatismo que padecía convirtiéndose, «el agua de la reina de Hungría», en uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. Los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas. (16)

El nombre genérico, *Rosmarinus* proviene de la unión de dos vocablos griegos, *rhops*, arbusto y *myrinos*, aromático; que concuerdan perfectamente con las características de la planta; el nombre específico,

*officinalis*, expresa su aplicación como planta medicinal (17,18)

### **2.2.2.1. Clasificación sistemática**

Nombre científico: *Rosmarinus officinalis*

#### **Taxonomía**

Reino: *PLANTAE*

División: *MAGNOLIOPHYTA*

Clase: *MAGNOLIOPSIDA*

Orden: *LAMIALES*

Familia: *LAMIACEAE*

Género: *Rosmarinus*

Especie: *Rosmarinus officinalis*

Nombre vulgar: “romero”

### **2.2.2.2. Distribución geográfica**

El género *Rosmarinus* es una planta originaria de la zona mediterránea se encuentra sobre todo en el sur de Europa, norte de África y suroeste de Asia. En la Península Ibérica es más frecuente en la mitad sur y en el este, desde el nivel del mar hasta una altura de 1.200 m (19, 20,21). El género *rosmarinus* presenta varias especies entre ellas; *R. officinalis*, *R. eriocalyx* y *R. tomentosus* y otras variedades de taxones. De estos taxones, *R. officinalis* es el más ampliamente distribuido, llegando a la zona occidental de Andalucía. La variabilidad observada en su hábitat está relacionada con su gran capacidad de adaptación a distintas condiciones ambientales. (22)

### **2.2.2.3. Descripción General**

Es un arbusto aromático, de hasta 2 m de altura, sus tallos son gruesos y cuadrados. Las hojas son opuestas, pequeñas delgaditas de hasta 3cm de largo por 3mm de ancho, la parte superior es verde oscuro y el reverso, grisáceo o blanquecino, son blandas cuando están frescas y secas se desmoronan, sus ramas son densamente cubierto de hojas. Las flores son de color azul a pálido lila. El cáliz bilabiado de 5m de largo y una corola azul pálido, raramente blanca o rosa de olor fuerte. Florece durante todo el año. (23)

### **2.2.2.4. Composición química**

En la planta se han reportado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en (24, 25, 26, 27):

Cuadro 1. Composición química del “romero”

| <b>Composición química de <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero”</b> |  |
|--|--|
| Ácidos fenólicos   | (cafeico, clorogénico, labiatico, neoclorogénico rosmarínico), colina, taraxasterol, lupeol, campesterol, taninos.   |
| Flavonoides  | (Derivados del luteol y del epigenol), apigenina, diosmetina, diosmina, hispidulina, luteolina, cirsimarina, neopritina, sinensetina, cupafolina.  |
| Diterpenos   | (ácido carnósico, carnosol, rosmanol, rosmadial)   |
| Ácidos triterpénicos   | (ácido ursólico) 2 a 4 %   |
| Alcoholes triterpénicos  | (alfa y beta - amirina, betulósido)  |
| Alcaloides   | Pequeñas cantidades de rosmaricina   |
| Elementos minerales:   | 1,11% de sodio, 1.06% de potasio, 0.63% de calcio, 0.23 % de magnesio. 17ppm de hierro, 10 ppm de cobre, 26 ppm de zinc, 15 ppm de manganeso   |
| Aceite esencial 1,2 a 2 %  | 1,8-cineloI (30 - 40%), alcanfor (15 - 25%), borneol (16 - 20%), acetato de bornilo (hasta 7%), $\alpha$ -pineno (25%) como así como $\beta$ -pineno, linalol, canfeno, subinene, mirceno, $\alpha$ -felandreno, $\alpha$ -tirpene, limoneno, p-cimeno, terpinoleno, thujeje, copalene, terpinen-4- ol, $\alpha$ -terpineol, cariofileno, metil chavicol, timol. |

### **2.2.2.5. Propiedades del romero**

Los compuestos presentes en *R. officinalis* L. planta rica en principios activos, presenta acción sobre casi todos los órganos de cuerpo humano. Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico (28).

#### **Actividad antibacteriana.**

El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* presentó actividad en bacterias de la cavidad oral y en bacterias del tracto gastrointestinal. Los Extractos hidroalcohólicos también muestran actividad en bacterias de la cavidad oral y en enterobacterias

El extracto de hoja de *R. officinalis* afecta a la membrana celular de las bacterias, la actividad citotóxica afecta directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por destacar, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *S. aureus*, estos microorganismos son susceptibles a los componentes del extracto de romero, en cuyo extracto prevalecen el ácido caféico, ácido rosmarínico, carnosol, ácido carnosólico y flavonoides (29).

#### **Actividad antifúngica.**

El extracto glicólico de *R. officinalis* L. mostró efectos fungistáticos y fungicidas sobre cepas clínicas de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*

aislada de la cavidad oral de pacientes que utilizaron antibióticos prolongados (30).

### **Efectos antioxidantes.**

Se ha observado en estudios *in vitro*, la actividad antioxidante ha sido atribuida al rosmanol, carnosol y al ácido carnósilico; a estos dos últimos se les considera responsables del 90 % de la actividad. El ácido carnósico es un excelente inactivador de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario, y no solo inhibe la formación de hidroperóxidos sino también previene su descomposición, esta actividad se incrementa conforme el pH disminuye (26).

