



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA

TESIS

COMPARACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DEL
ACEITE ESENCIAL CITRUS AURANTIFOLIA Y FLUCONAZOL AL
2% EN CRECIMIENTO DE CANDIDA ALBICANS (ATCC 10231) Y
CANDIDA TROPICALIS (ATCC 1369)

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO ENTISTA

PRESENTADO POR:

BACHILLER SANCHEZ HENOSTROZA LUZ EHVELYN

ASESOR:

MG/DR. C.D. VICTOR ALEJANDRO MEJÍA LÁZARO

LIMA – PERÚ

2021

A mi asesor Mg. CD. Víctor Mejía Lázaro por guiarme en la elaboración del presente estudio, a Dios por brindarme salud fortaleza para cumplir mis objetivos y mis padres por su apoyo incondicional.

A Dios y mis padres por ser mi ejemplo y guía,
por creer en mí y darme ánimos a continuar en el
camino de la vida universitaria.

A mis hermanas por el apoyo desinteresado,
motivación a seguir adelante y lograr mi objetivo.

ÍNDICE	Pág.
Agradecimiento	li
Dedicatoria	lii
Índice de contenido	lv
Índice de tabla	vii
Índice de gráfico	viii
Resumen	ix
Abstract	x
Introducción	Xi
 CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción de la realidad problemática	12
1.2. Formulación del problema	15
1.2.1 Problema principal	15
1.2.2 Problemas específicos	15
1.3. Objetivos de la investigación	16
1.3.1 Objetivo principal	16
1.3.2 Objetivos específicos	16
1.4. Justificación de la investigación	17
1.4.1 Importancia de la investigación	17
1.4.2 Viabilidad de la investigación	17
1.5. Limitaciones del estudio	19

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1.	Antecedentes de la investigación	20
2.1.1	Internacionales	20
2.1.2	Nacionales	22
2.2.	Bases teóricas	23
2.3.	Definición de términos básicos	45

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1.	Formulación de hipótesis principal y específicas	46
3.2.	Variables:	46
3.2.1	Definición de las variables	46
3.2.2	Operacionalización de las variables	47

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1.	Diseño metodológico	48
4.2.	Diseño muestral	49
4.3.	Técnicas de recolección de datos	51
4.4.	Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información	54
4.5.	Aspectos éticos	54

CAPÍTULO V: RESULTADOS

5.1.	Análisis descriptivo	55
5.2.	Análisis Inferencial	65

5.3.	Comprobación de hipótesis	69
5.4.	Discusión	72
	CONCLUSIONES	77
	RECOMENDACIONES	78
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	79
	ANEXOS	
ANEXO: 1	Constancia de desarrollo	
ANEXO: 2	Consentimiento informado	
ANEXO: 3	Ficha de recolección de datos	
ANEXO: 4	Matriz de Consistencia	

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla N°1: Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) (12 horas) 56-57

Tabla N°2: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas 57

Tabla N° 3: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas 58-59

Tabla N°4: Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en (12 horas) 60-61

Tabla N°5: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas. 62-63

Tabla N°6: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas. 63-64

ÍNDICE DE GRÁFICOS	Pág.
Gráfico N°1: Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) (12 horas)	56-57
Gráfico N°2: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas	57
Gráfico N° 3: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas.	58-59
Gráfico N°4: Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en (12 horas)	60-61
Gráfico N°5: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas.	62-63
Tabla N°6: Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas.	63-64

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio FRIDA (laboratorio clínico) en la ciudad de Huaraz (diciembre 2020). Las infecciones fúngicas causadas por la candida Albicans suelen encontrarse en la flora bacteriana, son capaces de proliferar, por diversas causas, generando candidiasis oral. El objetivo principal de la investigación in vitro fue determinar la eficacia antifúngica del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) sobre las cepas de candida Albicans aisladas que reunieron los criterios de inclusión y exclusión propuesto, se realizó la activación de la cepa para poder efectuar siembras de colonias de Cándida Albicans y candida tropicalis en 188 placas Petri rotuladas. Las cuales contenían el medio de cultivo ideal para Candida Albicans y tropicalis fue el agar Sabouraud ,luego se disolvió el aceite esencial Aurantifolia (limón) con dimetilsulfoxido a las concentraciones de 10%, 25%, 50%, 75% y concentración al 100% fue recolectada directamente del frasco, para comprobar su efecto, se colocaron discos de cada concentración en cada placa, también se colocó un disco en otra placa para la comprobación del fluconazol al 2% y otro disco para la prueba de control positiva y negativa, se anotaron en la ficha los resultados obtenidos. El estudio correspondió a un tipo de investigación experimental, ajustándose el diseño a los esquemas laboratorial, longitudinal, prospectivo y comparativo. Los resultados obtenidos nos permiten demostrar que el aceite esencial de Aurantifolia (limón) empleado para este estudio, a sus diferentes concentraciones evaluadas el 100% demostró tener mayor efecto antifúngico a las 12 horas sobre las cepas Candida Albicans y Candida Tropicalis.

Palabra clave: aceite esencial Aurantifolia (limón)

ABSTRACT

The research work was carried out in the FRIDA laboratory (clinical laboratory) in the city of Huaraz (December 2020) fungal infections caused by candida Albicans are usually found in the bacterial flora, being able to proliferate due to various causes, generating candidiasis orally. The main objective of the in vitro research was to determine the antifungal efficacy of the essential oil citrus Aurantifolia (lemon) on the isolated strains of candida Albicans that met the proposed inclusion and exclusion criteria, the activation of the strain was carried out to be able to carry out sowings of Candida Albicans and Candida tropicalis colonies in 188 labeled Petri dishes. which contained the ideal culture medium for Candida Albicans and tropicalis was Sabouraud agar, then the essential oil Aurantifolia (lemon) was dissolved with dimethyl sulfoxide at concentrations of 10%, 25%, 50%, 75% and 100% concentration. was collected directly from the bottle, to check its effect, discs of each concentration were placed on each plate, a disc was also placed on another plate for the verification of fluconazole at 2% and another disc for the positive and negative control test, they were noted in the tab the results obtained. The study corresponded to a type of experimental research, adjusting the design to the laboratory, longitudinal, prospective and comparative schemes. The results obtained allow us to demonstrate that the essential oil of Aurantifolia (lemon) used for this study, at its different concentrations evaluated 100%, showed a greater antifungal effect at 12 hours on the Candida Albicans and Candida Tropicalis strains

Keyword: Aurantifolia (lemon) essential oil

INTRODUCCIÓN

La candida es un hongo diploide asexual en forma de levadura y saprofítico, este hongo vive en todas partes, incluyendo el cuerpo humano: en la cavidad oral, tracto gastrointestinal y en la vagina. Nuestro sistema inmunológico tiene la capacidad de mantenerlos bajo control, aunque estos hongos son demasiado oportunistas, por lo cual pueden desencadenar una infección, ya sea por factores externos o exógenos como la mala higiene de los pacientes portadores de prótesis o el consumo de medicamentos. En los casos de candidiasis oral se presenta con una característica individual en forma de punto color cremoso o amarillo en la cavidad oral, con una lesión ligeramente elevada y asintomática; se desarrolla en la lengua, encías, en el paladar duro como en el piso de boca y en las paredes laterales de la garganta, presentando enrojecimiento y sangrando. En la actualidad se recetan los antifúngicos para tratar estos casos, sin tomar en cuenta los efectos adversos o resistencia que ocasionarían estos fármacos, además de los costos muy elevados, siendo así el uso de productos naturales con propiedades antifúngica una opción para el tratamiento de candidiasis oral.

El Perú muestra una amplia variedad de plantas que son de mucha importancia en la medicina tradicional y dentro de ellas se ha podido comprobar su efectividad contra diferentes microorganismos, controlando su aparición, propagación y hasta la eliminación de estos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática:

Se sabe que la candida es un hongo de doble cromosoma y su reproducción es asexual ya que no requiere a otras células reproductoras (forma de levadura) y saprófito pueden llegar a vivir en materia orgánica en estado de descomposición, corresponde a la categoría de los sacaromicetos. Habitualmente podemos encontrarlo en la boca, sistema digestivo y vagina. Tiene una función ventajosa como la degradación de los azúcares. Estas levaduras son propias de nosotros los seres humanos encontrándose en el sistema gastrointestinal, sistema respiratorio, en las regiones cutáneas como mucosas también lo encontramos en los animales domésticos. A nivel mundial es una de las enfermedades con un alto índice de prevalencia y una de las infecciones más oportunistas, su incidencia fue aumentando en los últimos 20 años. Existen otras especies que pueden llegar a manifestarse en la mucosa oral y el aparato gastrointestinal del ser humano como la *Candida Glabrata*, *C. Parasitosis*, *C. Tropicalis*, *C. Dubliniensis*, *C. Krusei* teniendo en cuenta también a la *C. Parapsilosis*, *C. Guilliermondii*, otros géneros como *C. Albicans* Y *C. Tropicalis* no es frecuente encontrarlas con frecuencia en la piel, como en la región ano genital y alrededor de la cavidad oral. Existen otros elementos específicos y sistémicos, que pueden llegar a desarrollar una infección denominada candidiasis oral.