### **Actividad antiviral.**

Estudios *in vitro* en células demuestran que el extracto acuoso de *R. officinalis* mostró una alta actividad antiviral contra el herpes simple tipo 1, tipo 2 y una cepa resistente al aciclovir, el extracto afecta HSV antes de la adsorción, pero no tienen efecto en la replicación del virus intracelular. Por lo tanto, los extractos ejercen su efecto antiviral sobre el HSV libre y ofrece la posibilidad de usar una aplicación tópica terapéutica frente a las infecciones por herpes recurrentes. (31).

### **Efectos antiinflamatorios.**

El ácido rosmarínico inhibe el mecanismo complemento-dependiente de las reacciones inflamatorias; reduce el edema inducido en rata e inhibe la anafilaxis cutánea pasiva; el extracto metanólico de “romero”, aplicado tópicamente en ratones, inhibe la inflamación de la piel y la hiperplasia producida por compuestos químicos (23).

### **Efectividad antitumoral.**

En estudios realizados *in vivo* como *in vitro* el ácido carnosico contenido en el aceite esencial ha demostrado un efecto incrementando la apoptosis de las células del cáncer hepático, la inhibición del glioma inducido por el factor de necrosis tumoral y la protección frente al tumor cutáneo y mamario inducido en ratones (26).

### **Actividad en el sistema nervioso central.**

El efecto neuroprotector de extracto de *R. officinalis* L. fue investigada contra la acrilamida (neurotóxico) en ratas albinas. La administración de extractos de hojas de “romero” causa disminución de epinefrina, norepinefrina y dopamina en diferentes áreas del cerebro, efecto que se atribuyó a la presencia del ácido cafeico y el ácido rosmarínico, también detectaron que la presencia de ácido ursólico y carnosol, este incrementa los niveles de óxido nítrico de tal forma que disminuye el contenido de catecolaminas lo que implicaría el efecto neuroprotector (32).

#### **2.2.2.6. Mecanismo de acción.**

Los polifenoles desempeñan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento debido a que cambian las condiciones del medio y penetran en la membrana celular de los microorganismos provocando lisis. Se ha reportado que algunos ácidos orgánicos (ácido ascórbico, ácido rosmérico, ácido cafeico) son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias. Algunos flavonoides tienen su participación en la inhibición debido a que estos

generalmente se relacionan con la inhibición de síntesis de ADN y ARN y otras macromoléculas (33).

#### **2.2.2.7. Reacciones adversas**

El aceite esencial puede producir cefaleas, espasmos musculares, gastroenteritis, irritación del endotelio renal; en dosis altas puede resultar neurotóxico (convulsivante) y abortivo. En uso tópico es rubefaciente, por lo que hay que evitar el contacto con las mucosas y zonas de la piel alteradas (34).

Se aconseja no administrar el aceite esencial durante el embarazo, periodo de lactancia, en niños pequeños, pacientes con gastritis, úlceras gastroduodenales, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hepatopatías, epilepsia, Parkinson u otras enfermedades neurológicas. No aplicar a personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad conocida a éste u otros aceites esenciales. (33)

#### **2.2.2.8. Uso del romero en la medicina.**

El ácido rosmarínico se absorbe bien en el tracto gastrointestinal y de la piel. Se aumenta la producción de prostaglandina E2 y reduce la producción de leucotrieno B4 en los leucocitos polimorfonucleares humanos, e inhibe el sistema del complemento. Se concluye que el “romero” y de sus componentes derivados del ácido cafeico especialmente tales como el ácido rosmarínico tienen un potencial terapéutico en el tratamiento o

prevención del asma bronquial, trastornos espasmogénico, úlcera péptica, enfermedades inflamatorias, hepatotoxicidad, aterosclerosis, enfermedad cardiaca isquémica, catarata, cáncer y pobres motilidad espermática (24).

### **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. (35)

#### **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. (35)

#### **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. (35)

### **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. (35)

### **2.2.4. Definición de la terminología**

**Antifúngico:** Sustancias que destruyen hongos al suprimir su capacidad para crecer o reproducirse (36).

**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 (36).

**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 (36).

**Levadura:** Término general para hongos redondos unicelulares que se reproducen por brotes (36).

**Micosis:** Enfermedades causadas por hongos (36).

**Antígeno:** Sustancias que son reconocidas por el sistema inmune y que inducen una reacción inmune (36).

**Fenotipo:** Apariencia externa del individuo. Es producto de las interacciones entre genes y entre el genotipo y el ambiente (36).

**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 (36).

## CAPITULO III

### HIPOTESIS Y VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

#### 3.1. FORMULACION DE HIPOTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS

##### 3.1.1. HIPOTESIS PRINCIPAL:

Al evaluar el control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y Nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans* Juliaca, 2018, existe diferencia significativa.

##### 3.1.2. HIPOTESIS DERIVADAS:

- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15 mm en la Nistatina después de la intervención
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 10 mm en el grupo de *Rosmarinus officinalis* después de la intervención.

## 3.2. VARIABLES; DEFINICION CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

### 3.2.1. VARIABLE INDEPENDIENTE:

***Rosmarinus officinalis***: Resina de color amarillento verdoso con concentración hidro-alcohólica de *Rosmarinus officinalis* al 40 %, con propiedades antifungicas.