Hay descripciones diversas sobre la localización de la infección por candidiasis por tanto es importante recalcar que las lesiones bucales presentan una membrana

inflamatoria entre blanca y gris, como ya se señaló previamente este hongo es un habitante normal de la cavidad bucal y ocasiona daños en pacientes diabéticos, neutropénicos o inmunodeprimidos, así como en los que presentan síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), pacientes con problemas en la saliva y glándulas salivales como la xerostomía o cualquier otro estado debilitante, pacientes portadores de prótesis, por traumas y cuando la flora habitual de la cavidad oral está alterada por tratamientos farmacéuticos.

Debido a la epidemiología que presenta este hongo el uso de medicamentos antifúngico o antimicóticos son frecuentes ya que tienen la capacidad de impedir el aumento de ciertos tipos de hongo e incluso llegando a inducir la muerte, sus variantes o vía de administración son cremas tópicas, inyecciones intramusculares, champús y geles específicos, óvulos vaginales, medicamentos vía oral (jarabes o píldoras) y los famosos aerosoles.

El fluconazol es muy hidrosoluble y su absorción oral es muy completa, no llega a modificarse por los alimentos. El estado de efectividad alcanza en 4 a 5 días, el fluconazol presenta un espectro antifúngico menos que otros azoles siendo efectivo frente a levaduras como él (*Cryptococcus*) y la mayoría de las especies de *Candida* es sensible y otras especies pertenecientes a la familia de la *Candida* son resistentes al fluconazol.

Se sabe que en el Perú la colonización por *Candida* oral se ha informado en aproximadamente 40% a 70% en niños y adultos sanos, la cual destaca que los niños son más expuestos a adquirir infección por *Candida* y con una tasas más altas por presentar dientes cariados y en adultos por el uso de la prótesis ya sea

fija , parcial removible o total , cabe destacar que la candida aumenta en los pacientes con cáncer por los tratamientos con radioterapia, pacientes con diabetes e infección por HIV.

Es importante rescatar la importancia sobre los aceites esenciales (AE) ya que estos productos son extraídos de origen natural y que aporta un valor e importancia económica. La actividad biológica de los aceites esenciales, la investigación se basa en los beneficios y efectos farmacológicos que son producidos por sus metabolitos, estos aceites esenciales son conseguidos por diferentes técnicas a partir de las hojas de una planta o fruto. Hoy en día actualmente usar el legado más importante de nuestros antepasados nos brinda un gran aporte a la medicina.

Por lo ante expuesto en el presente estudio se determinó el resultado antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y la candida Tropicalis (ATCC 1369).

1.2. Formulación del problema

Problema principal

¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y la candida Tropicalis (ATCC 1369)?

Problemas específicos

¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%, 25%,50%, 75% y 100% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) a las 12 y 24 horas?

¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 y 24 horas?

¿Cuál será el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y el fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas?

¿Cuál será el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

Objetivo principal:

Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369).

Objetivos específicos:

Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 y 24 horas

Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 y 24 horas.

Determinar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y del fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 horas.

Determinar el efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 horas.

1.4. Justificación de la investigación:

1.4.1. Importancia de la investigación:

Este estudio tiene importancia teórica, debido a que los resultados que se obtuvieron en la investigación tienen una gran importancia ya que nos va a permitir conocer el efecto antifúngico de los componentes del aceite esencial de Citrus Aurantifolia (Limón); y permitirá aportar conocimiento para seguir realizando otras investigaciones en el campo de la medicina natural.

Asimismo, esta investigación tiene importancia social, ya que el Perú muestra una riqueza y mega variedad de plantas medicinales oriundas que sin embargo no todas tienen un aval científico. Por esta razón el determinar la acción inhibidora de Citrus Aurantifolia (Limón) sobre la cepa de Candida Albicans y Candida Tropicalis permitirá la formulación de diferentes presentaciones medicamentosas a base de aceite natural, será de posible accesibilidad para la sociedad expuesta a contraer la candidiasis oral, para sí evitar el uso de fármacos antifúngicos con reacciones adversas medicamentosas nocivas para la salud humana.

Por otra parte, tiene importancia clínica, debido a que nos brindará la información de los efectos antifúngico del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) frente a estos patógenos y ayudar a si en el futuro a incrementar los conocimientos a nuestros profesionales en odontoestomatología sobre la medicina natural y optar un tratamiento alternativo.

1.4.2. Viabilidad de la investigación:

El actual trabajo de investigación cuenta con el apoyo del asesor en cuanto a los recursos económicos fue asumido por la investigadora y para el procedimiento

laboratorial se realizó en el laboratorio clínico FRIDA en la ciudad de Huaraz con especialistas en la materia

Recursos:

Humanos:

Investigador: Bach. Sánchez Henostroza Luz Ehvelyn

Asesor: MG CD VICTOR MEJIA LAZARO

Financieros:

Inversión total por la investigadora

Materiales:

Guantes estériles

Mandil

Mascarilla facial

Gorro descartable

Incubadora

Agar Sabouraud

Cepa de Candida Albicans y Tropicalis

Hisopos

Aceite esencial de Citrus Aurantifolia (Limón)

Dimetilsulfoxido

Fluconazol al 2%

Clorhexidina al 0,12%

Placas Petri

Fotografías

Cámara digital

Laptop

Institucionales:

Laboratorio clínico FRIDA de la ciudad de Huaraz

Delimitación del problema:

Dentro de las limitaciones del proyecto se podrá observar el escaso recurso de información sobre la especie en estudio, así también que no existe literatura científica suficiente del efecto antimicótico de Citrus Aurantifolia (Limón) sobre cepas Candida Albicans y candida Tropicalis. Otra limitación que se presentó en el trayecto, son la falta de tiempo del personal calificado para realizar los procedimientos laboratoriales, poca disponibilidad de tiempo, mala manipulación en los procedimientos laboratoriales, poco acceso a los instrumentos de laboratorio.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación:

a) Antecedentes internacionales:

Su-mi L. (2018) Corea del sur; se realizó un estudio en el Hospital Universitario de Chonnam Biomédica el principal objetivo del estudio fue evaluar los componentes del limón (*Citrus Aurantifolia*) y sus posibles efectos inhibidores sobre la bacteria *Helicobacter pylori* Cepa ATCC 43526 y la resistencia del triple fármaco. La metodología fue experimental y transversal, las muestras fueron cepas medidas por cuantificación de amoníaco colorimétrica utilizando un lector de ELISA. En los resultados fueron muy favorables por la disminución del número de colonias los componentes de *Aurantifolia*, citral y 4-hexen-3-ona se encontraron que eran capaces de inhibir el crecimiento de *H. pylori* Cepa ATCC 43526, Concluyendo que el *Citrus Aurantifolia* tiene efecto antimicrobiano en TDR *H. pylori* cepas, lo que sugieren que *C. Aurantifolia* podría tener un potencial terapéutico para controlar resistente a los antibióticos para *H. pylori*.¹

Raiane L. (2018) Brasil; la investigación se desarrolló en la universidad de química, el objetivo del proyecto consistió en demostrar los principales componentes que se encuentran en los aceites esenciales como el de *C. Aurantifolia* en sus hojas y cáscaras del mismo fruto y su efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales. La metodología fue experimental y transversal, se valoró los métodos según la concentración mínima inhibitoria (MIC), dando valores por la técnica de microdilución en caldo en microplacas de 96 pocillos. En los resultados mostraron cierta efectividad contra ciertas enfermedades orales bajo indagación; los valores

de MIC variaron de 20 a 200 mg/mL. La cual demostraron que tenían una actividad prometedora no sólo frente a los *Streptococcus mutans* (MIC = 20 mg / ml) y *Lactobacillus casei* (31,25 mg / ml), también mostrando que tiene una actividad antibacteriana frente a todas las bacterias cariogénicas estudiados. La actividad de los aceites esenciales contra *S. Mutans* Y *L. Casei*. Concluyendo que los hallazgos de este estudio más destacado fue el aceite esencial *Citrus Aurantifolia* hojas y también presentan una actividad antibacteriana en la cáscara de la fruta interesante y prometedora frente a algunas bacterias cariogénicas.²

Cindy G. (2017) Colombia; la investigación se desarrolló en la Universidad Nacional, el objetivo de la investigación determinó el resultado bacteriostático y bactericida del aceite esencial de mandarina frente a *Fusobacterium nucleatum*. La metodología fue experimental y transversal, las muestras del aceite esencial de la cáscara de mandarina (variedades Arrayana y Oneco). Evaluando concentraciones del 20%, 40%, 60%, 80% y 100% del aceite esencial diluido en Tween al 0,02%. En los resultados se demostró si el resultado bacteriostático y bactericida se estableció mediante ensayos de actividad antimicrobiana por difusión en disco. Como control positivo se utilizó la Clorhexidina 0,2% y agua a modo de control negativo. Concluyendo que el uso de los aceites esenciales de mandarina siendo una opción adicional a la receta del padecimiento periodontal.³

b) Antecedentes nacionales:

Churata O. y Ramos P. (2016) Lima; el trabajo de investigación determinó la efectividad antimicótica in vitro del aceite esencial de Citrus paradisi “toronja” sobre cepas de Candida Albicans aislando a algunos voluntarios con análisis de estomatitis por uso de prótesis total, hicieron pruebas de sensibilidad por el método de difusión en agar con pozos. La metodología fue experimental y transversal, Se obtuvo muestras de candida Albicans por el hisopado de la mucosa de los pacientes con estomatitis por uso de prótesis y se identificaron por la morfología de sus colonias y por la prueba de tubo germinativo. En los resultados demostró 100% de efectividad el aceite de Citrus paradisi. Concluyendo que el aceite esencial de Citrus paradisi “toronja”, muestra efectividad antimicótica sobre cepas de Candida albicans.⁴

ARANIBAR A. (2019) Arequipa; realizó un estudio cuyo objetivo fue demostrar la eficacia antimicótica del aceite esencial de Minthostachys Mollis (muña) sobre cepas de candida Albicans aisladas, se seleccionaron cepas de Candida Albicans certificadas que reunieron los criterios de selección propuestos en el trabajo. La metodología fue experimental y longitudinal. Se realizaron siembras de colonias de Candida Albicans en 5 placas Petri las cuales tenían el medio (agar Sabouraud), luego se disolvió el aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) con dimetilsulfoxido a concentraciones de 25%, 50% y 100% para comprobar su eficacia antimicótica. Los resultados obtenidos nos permiten demostrar que el aceite esencial de Minthostachys mollis (Muña) a concentraciones de (25%, 50% y 100%) demostraron tener algún efecto antimicótico sobre Candida Albicans. Concluyendo que si tuvo efectividad la muña en cepas de Candida albicans.⁵

2.2. Bases teóricas:

Candida:

Es un organismo eucariota del reino fungí de doble cromosoma asexual (forma de levadura) y saprófito, de la especie de los sacaromicetos. Estos hongos se proliferan en la mucosa oral, en gran parte del espacio gastrointestinal y en el cuello uterino. Se puede decir que cumple un cargo notable en la digestión de los azúcares, durante el proceso de fermentación. ¹⁸

Taxonomía:

Dominio: Eukarya

Reino: Fungí

División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Blastomicetos

Familia: Cryptococcaceae

Género: Candida

Especies: C. Albicans; C. glabrata; C. krusei; C.

Parapsilosis; C. Tropicalis, etc. ¹⁹

Composición química de la pared celular de Candida

La composición química de la pared de Candida Albicans está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacárido, La pared celular de Candida albicans está

compuesta principalmente por los polisacáridos, algunos investigadores han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas, B-Glucan-Quitina, B-Glucan, Manoproteínas y una capa de fibrillas.³⁵

Candidas Principales:

Candida Albicans:

Este hongo suele ser el agente patógeno y el más frecuente llamado candidiasis. Es un hongo de forma circular u oval (3.5-7 X 4-8 μm) que va a formar pseudohifas e hifas verdaderas, también forma clamidoconidias numerosas, clamidosporas unicelulares, redondas u ovaladas, con fornida capa refringente (8-16 μm de diámetro).¹⁹ se presenta principalmente como lesiones blancas o eritematosas. La candidiasis oral (CO) se presenta de aspecto blanquecino incluye a la candidiasis pseudomembranosa y a la candidiasis hiperplásica crónica. La candidiasis de aspecto eritematoso incluye a la candidiasis atrófica crónica, candidiasis atrófica aguda, glositis romboidal media y angular. La candidiasis atrófica crónica es el tipo más frecuente de todas las CO y es conocida como candidiasis su protésica.²⁷

Candida Tropicalis:

Este hongo es promotor de las enfermedades en las personas inmunosuprimidas, particularmente más propensa y tóxica en las personas con leucemia o malestares similares. Pueden llegar a adherirse pobremente a las células de la piel, no se cree invasor del estrato córneo, pero puede invadir a los tejidos con más profundidad. Son hongos redondos de 3.5-7 X 5.5-10 μm , que llegan a formar blastoconidias únicas o pequeños grupos y pseudohifas largas. Insólitamente causa

clamidosporas en formas de gota y las colonias son espesas con márgenes que pueden ser arrugados o tener una franja micelial ligera.¹⁹

Candidiasis Oral:

Concepto:

Candida Albicans, viene a ser una levadura que forma parte de la microflora que en la cavidad oral lo encontramos a un 2 % al 71 % en los individuos sanos, esta especie suele ser la más frecuente en la cavidad bucal y agresivo por ser oportunista, pero también se presenta en distintos géneros como C. Glabrata, C. Tropicalis, C. Krusei, C. Parapsilosis, C. Guilliermondii Y C. Dubliniensis.⁶

Estas manifestaciones se pueden llegar a localizar ya sea por una dispersadas o armónicas; pueden llegar a perturbar a la epidermis y mucosas, funcionan en estructuras recónditas y partes internas. Se llega a clasificar en dos grupos, como candidiasis mucocutáneas y sistémicas o profundas.¹⁹

Es muy frecuente en la cavidad oral de los adultos de edad avanzada. Aunque la incidencia real se desconoce, se sabe que existe una prevalencia aumentada en ciertas ocasiones como ocurre en ancianos, con prótesis mucosoportadas, xerostomía o en patologías asociadas frecuentemente.³³

Etiopatogenia:

La candida es un hongo oportunista que siempre va a predisponer de algún factor haciendo que esta colonice y se vuelva en una infección por candida o como se

conoce candidiasis. Este se origina por virulencia del hongo y tiene mucho que ver con la susceptibilidad del huésped. y algunos factores predisponentes como:

Factores predisponentes generales:

Pacientes VIH – SIDA.

Pacientes hospitalizados, sin importar la causa

Pacientes diabéticos.

Pacientes oncológicos ⁸

Factores Locales Predisponente:

En La Mucosa:

Cambios exógenos del epitelio: (trauma, oclusión y maceración).

Cambios internos en el epitelio: (atrofia, hiperplasia, displasia). ⁸

En la saliva:

Cambios cuantitativos:(xerostomía, terapia citotóxica, radioterapia, síndrome de Sjögren)

Cambios cualitativos: (PH y concentración de glucosa).¹⁰

Formas Clínicas:

Clínicamente la candidiasis oral se presenta en forma de lesiones y clasificar en

Candidiasis agudas:

Pseudomembranosa

Eritematosa

Candidiasis crónicas:

Pseudomembranosa

Eritematosa Leucoplasia

candidiasis:

Nodular

Candidiasis asociadas a otras lesiones:

Queilitis angular

Glositis romboidal media

Estomatitis por prótesis ⁸

Tratamiento:

Los tratamientos para la candidiasis oral se optarán por tomar medidas locales y sistémicas. Las medidas locales predisponen consiste en mejorar las condiciones de higiene bucal del paciente, esto debe incluir el buen cepillado de las lenguas, el paladar, la mejilla y el respectivo retiro de la prótesis y el adecuado aseo. Es recomendable el uso de fármacos antifúngicos entre ellas tenemos los de la familia azoles y los colutorios o enjuagues bucales. Mientras que en la medida sistémica se requiere identificar algún mal sistémica que pueda estar beneficiando en el

desarrollo y proliferación de candidiasis oral es de suma importancia el tratamiento correspondiente para obtener la curación y así impedir la recidiva.⁸

Para llevar a cabo el uso de los fármacos antifúngicos se debe tener en cuenta que la Candida tiene una similitud celular eucariota la cual se iguala a la célula humana y por tanto se da la gran importancia de seleccionar un fármaco antifúngico y se hace un tanto dificultoso ya que esta podría dañar a la célula humana e incrementando el crecimiento de este hongo.⁹

En cuanto al mecanismo de acción del fármaco antifúngico se da por medio de esteroides de la membrana de la candida, llegando a alterar la permeabilidad de este hongo llegando a destruirla, los fármacos antifúngicos se dividen en azoles, imidazol, miconazol, ketoconazol y triazoles. Dentro de esta clasificación de los imidazoles tenemos al fluconazol que es de nuestra total importancia nos describe que inhibe la síntesis de ergosterol, de triglicéridos y fosfolípidos de la membrana e inhibiendo algunas funciones enzimáticas las cuales implican a la biosíntesis del microorganismo.⁸

Antifúngicos

Son sustancias químicas utilizadas para el tratamiento de infecciones causadas por varios tipos de hongos, llegando a inhibir el crecimiento o destruirlos, eso dependerá de la dosis y el sitio de aplicación por donde se los administre.³²

Clasificación

CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIFÚNGICOS POR SU ESTRUCTURA	
POLIENOS	Sistémicos: Anfotericina B Tópicos: Nistatina, natamicina.
AZOLES	Imidazoles: miconazol. Triazoles: itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol. Tópicos: bifonazol, butoconazol, clotrimazol, econazol, fenticonazol, flutrimazol, omoconazol, oxiconazol, sulconazol, miconazol,
ALILAMINAS	Terbinafina, naftifina.
LIPOPÉPTIDO	Papulacandinas. Triterpenos glicosilados. Equinocandinas: caspofungina, anidulafungina, micafungina
PIRIMIDINAS	Flucitosina.
OTROS	yoduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato, griseofulvina

Fuente: Diego B. Terapia Farmacológica Antifúngica En Estomatología. Facultad De Estomatología, Lima -Perú 2017.30(32): 50

AZOLES:

Son un grupo de fármacos fungistáticos sintéticos, tienen un anillo con átomos de N libres unidos mediante enlace C-N a otros anillos aromáticos. En función del número de nitrógenos que posee el anillo se dividen en imidazoles (miconazol) y triazoles (fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, entre otros).³²