**Nistatina**: Antifungico farmacéutico, solución oral de 100 000 UI/ml en frasco de 12ml.

### 3.2.3. VARIABLE DEPENDIENTE:

**Inhibición del crecimiento fúngico**: Actividad antifúngica que no permite el crecimiento de *Cándida Albicans* alrededor de un halo de inhibición que se mide en milímetros (mm).

### 3.2.4. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES:

| Variables  | Definición conceptual  | Dimensión   | indicadores  | Escala          | categoría           |
|--|--|---|--|-----------------|---------------------|
| <p><b>Variables independientes</b></p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i></p>                            | <p>Resina de color amarillento verdoso con concentración hidro-alcohólica de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 40% .</p>                                  | <p>Aplicación de:</p> <p>- <i>extracto etanólico de Rosmarinus officinalis</i> al 40%</p> | <p>Solución líquida embebida en discos filtros 40% tipo wathman</p>                  | <p>Nominal</p>  | <p>Si</p> <p>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</p> <p>No</p> |
| <p><b>Variable Dependiente</b></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 realizado en placas Petry con agar saboraud.</p> | <p>De Razón</p> | <p><b>Mm</b></p>    |

## **CAPITULO IV**

### **METODOLOGIA**

#### **4.1. DISEÑO METODOLÓGICO:**

La investigación que se presenta es de tipo cuantitativo porque la recolección de datos se hace para probar hipótesis, existen mediciones, se hace uso de estadística, es secuencial, probatorio, deductivo, comparativo, objetivo, preciso y se puede replicar; el nivel investigativo es aplicativo puesto que el investigador hace intervención sobre la variable independiente y espera ver el efecto en la variable dependiente, buscando el posible factor de efecto al problema de investigación, el tipo de estudio según la secuencia y periodo de estudio es transversal, según el tiempo de ocurrencia de los hechos es prospectivo; el diseño según la intervención del investigador es experimental.

## **4.2. DISEÑO MUESTRAL:**

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.

La selección del número de muestras se hará por conveniencia por ser de tipo experimental, con un muestreo no probabilístico que cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Con un tamaño de muestra de = 30 medios de cultivos.

### **4.2.1. CRITERIOS DE INCLUSION:**

- Tinción Gram Positivo
- Análisis microbiológico positivo
- Medios de cultivo vigentes a la fecha de vencimiento

### **4.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSION:**

- Tinción Gram Negativo
- Análisis microbiológico negativo
- Medios de cultivo contaminados por otros microorganismos
- Medios de cultivo dañados y mal manipulados.

#### 4.3. TECNICA DE RECOLECCION DE DATOS:

1. Se realiza la prueba piloto en 5 muestras de *Candida albicans* por cada grupo de estudio para la validación del instrumento.

2. Selección de las unidades de estudio:

El *Rosmarinus officinalis* se prepara en laboratorio de la Universidad Alas Peruanas *Rosmarinus officinalis* (Romero) provenientes de la serranía de Moho, departamento de Puno. El procesamiento será de la siguiente manera:

- Se usó las hojas frescas de *R.officinalis* 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 agregó una mezcla hidroalcohólica 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 último 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 40% (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 pseudomembranosa 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 estandarizó 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 procedió 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 Etanólico de *Rosmarinus officinalis*, utilizando la técnica del disco de difusión se aplicó la sustancia a base de Extracto Etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 40% 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 líquida 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 etanólico de *Rosmarinus officinalis*.

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

- se depositaron los discos de papel tipo Whatman N° 3 de 6 milímetros de diámetro impregnados con 20ul de las soluciones alcohólicas de *Rosmarinus officinalis* correspondientes al 40% y un segundo disco impregnado con 20ul 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 cubreplacas para ser depositados en una incubadora a 37°C hasta 24 horas.

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

a. Se retiraron de la incubadora y se secaron con algodón.

b. Se observó la inhibición del halo inhibitorio en la sustancia experimental del extracto etanolico de *rosmarinus officinalis*.

1. 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.

2. 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.

3. 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.
4. El control se hizo a las 24 horas.
5. Se revisó las fichas de recolección de datos. (ANEXO 3)
6. Se enviaron a una base de datos.
7. Se tabularon los datos
8. Se efectuaron los análisis de datos.
9. Se Graficaron e interpretaron.
10. Se obtuvieron resultados.

#### **4.4 Técnicas estadísticas para el procesamiento 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.

#### **4.5 Aspectos éticos**

Se hace cumplimiento irrestricto al código de ética mediante el decálogo del investigador científico de la Universidad Alas Peruanas aprobado con resolución N° 1748-2016-R-UAP.