Actúan interrumpiendo la síntesis de ergosterol a través de la inhibición de la enzima C-14- α desmetilasa que forma parte del citocromo P450 y es la responsable de la transformación del lanosterol a ergosterol. Esta inhibición metabólica produce

la acumulación de esteroides intermedios que son tóxicos para la célula fúngica, aumentan la permeabilidad de la membrana y pueden inducir la muerte del hongo o la inhibición de su crecimiento.³²

Fluconazol:

Definición:

Es un medicamento sintético de la familia imidazoles se pueden aplicar por vía oral o intravenosa, su amplio espectro de actividad es alto y el más usado que la mayoría de otros antifúngicos incluyendo al miconazol, el ketoconazol o el clotrimazol, el fluconazol es más resistente al metabolito hepático de primer paso, es menos lipofílico y se une a las proteínas del plasma, por la que tiene una mayor biodisponibilidad.²²

Mecanismo De Acción:

Este fármaco es antimicótico de origen imidazol. el mecanismo de acción reside en la inhibición del citocromo P-450, micótico intervenido por la desmetilación del 14-alfa-lanosterol, este período es muy esencial en la biosíntesis del ergosterol micótico, la pérdida de ergosterol en la membrana de la célula de la candida la cual puede ser comprometida de la acción antifúngica de fluconazol.¹⁰

Sensibilidad in vitro:

In vitro, el fluconazol presenta una acción antimicótica frente a otros géneros de Candida teniendo en cuenta a las más habituales patológicamente (incluyendo C. Albicans, C. Parapsilosis, C. Tropicalis). C. Glabrata mostrando una extensa importancia de sensibilidad, pero no efectivo con la C. krusei siendo resistente al

fluconazol por eso es importante determinar el tipo de especie de candida ya que esto podría crear resistencia ante el hongo.¹⁰

Propiedades farmacocinéticas:

Las propiedades farmacocinéticas de fluconazol son acuerdo al uso ya sea vía oral o vía intravenosa tenemos:

Absorción:

Por vía intravenosa, el fluconazol es perfectamente absorbida, los valores plasmáticos (y biodisponibilidad sistémica) son principales al 90%, con relación a los valores aprehendidos después de la administración intravenosa. La administración conjunta de alimentos hace que la absorción vía oral no se vea afectada. En las ayunas, las concentraciones máximas plasmáticas se obtienen entre 0,5 y 1,5 horas en la post dosis de acuerdo con la proporción de la dosis efectuada.¹⁰

Distribución:

La administración del fluconazol se distribuye a nivel de todos los líquidos corporales presentándose en fluido salival y esputo y siendo similar a los valores plasmáticos, en el estrato córneo, en la dermis y epidermis, en la transpiración endocrina. El almacenamiento del fluconazol se da en el estrato córneo. La cantidad es de 50 mg una toma al día.¹⁰

Metabolismo:

El metabolismo del fármaco es muy poco debido a que la dosis radiactiva, solo es el 11% su excreción es metabolizado en orina. Fluconazol es un inhibidor selectivo de las isoenzimas.¹⁰

Excreción:

La excreción del fármaco se da en 30 horas aproximadamente se elimina por el sistema excretor o urinario, saliendo en la micción el 80% de la cantidad sin variar. Manifestando aclaramiento e igual a la depuración de creatinina.¹⁰

Mecanismos De Resistencia:

Los fármacos azólicos tienen actividad fungistática a través de la interferencia con la síntesis de ergosterol fúngico. El mecanismo de acción de estos fármacos implica la interferencia con determinadas vías funcionales humanas; por lo tanto, tienen efectos secundarios importantes en el cuerpo humano, Este problema es especialmente evidente en pacientes con infecciones por candida que previamente usan azoles como fluconazol y ketoconazol. En pacientes inmunodeprimidos.³³

El hongo Candida a lo largo del tiempo ha ido evolucionando muchos mecanismos de resistencia a los agentes antimicóticos. Las cepas fúngicas van desarrollaron un mecanismo de resistencia, exhibiendo mayores concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del fluconazol, dando así resultados negativos en la eficacia clínica in vivo.¹⁰

Se han desarrollado algunos casos infecciosos en especies de Candida como la C. Albicans, más frecuente de modo intrínseco, no son patentes al fluconazol (por

ejemplo, *Candida krusei*). En estos hechos se puede hacer el uso de un tratamiento alternativo antifúngica.¹⁰

Indicaciones Terapéuticas: tenemos lo siguiente:

Meningitis criptocócica.

Coccidioidomicosis.

Candidiasis invasiva.

Candidiasis de las mucosas incorporando a la candidiasis orofaríngea y esofágica, candiduria y candidiasis mucocutánea crónica.

Candidiasis oral atrófica crónica (coligada al uso de prótesis dentales) cuando el cuidado oral o el cuidado tópico sean escasas.

Candidiasis vaginal aguda o cíclico cuando el cuidado es ineficiente.¹⁰

Contraindicación:

Embarazo: en un estudio de ojo clínico se observó que presenta un riesgo de aborto espontáneo en las mujeres tratadas con fluconazol durante el primer trimestre, también puede llegar a ocasionar mal formaciones congénitas (produciendo alteraciones en la formación del cráneo como braquicefalia, displasia del oído, fontanela anterior grande, arqueamiento del fémur y sinostosis radio-humeral)¹⁰

Lactancia: durante la lactancia el fármaco es secretada pasando a la leche materna en concentraciones mínimas se logra conservar la crianza si se administra una dosis mínima o estándar de 200 mg menor del fluconazol .¹⁰

Fertilidad: se hizo un estudio en una especie de animal como las ratas comprobando que no causa infertilidad tanto en machos como hembras, pero a lo largo del estudio aparentemente no presenta infertilidad en los seres humanos. ¹⁰

Reacciones Adversas:

Cefalea

Dolor abdominal

Diarrea

Mareos

Vómitos

Elevación de la alanina aminotransferasa

Aumento de la fosfatasa alcalina en sangre y erupción ¹⁰

Clorhexidina:

Definición:

Clorhexidina pertenece a la familia química de las biguanidas, correspondiente a un elemento catiónico avanzado en Inglaterra en 1954 casualmente, en el momento se averigua un elemento antimalárico; algún estudio in vitro manifestó un valor alto de actividad dando un resultado posterior donde reportó que tenía un descenso de toxicidad en animales mamíferos, buena aproximación con la piel, membranas y mucosas. Estas propiedades indujeron al posterior progreso y aplicación de

clorhexidina desde entonces es recomendada como un desinfectante para piel y mucosas, en lesiones leves y tratamiento odontológico. ¹¹

Mecanismo De Acción:

La absorción se da por difusión pasiva pasando de las membranas celulares, tiene un efecto rápido en bacterias como y hongos. considerándose importante tan solo en 20 seg. A bajas concentración va a producir una variación de la porosidad osmótica de la membrana y una inhibición de enzimas del espacio periplásmico. Y acumulaciones altas va a originar sobre dosis de proteína y ácidos nucleicos. Las soluciones de clorhexidina van a variar a sus diferentes concentraciones. ¹¹

Espectro de acción:

Clorhexidina actúa como un antiséptico intermedio y largamente positiva frente a microorganismos gram positivas (siendo las más impresionables), también llegan a tener efecto en bacterias gram negativas, anaerobios facultativos, aerobias y en menor medida y un buen antifúngico contra hongos y levaduras. ¹¹

Uso Clínico Para Distintas Formulaciones:

Solución jabonosa o espumosa 2% o 4%:

Uso en limpieza de manos quirúrgico

Usada para preparar a la epidermis antes de los procedimientos invasivos: como introducción de catéteres vasculares y cirugía

Usado para el Baño de los pacientes internados que usen catéter venoso central. ¹¹

suspensión oral 0,12% o gel 0,2%:

Colutorios orales o enjuagatorios

Usada en Cirugía dental

Cuidados en la cavidad oral en pacientes que usen la ventilación mecánica .¹¹

Efectos adversos y contraindicaciones:

Se puede decir que son muy escasas reacciones alérgicas en comparación a la totalidad o volumen de uso, cabe señalar que es más frecuentes las alergias o irritación sobre la piel o mucosas y fotosensibilidad.