## CAPITULO V

### ANALISIS Y DISCUSION

#### 5.1. Análisis descriptivo

TABLA N°1

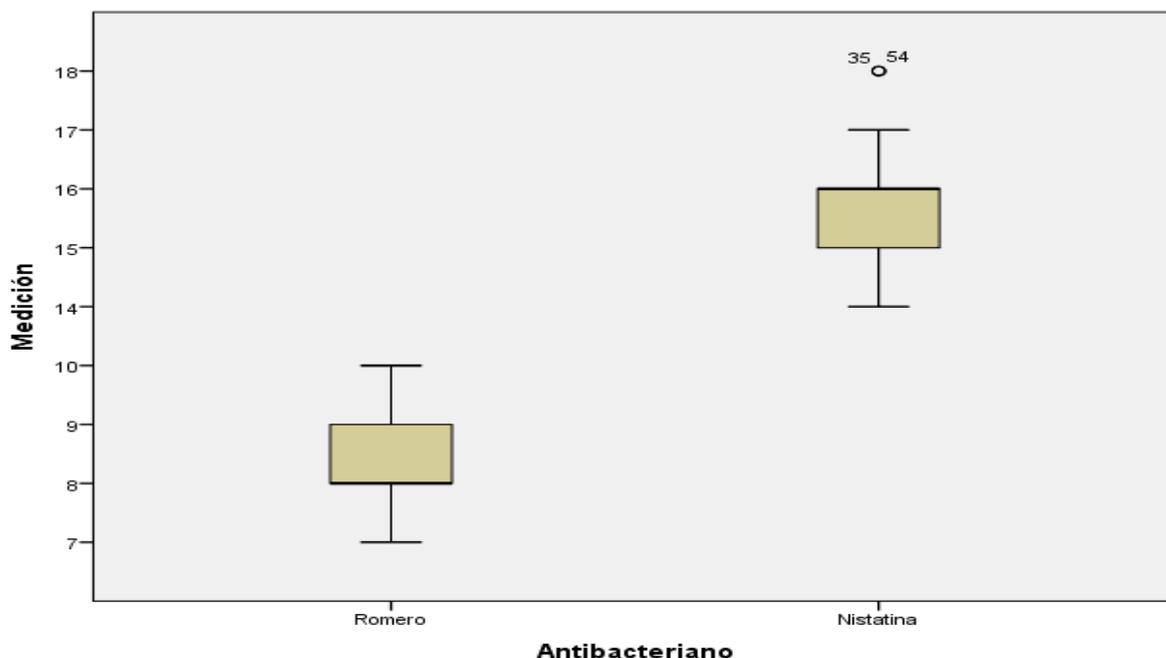
Control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018

|                     | Romero | Nistatina |
|---------------------|--------|-----------|
| N                   | 30     | 30        |
| Mínimo              | 7      | 14        |
| Máximo              | 10     | 18        |
| Media               | 8.27   | 15.8      |
| Desviación estándar | 0.86   | 1.03      |

Fuente: matriz de datos

## GRAFICO N°1

Control de la actividad *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con romero 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 romero (*Rosmarinus officinalis*) presentó una inhibición de crecimiento promedio de 8.27mm, con una desviación estándar de 0.86mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 7mm y el máximo de 10mm, por otra parte la nistatina tuvo un promedio de 15.8mm, con una desviación estándar de 1.03mm, el halo inhibitorio mínimo fue de 14mm y el máximo de 18mm.

**Tabla N°2**

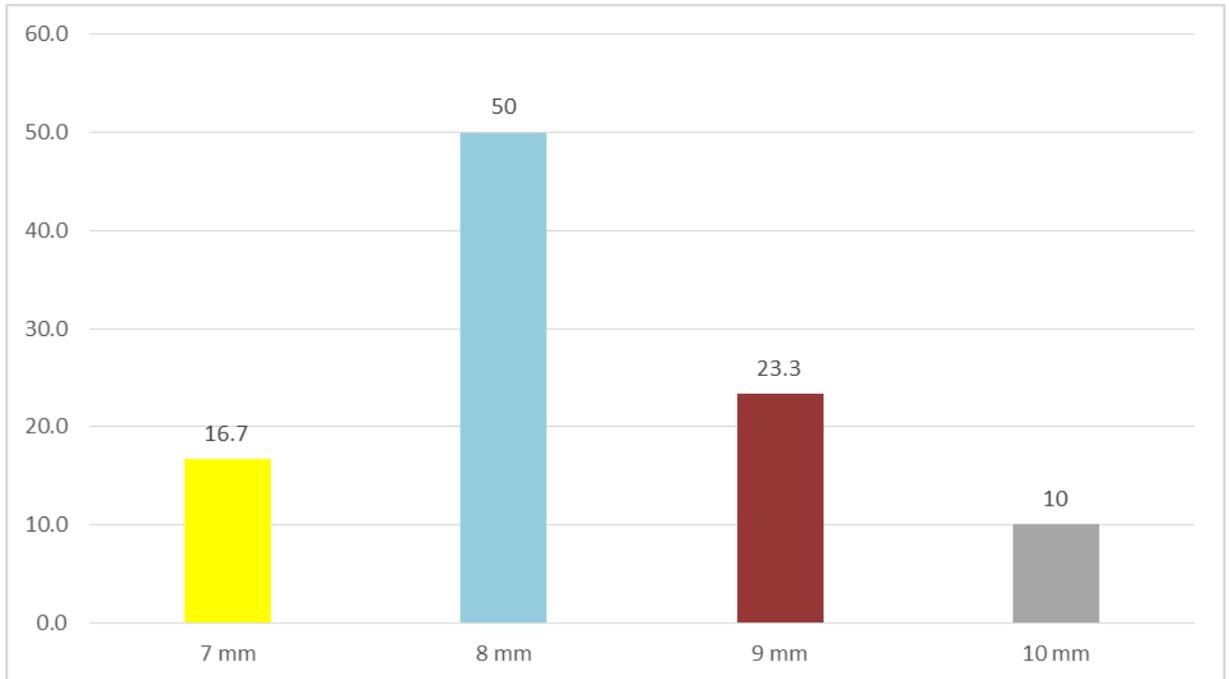
**Control de la actividad *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con  
Rosmarinus Officinalis (Romero) , Juliaca 2018**

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

**Fuente:** matriz de datos

## Gráfico N°2

Control de la actividad *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con *Rosmarinus Officinalis*(Romero) , Juliaca 2018



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

**Tabla N°3**

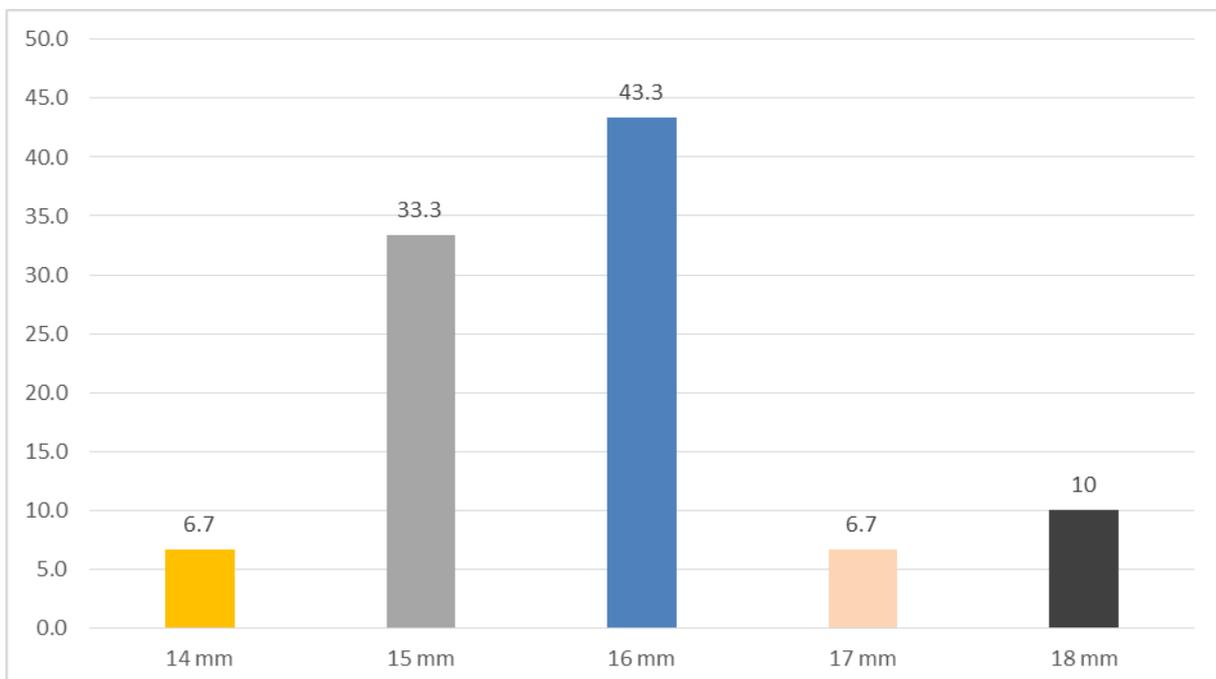
**Control de la actividad *in vitro* en muestras de *Candida Albicans* con nistatina, Juliaca 2018**

|       | N  | %    |
|-------|----|------|
| 14 mm | 2  | 6.7  |
| 15 mm | 10 | 33.3 |
| 16 mm | 13 | 43.3 |
| 17 mm | 2  | 6.7  |
| 18 mm | 3  | 10   |
| Total | 30 | 100  |

**Fuente:** matriz de datos

### GRAFICO N°3

**Control de la actividad *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 14 mm en 6.7 %, 15 mm en 33.3%, 16 mm en 43.3 %,17 mm en 6.7%, 18 mm en 10%, de las muestras estudiadas.

## 5.2. Comprobación de la hipótesis

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

#### Planteamiento de hipótesis estadística:

##### 1. Hipótesis general

Ho: Al evaluar el control de la actividad in vitro de Rosmarinus Officinalis (ROMERO) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, no existe diferencia significativa.

Hi: Al evaluar el control de la actividad in vitro de Rosmarinus Officinalis (ROMERO) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa.

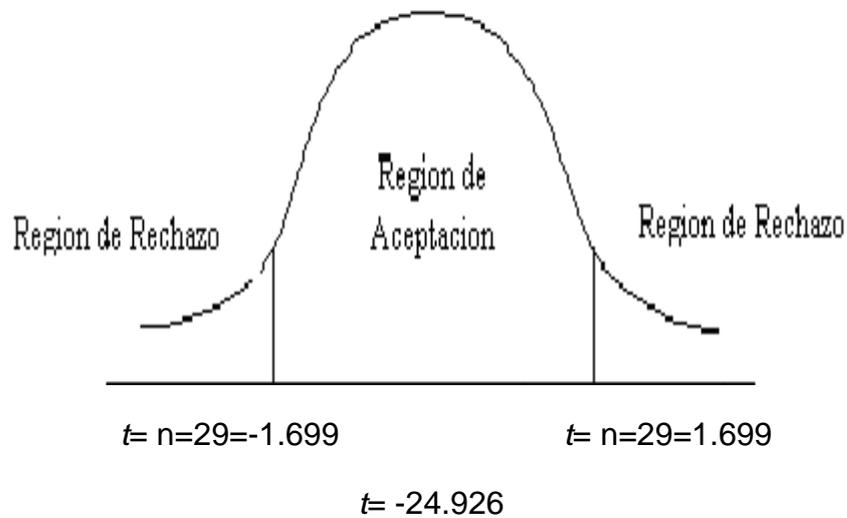
##### 2. Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