Las concentraciones altas pueden llegar a ser un grave problema en la córnea y en lo específico y a un aumento superiores a 2%, según un estudio realizado esta concentración puede llegar a ser claramente muy tóxica. ¹¹

No puede ser usado en pacientes con algún tipo hipersensibilidad a la clorhexidina, ya sea para cirugías oftalmológicas o neuroquirúrgica, es contraindicada utilizarse en la preparación preoperatoria de la epidermis de la cara y la cabeza. Debe impedirse el contacto con las meninges, evitar el contacto de la solución durante el procedimiento para evitar el riesgo de aracnoiditis. ¹¹

Por otro lado, los pacientes con perforación del tímpano, no se encomienda el uso local por que se comprobó que ocasiona pérdida auditiva al infiltrar clorhexidina en el oído medio. ¹¹

El Limón:

Concepto:

El limón es científicamente conocido como Citrus Aurantifolia o comúnmente conocida como el limón criollo, Limón agrio o Limonero. Perteneciendo a la familia de los Rutáceas. ¹²

Definición:

Citrus Aurantifolia es una especie perteneciente a la familia o grupo rutácea que tiene cerca de 150 géneros y 1.600 especies que se distribuyen ampliamente en las zonas tropicales, subtropicales y templadas de todo el mundo. En Brasil, la familia rutácea está representada por unos 29 géneros y 182 especies; algunos de ellos tienen importancia económica.²

taxonomía:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Rutaceae

Subfamilia: Citroideae

Tribu: Citrea

Género: Citrus

Especie: Citrus Aurantifolia

Descripción:

Es un árbol muy estable tiene semejanzas al árbol de naranjo, llega a medir unos 6 m de altura, su tallo es ligeramente torcido, su rama tiene espinas cortas y con hojas muy estable y ovoides que miden entre 2,5 a 9 cm de un color verde vivo,

desde entonces ahí nace su nombre latino a como Aurantifolia. El limón va a poseer unas flores que llegan a medir unos 2,5 cm, son de color blanco amarillento, con finas líneas púrpura en sus márgenes y cinco pétalos que la destellan. El fruto tiene una forma ovoide y esférica de color verde que al madurar establecerá una cáscara de color amarillo en cuanto a la pulpa será jugosa y ácida. En el mundo su existencia se da en diferentes zonas de cultivarlas el limón o Citrus Aurantifolia tiene una variedad de familia que presentan diferentes niveles de acidez y colores que irán variando entre el verde y amarillo.¹³

Fruta:

La fruta, es de forma globosa y entre 2,5 a 3 cm de diámetro, es de color verde y al madurar es de color amarillo, este fruto al ser consumida antes de su madures suele ser muy acida y agria. La pulpa es de color traslucida semi verde y jugosa, se caracteriza por ser aromático e increíble, rica en vitamina C por ser acido.¹³

El limón se convirtió famosa por los marineros británicos en el siglo XVIII, porque lo consumían constantemente en sus largos viajes y así controlar los dolores de cabeza, mareos y también lo usaban contra las aftas lo cual hizo que se apoderaron del limón y como ellos lo llamaban un término que los marineros usaban.¹³

Propiedades Medicinales Reconocidas:

En un estudio realizado del limón se encontró propiedades que destacan con un valor anticatarral y letargias, beneficiando la circulación sanguínea como protector capilar, antihipertensivo, antiespasmódico, diurético, antifúngico, analgésico y antibacteriano aplicado a la piel y mucosas.¹³

Sistema	Acción farmacológica
Cardiocirculatorio	Protector de los pequeños vasos
Digestivo	Antiespasmódico
Genitourinario	Diurético
Piel y Mucosas	Antifúngico Antibacteriano

Fuente: José C, Vázquez Y. lifeder.com. [Online].; 2017 [cited 2014 Octubre 19]. Available from: <https://www.lifeder.com/citrus-x-aurantifolia/>.

Como medicina natural el jugo de limón o limero nos brinda actividad antibacteriana sobre diversas bacterias patógenas, como el E. aerogenes, E. coli, S. aureus y P. aeruginosa. Asimismo, se desarrolló en algunos ensayos antifúngicos han demostrado su efectividad contra diversos dermatofitos como el C. Albicans, agente causal de la candidiasis oral o vaginal.¹³

El zumo fresco del fruto favorece mucho en la cicatrización de heridas externas, ya que tiene el efecto de actuar como cicatrizante y antibiótico a la vez también es preparado como infusión o té de las hojas, raíces y corteza del fruto se emplea para el tratamiento sintomático del resfriado común teniendo un efecto positivo.¹³

También es usada para calmar los dolores de muela, problemas digestivos, enfermedades de la mujer, dolor de cabeza y artritis. Además, se usa para aliviar la tos o gripe, migraña, infección de la garganta, amigdalitis, infecciones de la piel, hongos y trastornos de la vesícula, por ser rica en vitamina c y algunos flavonoides que la componen.¹³

Composición:

El limón está compuesto por el pericarpio la cual contiene un 2.5% de aceite esencial con principio activo que efectivamente va a incluir flavonoides del modo que tendrá hesperidósido, diosmósido, limocitrina, citrulina, nobiletina y tangerina. De igual modo incluye pectina. La pulpa es muy sustanciosa en ácido cítrico (hasta un 8%) y vitamina C. ¹³

Advertencia del uso del limón:

Hay algunos estudios controversiales que tienen una definición negativa sobre el uso del limón como aceite esencial, claro que en existen efectos adversos, pero no son muy significativos, el uso de estos aceites esenciales está limitados para los pacientes o personas con problemas alergias que les puedan causar dermatitis. Tanto el uso del limón como el aceite esencial aplicadas a la piel directamente no se debe exponer al sol con la aplicación de este fruto. ¹⁴

Aceite Esencial:

Concepto:

Para obtener el aceite esencial se hace una pequeña evaluación de donde se extraerá el aceite, si bien es del fruto o en general, esta será adecuada para la obtención del aceite esencial de los cítricos, en algunos casos se hace el uso de otras plantas, frutos especialmente de hojas, flores y tallos jóvenes. ¹⁵

Los aceites esenciales son compuestos formados por varias sustancias orgánicas volátiles, que pueden ser alcoholes, acetonas, cetonas, éteres, aldehídos, y que se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas. ³¹

La técnica que se emplea para obtener los aceites se hace mediante la destilación por arrastre por vapor de agua constituyendo el método de extracción más efectivo en estos casos, junto con la extracción por disolventes orgánicos. ¹⁵

El aceite esencial suele ser un líquido aromático de una consistencia fluida y espesa de un color variable según la especie de plantas de las cuales será extraído, la secreción de estos está dada entre las células peculiares se hallan en las hojas, la madera, frutos o las semillas. El tamaño de las gotas obtenidas es de unos pocos micrones, la cual se puede observar en muy pocas ocasiones por ser menos visibles a la vista del hombre. Al frotar la planta olorosa, las partículas de aceite principal se liberan en el ambiente y nos alcanzan a ser percibidas por el sentido del olfato. Al ser que los receptores olfatorios se activan y envían estímulos sensitivos a diferentes partes del cerebro haciendo que nos relaje, y en otros lugares del mundo son especialmente usadas como medicina natural y aromaterapia.¹⁶

Obtención de los Aceites Esenciales

Las técnicas que se emplean para la obtención del aceite esencial variarán según de la parte que se extraerá de la planta o fruto y sus tipologías botánicas:

La Destilación Por Vapor De Agua: esta técnica consiste en arrastrar el vapor de agua, esta técnica habitual para la extracción de aceites. Esta técnica es autorizada por la Farmacopea Europea, la cual se hace un comprimido en frío y obtener el aceite esencial de las cáscaras de los cítricos. ¹⁴

El Prensado En Frío: esta técnica consiste en el comprimido en frío la cual es adecuada hacia las cáscaras de los cítricos como él (limón, lima, naranja dulce,

naranja amarga). Los aceites esenciales naturales de los cítricos se hallan en pequeñas bolsas ubicadas bajo la piel del fruto (pericarpio). En esta técnica se utilizan prensas hidráulicas. Haciendo el uso de la centrifugadora para los aceites.¹⁴

El Enflorado: consiste en una técnica del enflorado (o maceración por saturación) es un método antiguo y escasamente se maneja en el presente. Es usada en vegetaciones o las partes de plantas dando así una fragancia demasiado frágil.¹⁶

La Extracción Mediante Disolventes: en esta técnica se extrae mediante algunos disolventes aplicándose en la actualidad a la del enflorado. Mediante la cual se obtiene una esencia absoluta muy solicitada por los que fabrican perfumes por su pureza de su potente aroma.¹⁶

Uso Los Aceites Esenciales.

En aerosol. Puede ser usado en un difuminador eléctrico, como vaporizador o un quemador de esencias. Lo cual propagara un efecto de partículas en el aire partículas muy finas de los aceites esenciales y beneficioso para el sistema respiratorio usado como aromaterapia

por vía cutánea. Los aceites esenciales tienden a ser efectivos una vez empleados sobre la piel o mucosas, llegando así a los tejidos. Dando al impulso, a que los aceites esenciales comprometen a ser usado precavidamente teniendo en cuenta la compatibilidad que debe tener con la piel evitando así cualquier tipo de alergia.¹⁶

Por vía oral. Se indica exclusivamente bajo la orden de un terapeuta tal que el aceite esencial es altamente concentrado y cuando es usada de manera errónea logran crear peligrosas intoxicaciones.¹⁶

Las propiedades del aceite esencial:

Presenta numerosas propiedades medicinalmente las cuales las hace llegar a ser eficaz frente a numerosos gérmenes, virus distintos, como también usados como antifúngicos, en la actualidad los aceites esenciales tienen su propia propiedad terapéutica específica.¹⁶

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Concepto:

Este método es usualmente usado para los exámenes de sensibilidad in vitro por difusión en agar (método de Kirby-Bauer). Determina la dimensión de los círculos de desarrollo y sin aumento del microorganismo si presenta sensibilidad o resistencia para lograr una reacción intermedia a un antibiótico en concreto u otros.¹⁶

La CMI, es la concentración mínima inhibitoria, refiere a una concentración más bajo (en $\mu\text{g/ml}$) que puede ser de antibiótico o antifúngico llegando a inhibir el aumento de una explícita cepa bacteriana, usando el método cuantitativo para este examen de sensibilidad que brinde una CMI, refuerza a fijar el antibiótico más efectivo. una vez determinará la elección del antibiótico que se usará, lo cual desarrollará las posibilidades de un beneficio del tratamiento la cual evitará que no haya una mala elección y evitar la resistencia de las bacterias.¹⁷

Resultados de la CMI

Al lado de cada medicamento ya sea un antibiótico o antifúngico se muestra el significado de la sensibilidad: S (sensible), I (intermedia) o R (resistente), continuo de la CMI en $\mu\text{g/ml}$. "Sensible" expresa el desarrollo de algunos microorganismos está siendo inhibido a la concentración sérica del medicamento que se logra manipulando la dosis tradicional; tenemos la "intermedia" que representa al incremento de los microorganismos está siendo inhibido por que la dosis es máxima y "resistente" nos interpreta que el microorganismo es resistente a los niveles séricos del medicamento que se logran habitualmente. ¹⁷

Estos valores son significativos ya que nos indica sobre la inhibición de las bacterias es el efecto del fármaco que se está usando adecuadamente para no crear una resistencia sobre estos microorganismos. ¹⁷

2.3. Definición de términos básicos:

Candida Albicans: Es un organismo eucariota diploide asexual (su característica es como de una levadura) y regularmente se halla mucosa oral, en el sistema digestivo y el aparato reproductor vagina.¹⁹

Candidiasis: Infección producida por el género Candida.⁶

Aceite esencial: El aceite esencial suele ser un fluido oloroso de particularidad color versátil como de algunas plantas de las cuales se extraen el aceite esencial.¹⁵

Efecto antifúngico: dispone de la aptitud de inhibir o impedir el desarrollo de algún tipo de hongo o bacteria, o llegando a provocar su muerte.³²

Cultivo: es la plantación donde se desarrollan algunos microorganismos formando nuevas colonias en una zona sólida (agar) o en medio líquido (caldo).¹⁷

Cepa: es el conjunto de colonias formado por bacterias descendientes de un solo aislamiento.¹⁷

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM): inhibir el crecimiento de una bacteria desde la concentración mínima hasta la concentración máxima de un fármaco.¹⁶

Bioseguridad: es una medida preventiva que nos permitirá proteger la salud del operador como la salud de la sociedad y del ambiente, frente a agentes biológicos, físicos, químicos o mecánicos.¹⁷

Inhibición: Impedir o reprimir el ejercicio de facultades o hábitos¹¹.

Planta medicinal: es un producto vegetal que contiene diferentes propiedades que ayudan a combatir algunas enfermedades.¹³

CAPÍTULO III

HIPOTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Formulación de hipótesis principal y derivadas

Hipótesis principal:

El aceite esencial de citrus Aurantifolia (limón) tiene mayor actividad antifúngica, in vitro, que el fluconazol al 2% sobre las cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y Tropicalis (ATCC 1369) aislados

Hipótesis derivada:

El aceite esencial de citrus Aurantifolia (limón) a diferentes concentraciones tienen efecto antifúngico estadísticamente significativo sobre la cepa de Candida Albicans (ATCC 10231). Entre las 12 y 24 horas.

El aceite esencial de citrus Aurantifolia (limón) a diferente concentración tiene efecto antifúngico estadísticamente significativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369). entre las 12 y 24 horas

El aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en una concentración del 100% tiene mayor efectividad antifúngico que el fluconazol al 2% sobre cepas candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) entre las 12 horas.

El aceite citrus Aurantifolia (limón) en una concentración del 100% presenta mayor efectividad antifúngico que la clorhexidina al 0,12% sobre cepas candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) entre las 12 horas.

3.2. Variables: definición conceptual y operacional

- Variable estímulo: citrus Aurantifolia (limón)
- Variable respuesta: Actividad antifúngica (halo de inhibición)

Variable	Dimensión	Indicador	Escala de medición	Valores
(V. Dependiente) efecto antibacteriano de limón y fluconazol	capacidad inhibitoria de crecimiento	halos de inhibición de crecimiento bacteriano (método de kirby bauer)	Cuantitativo Nominal	Mm
(V. Independiente) sustancia experimental	cantidad de solvente -soluto	ml de sut/ml de solución	Cuantitativo Nominal	10% 25% 50% 75% 100%
(V. independiente) Tiempo	Sin dimensión	Reloj	Cuantitativo de intervalo	12 y 24 horas

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Diseño metodológico:

De acuerdo a Sampieri el presente estudio es de tipo EXPERIMENTAL por que se manipula una variable y la otra se mide , así mismo el diseño es de tipo PROSPECTIVO , porque los datos fueron obtenidos una vez iniciada la investigación, es TRANSVERSAL por que se analizaron los resultados en un determinado momento haciendo un corte en el tiempo de 12 horas y COMPARATIVA busca establecer diferencias del efecto del aceite esencial de CITRUS AURANTIFOLIA (LIMÓN) entre sus diferentes concentraciones y el fluconazol , tomando como referencias el tiempo en los que se llevó la medición.

1.2. Diseño muestral:

La muestra fue la totalidad de la población.

Se requerirán 144 muestras in vitro para tener una seguridad al 95%, distribuido en 8 grupos de 18 placas Petri.

Grupo experimental N.º 1: 18 placas Petri con aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (10%).

Grupo experimental N.º 2: 18 placas Petri con aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (25%).

Grupo experimental N.º 3: 18 placas Petri con aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (50%).

Grupo experimental N.º 4: 18 placas Petri con aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (75%).

Grupo experimental N.º 5: 18 placas Petri con aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (100%).

Grupo experimental N.º 6: 18 placas Petri con Fluconazol al 2%.

Grupo control negativo N.º 7: 18 placas Petri con Alcohol.

Grupo control positivo N.º 8: 18 placas Petri con Clorhexidina.

Criterios De Inclusión:

Cepas de Candida Albicans sembradas –

Hongos oportunistas - Cepas estandarizadas

Cepas en buen estado

Cepas sembradas adecuadamente

Criterios de Exclusión:

Cepas de hongos inhábiles de reintegrar por el medio de cultivo.

Cepas no certificadas

Cepas que no crezcan

Cepas que se contaminen

Muestras no adecuadas

1.3. Recolección de datos:

Técnica:

Para la actual investigación se utilizará la técnica de observación en el laboratorio.

Instrumento:

Los datos de la investigación se registraron en una herramienta de recolección de datos por el investigador (Anexo 1)

Procedimientos para la recolección de datos:

Se solicitó los permisos correspondientes a la Universidad Alas Peruanas.

Con dicha solicitud, se solicitó el permiso para utilizar el laboratorio del área de microbiología del laboratorio clínico FRIDA de HUARAZ

Se compró el aceite esencial de CITRUS AURANTIFOLIA (LIMÓN) con la respectiva ficha técnica del producto del laboratorio NUA

Se obtuvo las cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) debidamente certificadas y la candida Tropicalis (ATCC 1369).

En el laboratorio clínico FRIDA en el área de microbiología, la cual 7 días antes se hizo el sembrado en 10 placas Petri de la cual se usó para la replicar para más muestras que se abarcaron, para el presente estudio, la cepa se conservó a 37° todo el tiempo en la incubadora en el laboratorio FRIDA del área de microbiología. Luego se acudió al laboratorio de microbiología del laboratorio clínico FRIDA para realizar el estudio.

Se ingresó debidamente con todas las medidas de bioseguridad al laboratorio (gorro, mascarilla, guantes, mameluco)

En el presente estudio se realizaron 188 muestras para ello se necesitarán 188 placas Petri esterilizadas en autoclave.

En un tubo de ensayo se realizó la disolución de las colonias cultivadas debidamente proliferación de Candida Albicans y candida Tropicalis la medición en el espectrofotómetro de esta solución obteniendo una disolución con densidad óptica de 600 nm y una absorbancia de 0.8

Se sembró densamente con coletes (hisopos grandes) la cepa de Candida Albicans y candida tropicales en toda la superficie de las 188 placas Petri (tamaño de la muestra) con el medio Sabouraud.

Se preparó los discos de 6mm de diámetro a partir de papel filtro lento (grosso) y se colocaron en frascos 10 frascos para esterilizar

Se diluye el aceite con DMSO (dimetilsulfoxido), para obtener las concentraciones de 10%,25%, 50% y 75% la concentración al 100 % se obtuvo directamente del frasco, se colocaron en frascos estériles la medición de la cantidad de cada concentración que se realizará con micropipetas.

Se dispuso las diluciones de aceite en 10 de los frascos estériles debidamente rotulados (aceite de limón al 10%,25%, 50% ,75% y 100%) el otro frasco se empleó para el control positivo (fluconazol al 2%) cada uno de estos frascos ya contenían los discos de 6 mm de diámetro.

Se colocó los discos a las 188 placas Petri, haciendo una división imaginaria de la placa en cuatro espacios y en cada uno de estos se procederá a colocar un disco se rótulo el número de placa Petri y cada una de las concentraciones que contengan cada uno de los discos, así como el control positivo.

Se procedió a sellar cada una de las placas Petri

Se llevó las 188 muestras a la incubadora. La incubación se realizó a 37°C con observación de 12 y 24 horas.

La medición de los halos se realizó con regla con vernier de ± 0.01 mm. En cada uno de los momentos establecidos los datos obtenidos se procedieron a anotar en la ficha de recolección de datos.

Luego Se colocó los discos a base de papel filtro grosso de 6 mm de diámetro en las placas, 4 discos por placa, un disco con aceite esencial de CITRUS

AURANTIFOLIA (LIMÓN) al 10%,25%, 50% ,75% y 100%) y uno último con clorhexidina al 0.12%, se realizaron 5 repeticiones, dispersos en el área de la placa

La medición de los halos se realizó con vernier de ± 0.01 mm.