##### 3. Estadística de prueba

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

#### 4. 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  $H_1$ .

**5. 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 control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis*(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans*, Juliaca 2018, existe diferencia significativa

### 5.3. 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 etanólico de *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra múltiples patógenos (bacterias, hongos, levaduras y virus) mostrato efectividad por los investigadores más pocos son los estudios contra *candida albicans*

Dentro de los alcances de la presente investigación. Los resultados encontrados concuerda con Vallejo (2017) Al aplicar extracto acuoso de hojas de *Rosmarinus officinalis* 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: Bonilla (2016) 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 Vazcones (2016) al elegir el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* 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 del *Rosmarinus Officinalis* varia en cuanto a su composición por lo tanto el resultado no se espera con exactitud.

Se está de acuerdo con las investigaciones de Vazquez (2018) Cano (2017) Bracho (2017) Montero Recalde (2017) Reyes (2017) y Bracho(2017) al coincidir en que La fitoterapia mediante investigaciones ha demostrado ser un método alternativo eficaz frente a distintas afecciones en seres humanos, por lo que, el aporte en distintos campos como en la Odontología sería de gran beneficio.

## **CONCLUSIONES:**

- Al evaluar el control de la actividad *in vitro* de *Rosmarinus Officinalis* (Romero) y Nistatina para inhibir el crecimiento de *Candida Albicans* Juliaca 2018, existe diferencia significativa
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15.8 mm en el grupo de la Nistatina 100 000UI/ml después de la intervención
- Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 8.27 mm en el grupo de *Rosmarinus officinalis* al 40%

## **RECOMENDACIONES:**

- Recomiendo realizar investigaciones nuevas con *Rosmarinus officinalis* de lugares o zonas donde crece esta planta a nivel nacional e internacional.
- Se recomienda probar en diferentes concentraciones alcohólicas y así obtener nuevos resultados.
- Profundizar en el análisis en un agente fúngico específico.
- Realizar estudios con otros tipos de microorganismos.
- Incentivar a los alumnos de nivel superior a desarrollar estudios con plantas naturales propias de la región.

## FUENTES DE INFORMACION

1. Ceccotti E. Micosis bucales. 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. Reyes Estrada C.A, Gutiérrez R., Luna de la Torre J.P(2017). Enfermedad periodontal: actividad de rosmarinus officinalis sobre su microbiota bacteriana. [ Revista de la Alta Tecnología y la Sociedad México] (2017). 9, (4): p 1940-2171.
5. Montero-Recalde M.A. Martínez-Jiménez J.A. Avilés-Esquivel D. F. (2017) Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de Rosmarinus Officinalis sobre cepa de Escherichia coli Effect antimicrobial of extract of Rosmarinus officinalis on strain of Escherichia coli.[ Editado por: Selva Andina Research Society Ecuador .](2017). 5(2) p. 01-334
6. Vázquez, M. (2107) Evaluación del uso de fitoquímicos para el tratamiento de bacterias multirresistentes[Internet] Moreno de Contartese, Silvia. Fundación Instituto Leloir, Instituto de Investigaciones Bioquímicas Buenos Aires (I.I.B.A.- CONICET); CEBBAD, Universidad Maimonides. Universidad Argentina de la Empresa. [julio2018www.repositorio.uade.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789]
7. Bracho Naranjo N. P.(2017) Efecto inhibitorio del aceite esencial de rosmarius officinalis (romero) en cepas de porphyromonas gingivalis estudio in-vitro.[internet] universidad central del ecuador facultad de odontología carrera de odontologia.[julio2018www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/11301]
8. Vásconez Vaca G. F. (2016). Efecto anti fúngico “in vitro” de aceite esencial y extracto alcoholico de Rosmarinus officinalis “Romero” sobre Candida albicans cepa ATCC 10231. [Internet] universidad nacional de

- chimborazo facultad de ciencias de la salud carrera de odontología.  
[junio2018.www. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/>]
9. Bonilla D.M, Yulitza Mendoza Y.Campo E. Moncada.(2016). Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultivada in vitro. [Revista. Colombia. Ciencias. Química. Farmacia.] (2016). 45(2), p.275-287.
  10. Vallejos Campos E.C. (2017) Efecto antifungico in vitro del extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* “Romero” contra *Candida albicans* [internet] 2017 Facultad de ciencias de la salud, Escuela profesional de Estomatología, Chiclayo. [julio2018.www repositorio.uss.edu.pe.
  11. Vázquez Núñez J.C. (2018) Eficacia inhibitoria entre el extracto metanólico de *Plantago major* (llantén) y clindamicina en colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) in vitro [internet ]2018Facultad de ciencias de la salud “Dr. wilman ruíz vigo” carrera profesional de estomatología Cajamarca. [julio2018.www repositorio.upagu.edu.pe.
  12. Cano Urteaga W.J. (2017). Efecto del extracto etanólico de *azadirachta indica* (neem) sobre la viabilidad in vitro de *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. [internet]. facultad de ciencias médicas escuela académico profesional de estomatología. 2017  
[julio2018.www<http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/730>.
  13. San Roman Suarez I. (2013) Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. [internet]. Facultad de Odontología, Escuela académico profesional de Odontología, Lima. [julio2018.www repositorio.unmsm.edu.pe.
  14. 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](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/...2013/.../CANDIDIASIS_2013-1.pdf)
  15. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontology* 2000. 2002; 29:7-10
  16. Font quer, P. Plantas Medicinales (El Dioscóride Renovado). 6ta ed. Barcelona. Labor. 1980
  17. Alonso J. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas.