Se anotó los controles positivos y negativos en la ficha de recolección de datos

4.4. Técnica estadística para el procedimiento de la información:

Una vez ejecutada la recopilación de datos con las herramientas serán sujetos a los requerimientos estadísticos. Se confeccionará en el paquete estadístico IBM SPSS Statistic 24 en español con el software Windows 10. De este modo, se utilizará la prueba de ANOVA, en los grupos que presentaron distribución normal para muestras relacionadas comparando las medias entre las concentraciones distintas del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) (10%, 25%, 50%, 75% y 100%), Fluconazol al 2%, el control negativo (Alcohol) y el control positivo (Clorhexidina) y la prueba Kruskal Wallis, para aquellos grupos que no presentaron distribución normal.

Los datos fueron organizados y presentados en tablas y gráficos estadísticos para su análisis e interpretación, considerando un nivel de significancia estadística ($p < 0.05$).

El análisis de los datos se llevará a cabo a través del cálculo de medidas de tendencia central (media aritmética) y de dispersión (desviación estándar, valores mínimo y máximo, dada la naturaleza cuantitativa de la variable respuesta).

4.5. Aspectos éticos:

Dado que la investigación es in vitro, el proyecto de investigación no requerirá de un consentimiento informado dado a que no se experimenta en persona pues usaremos cepas certificadas de hongos ya que, en la unidad de estudio, no se va en contra de ninguno de los principios éticos de la investigación científica.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos, fotos, tablas, etc.

Tabla N° 1

Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en (12 Y 24 horas)

	Aceite esencial citrus Aurantifolia - limón (mm)									
	12 horas					24 horas				
	N	Prom	DE	Mínimo	Máximo	Prom	DE	Mínimo	Máximo	
Concentración al 10% (mm)	18	7,72	1,02	6	10	7,72	1,02	6	10	
Concentración al 25% (mm)	18	10,11	1,23	9	13	10,11	1,23	9	13	
Concentración al 50% (mm)	18	17,39	1,29	15	20	17,39	1,39	15	20	
Concentración al 75% (mm)	18	19,56	1,82	17	23	19,56	1,82	17	23	
Concentración al 100% (mm)	18	24,56	1,29	22	26	17,06	1,26	15	20	

Prom: Media aritmética
DE: Desviación estándar

Fuente: Propia del investigador

Observamos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del Aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en 12 horas tenemos una mayor concentración con un promedio o media del total con un valor de 24,56 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,29 (mm) con un mínimo valor de 22 (mm) y un máximo valor de 26 (mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231). Seguidamente observamos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del Aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en 24 horas tenemos una menor concentración con un promedio o media del total con un valor de 17,06 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,26 (mm) con

un mínimo valor de 15 (mm) y un máximo valor de 20 (mm) en concentraciones del 100% sobre cepas de *Candida Albicans* (ATCC 10231).

Gráfico N° 1

Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus *Aurantifolia* (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de *Candida Albicans* (ATCC 10231) en (12 y 24 horas)

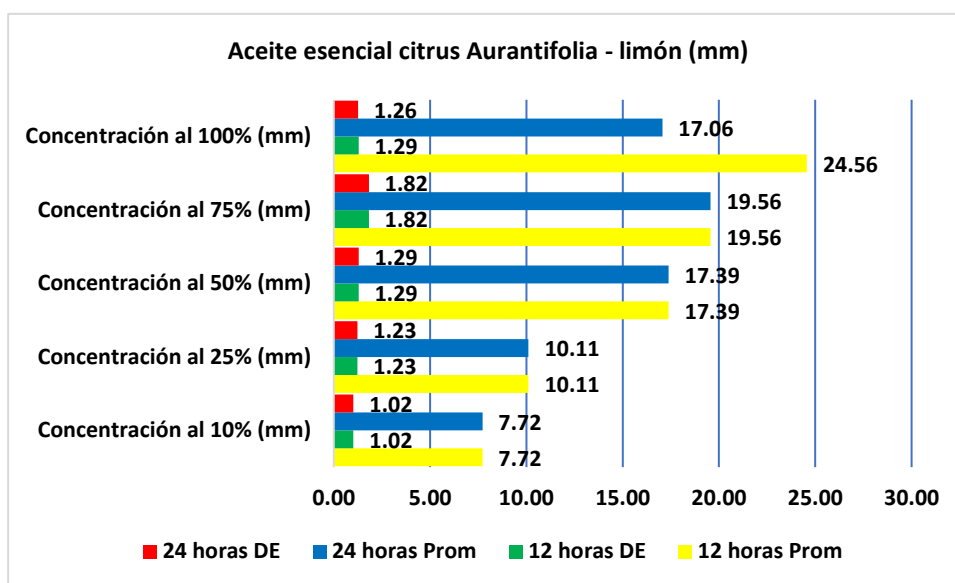


Tabla N° 2

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas

	Efecto antifúngico – 12 horas				
	N	Prom	DE	Mínimo	Máximo
Concentración al 100% (mm)	18	24,56	1,29	22	26
Fluconazol 2%	18	18,00	1,65	15	22

Prom: Media aritmética
DE: Desviación estándar

Fuente: Propia del investigador

Observamos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% que mostró en 12 horas un mayor efecto antifúngico con un promedio o media de 24,56 (mm) y un valor en la desviación estándar de 1,29 (mm) con un mínimo valor de 22 (mm) y un máximo valor de 26(mm) sobre las cepas candida Albicans. En cuanto al Fluconazol 2% en 12 horas mostró un menor efecto antifúngico con un promedio o media del total con un valor de 18.00 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,65 (mm) con un mínimo valor de 15 (mm) y un máximo valor de 22 (mm) en concentraciones sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231).

Gráfico N° 2

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas

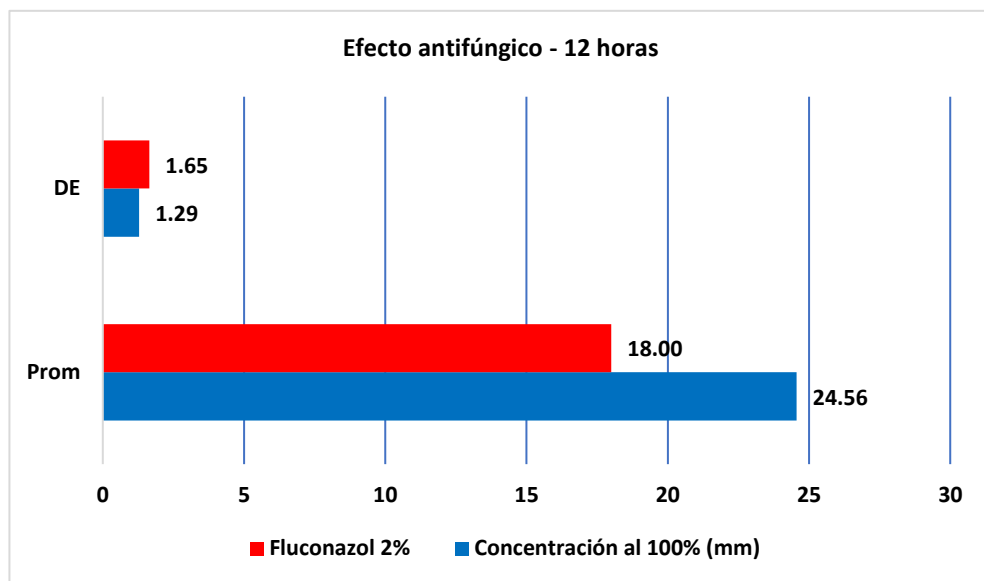


Tabla N° 3

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas.

	Efecto antifúngico - 12 horas				
	N	Prom	DE	Mínimo	Máximo
Concentración al 100% (mm)	18	24,56	1,29	22	26
C++	18	9,22	1,17	7	11
C-	18	0	0	0	0

Prom: Media aritmética

Fuente: Propia del investigador

DE: Desviación estándar

Obsérvanos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en concentración al 100% en el cual mostró que, a las 12 horas, presenta un mayor efecto antifúngico con un promedio o media de 24,56 (mm) y un valor en la desviación estándar de 1,29 (mm) con un mínimo valor de 22 (mm) y un máximo valor de 26(mm) sobre las cepas candida Albicans. Mientras el control positivo C ++ en 12 horas tenemos una concentración con un promedio o media del total con un valor de 9,22 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,17 (mm) con un mínimo valor de 7 (mm) y un máximo valor de 11 (mm) en concentraciones sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231), el control C- no presentó ningún valor significativo en promedio de las 12 horas sobre las cepas candida Albicans (ATCC 10231).

Gráfico N° 3

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 horas.