Buenos Aires. ISIS Ediciones SRL, 1998

18. Arruda TA. Estudio etnofarmacobotánico y actividad antimicrobiana de plantas medicinales [Tesis]. Paraíba, Brasil: Universidad Estatal de Paraíba. 2002
19. Mujica C, Castillo M, Daille LK, Fuentesvilla IA, Bittner M. Co-detección de Patógenos Periodontales en Pacientes Chilenos con Periodontitis Crónica. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral 2010; 3(3): 118-122
20. Haffajee, AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontology 2000 1994; 5: 78-111.
21. Ardila C, Arbeláez M, Guzmán I. perfil microbiológico subgingival de pacientes con periodontitis crónica en una población de Colombia. Avances en periodoncia e implantología oral 2012; 24(1): 47-53
22. Rosúa JL. El complejo *Rosmarinus eriocalyx-tomentosus* en la Península Ibérica. Anales Jard. Bot. 1981; 37: 587 - 595
23. Muñoz L. Plantas Medicinales Españolas. *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) (romero). Stud. bot. 2002; 21:105-118
24. Al-Sereiti MR, Abu-Amer KM, Sen P. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian Journal of Experimental Biology 1999;37(2):124-30
25. Estrada S. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) [Tesis]. Riobamba, Ecuador. Escuela superior politécnica de Chimborazo. 2010.
26. Avila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Ramón Meza R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar 2011;15(43): 23-36
27. Prakash A, Rao J. Botanical pesticides in agriculture. CRC Press 1997; 461
28. Musa, O.M., & J.C. Chalchat Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. International Journal of Food Science and Nutrition 2008;59 (7):691-698
29. Miresmailli S. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch

- (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. Pest Management Science 2006;62(6): 366-371
30. Costa ABP, Pereira CA, Freire F, Junqueira JC, Jorge AOC. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis* Revista de Odontologia da UNESP. 2009; 38(2): 111-116)
31. Nolkemper S, Reichling J, Stintzing FC, Carle R. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. Plant Medicinale 2006;72(15):1378-1382
32. Waggas AM, Balawi EA. Neurophysiological study on possible protective effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves extract in male albino rats treated with acrylamide. American-Eurasian Journal of Scientific Research 2008; 3(2): 163-171
33. Monroy A, García I, Totosa A. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. Nacameh 2009; 3(1): 21-32
34. European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP). Monographs on the medicinal uses of plant drugs. University of Exeter 1997;3
35. OMS. Formulario Modelo de la OMS 2004. Anti-infecciosos: Antifúngicos 2004: 134 – 137
36. 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

PERMISO DE EJECUCION DE PROYECTO DE INVESTIGACION



**UAP** | UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS  
FILIAL JULIACA

053 - 0035023

SOLICITO: Permiso de ejecución de investigación

SEÑOR :  
DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

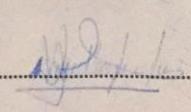
UGARTE APELLIDO PATERNO      GOMEZ APELLIDO MATERNO      DARINKA MARYORI NOMBRES

Documento de Identidad: 72880215 Carrera Profesional: Estomatología (DNI, L.M Boleta)

Código: 2011146224      Ciclo:      Turno:      Teléfono: 955300979      E-mail: darinka94@hotmail.com

Ante Ud. con el debido respeto me presento y expongo:  
QUE DESEANDO OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA ES NECESARIO REALIZAR UN TRABAJO DE INVESTIGACIÓN, Y HABIENDO SIDO APROBADA PARA SU EJECUCIÓN EN LA ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA, Y QUE EL TÍTULO DE DICHA INVESTIGACIÓN ES: "EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETNÓFICO DE *Posmaninus officinalis* PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO FUNGICO EN MUESTRAS DE CANTIDA ALBICANS JULIACA 2018" ES QUE DESEO REALIZAR LAS ACTIVIDADES DE INVESTIGACIÓN PERTINENTES EN LA INSTITUCIÓN QUE USTED DIRIGE.

Agradeciéndole anticipadamente su atención, quedo de Usted.

Atentamente,  


Juliaca, 29 de Agosto del 2018.

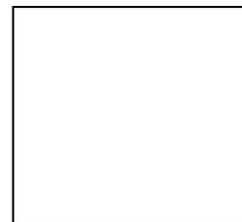
Adjunto:  
1. Formulario de Evaluación  
2. Proyecto de Tesis.

**ANEXO 02**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE**

Yo,.....  
identificado con DNI N°.....doy mi consentimiento,  
para participar en el trabajo de investigación que titula **“CONTROL DE LA  
ACTIVIDAD *IN VITRO* DE *Rosmarinus Officinalis* (ROMERO) Y NISTATINA PARA  
INHIBIR EL CRECIMIENTO 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 03**

**Ficha de recolección de datos n°1**

**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:**

*Cándida albicans*:    positivo ( )                      negativo ( )

**3. cultivo de la muestra**

   Crecimiento ( )                      no crecimiento ( )

**4. numero de colonias**              MC Farland    0.5

**ANEXO N°04**  
**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS N°2**  
**MEDIDA DEL HALO DE INHIBICION EN PLACA PETRY**

| Siembra de <i>Cándida albicans</i> | <i>Rosmarinus officinalis</i><br>(Romero) | Control Positivo Nistatina |
|------------------------------------|---|----------------------------|
| Cultivo N° 01                      | 10  | 14                         |
| Cultivo N° 02                      | 9   | 15                         |
| Cultivo N° 03                      | 9   | 16                         |
| Cultivo N° 04                      | 8   | 15                         |
| Cultivo N° 05                      | 8   | 18                         |
| Cultivo N° 06                      | 8   | 18                         |
| Cultivo N° 07                      | 7   | 16                         |
| Cultivo N° 08                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 09                      | 10  | 15                         |
| Cultivo N° 10                      | 9   | 15                         |
| Cultivo N° 11                      | 10  | 15                         |
| Cultivo N° 12                      | 9   | 16                         |
| Cultivo N° 13                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 14                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 15                      | 8   | 15                         |
| Cultivo N° 16                      | 7   | 16                         |
| Cultivo N° 17                      | 8   | 14                         |
| Cultivo N° 18                      | 7   | 16                         |
| Cultivo N° 19                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 20                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 21                      | 9   | 15                         |
| Cultivo N° 22                      | 8   | 17                         |
| Cultivo N° 23                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 24                      | 7   | 18                         |
| Cultivo N° 25                      | 8   | 16                         |
| Cultivo N° 26                      | 9   | 15                         |
| Cultivo N° 27                      | 9   | 16                         |
| Cultivo N° 28                      | 8   | 15                         |
| Cultivo N° 29                      | 7   | 17                         |
| Cultivo N° 30                      | 8   | 15                         |

## ANEXO 05

### REGISTRO FOTOGRAFICO



## Anexo 06 MATRIZ DE CONSISTENCIA

### “CONTROL DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE *Rosmarinus Officinalis*(Romero) Y NISTATINA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO DE *CANDIDA ALBICANS*, JULIACA 2018”

| Problemas   | Objetivos  | Hipótesis  | Variables e indicadores  | Diseño de la investigación   | Método   | Población y muestra de estudio   |
|---|--|--|--|--|--|--|
| <p><b>Problema general</b></p> <p>¿Cuál será el resultado del control de la actividad in vitro de <i>Rosmarinus Officinalis</i>(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de <i>candida albicans</i>, Juliaca 2018?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo de la nistatina después de la intervención?</li> <li>• ¿Cómo será la inhibición del crecimiento fúngico en el grupo de <i>Rosmarinus officinalis</i> después de la intervención?</li> </ul> | <p><b>Objetivo general</b></p> <p>Evaluar el control de la actividad in vitro de <i>Rosmarinus Officinalis</i> ( Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de <i>candida albicans</i> Juliaca 2018</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar la inhibición del crecimiento fúngico de la nistatina después de la intervención</li> <li>• Determinar la inhibición del crecimiento fúngico del grupo de <i>Rosmarinus officinalis</i> después de la intervención</li> </ul> | <p><b>Hipótesis principal</b></p> <p>Al evaluar el control de la actividad in vitro de <i>Rosmarinus Officinalis</i>(Romero) y nistatina para inhibir el crecimiento de <i>candida albicans</i>, Juliaca 2018. Existe diferencia significativa</p> <p><b>Hipótesis derivadas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 15mm en el grupo control después de la intervención</li> <li>* Se presenta inhibición del crecimiento fúngico de 10mm en el grupo de <i>Rosmarinus officinalis</i> después de la intervención</li> </ul> | <p><b>Variable independiente</b></p> <p>- <i>Rosmarinus officinalis</i><br/><b>Indicador:</b> solución líquida</p> <p>- Nistatina de 100 000 U/l solución líquida</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Inhibición fúngica</p> <p><b>Indicador:</b> formación del halo inhibitorio en milímetros</p> | <p>Tipo cuantitativo</p> <p>Nivel investigativo es aplicativo</p> <p>Tipo de estudio según la secuencia y periodo de estudio es transversal, según el tiempo de ocurrencia de los hechos es prospectivo; el diseño según la intervención del investigador es experimental.</p> | <p><b>Método:</b></p> <p>Deductivo</p> <p>Analítico</p> <p><b>Técnica:</b></p> <p>Observación y medición</p> <p><b>Muestreo:</b></p> <p>No probabilístico consecutivo</p> <p>De procesamiento</p> <p>T Student</p> | <p>Muestras por conveniencia</p> <p>La selección de la muestra se hizo por muestreo no probabilístico consecutivo que cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos; con un tamaño de muestra de n=30 en placas Petry.</p> |