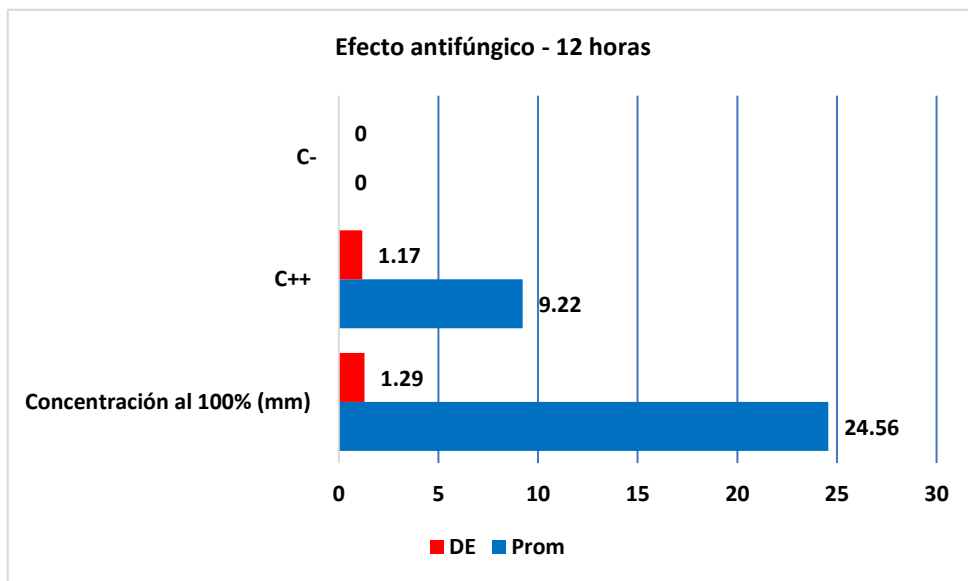


Tabla N° 4

Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en (12 Y 24 horas)

	Aceite esencial citrus Aurantifolia - limón (mm)								
	N	12 horas				24 horas			
		Prom	DE	Mínimo	Máximo	Prom	DE	Mínimo	Máximo
Concentración al 10% (mm)	18	8,39	1,14	7	10	8,39	1,14	7	10
Concentración al 25% (mm)	18	11,06	1,43	9	13	11,06	1,43	9	13
Concentración al 50% (mm)	18	17,00	1,19	15	19	17,00	1,19	15	19
Concentración al 75% (mm)	18	22,89	1,64	20	25	22,6	1,64	20	25
Concentración al 100% (mm)	18	25,83	1,04	24	27	18,67	1,28	17	21

Prom: Media aritmética
DE: Desviación estándar

Fuente: Propia del investigador

Observamos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del Aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en 12 horas tenemos una mayor concentración con un promedio o media del total con un valor de 25,83 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,04 (mm) con un mínimo valor de 24 (mm) y un máximo valor de 27 (mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369). En cuanto a la muestra de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del Aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en 24 horas tenemos una menor concentración con un promedio o media del total con un valor de 18,67 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,28 (mm) con un mínimo valor de 17 (mm) y un máximo valor de 21 (mm) en concentraciones del 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369).

Gráfico N° 4

Efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en (12 y 24 horas)

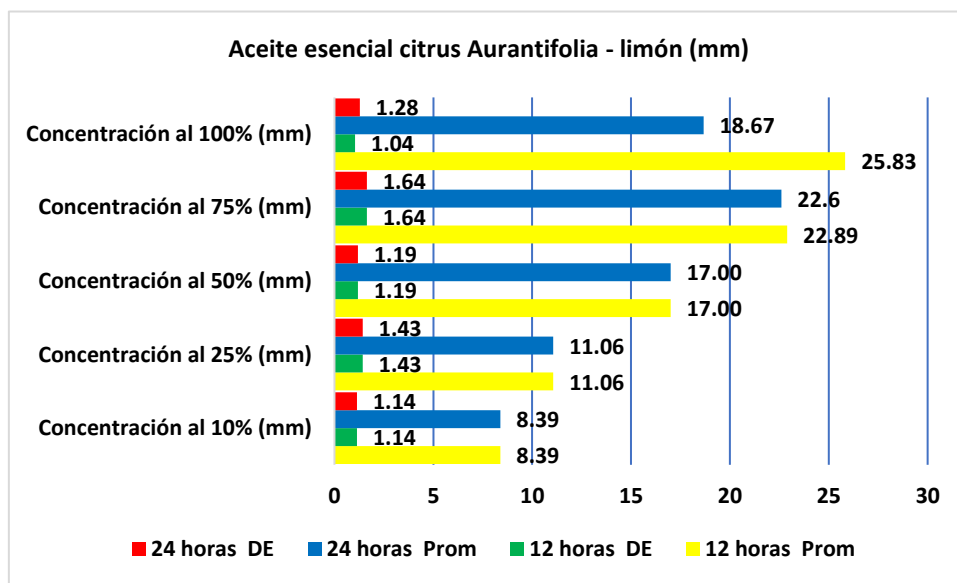


Tabla N° 5

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas

	Efecto antifúngico – 12 horas				
	N	Prom	DE	Mínimo	Máximo
Concentración al 100% (mm)	18	25,83	1,04	24	27
Fluconazol 2%	18	20,11	1,23	18	22

Prom: Media aritmética

Fuente: Propia del investigador

DE: Desviación estándar

Observamos las muestras de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en 12 horas tenemos una mayor concentración con un promedio o media del total con un valor de 25,83 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,04 (mm) con un mínimo valor de 24 (mm) y un máximo valor de 27 (mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369). En cuanto al Fluconazol 2% en los resultados obtenidos a las 12 horas tenemos una menor concentración con un promedio o media del total con un valor de 20,11 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,26 (mm) con un mínimo valor de 18 (mm) y un máximo valor de 22 (mm) en concentraciones sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369).

Gráfico N° 5

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y del fluconazol al 2% sobre cepas de *Candida Tropicalis* (ATCC 1369) en 12 horas

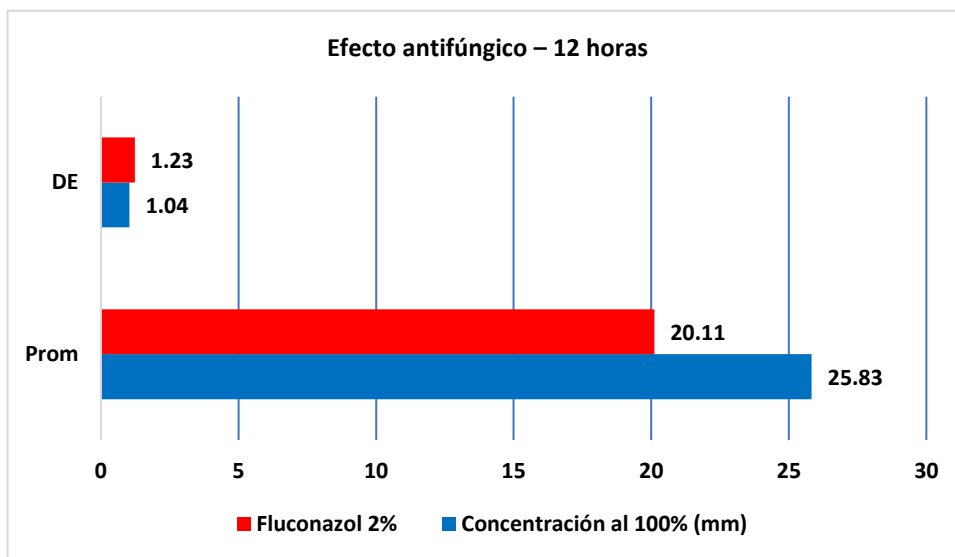


Tabla N° 6

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas.

	Efecto antifúngico - 12 horas				
	N	Prom	DE	Mínimo	Máximo
Concentración al 100% (mm)	18	25,83	1,04	24	27
C++	18	10,11	1,28	8	12
C-	18	0	0	0	0

Prom: Media aritmética

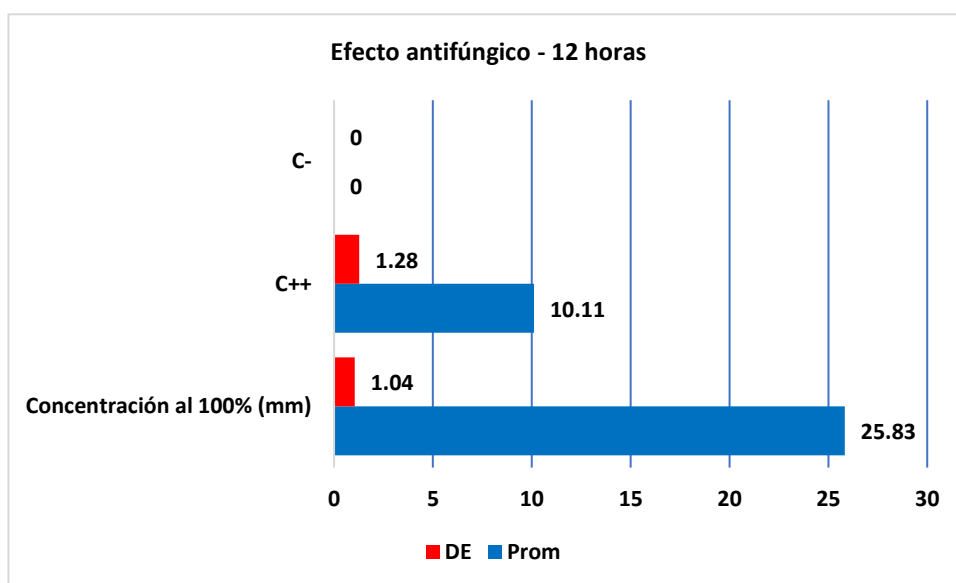
Fuente: Propia del investigador

DE: Desviación estándar

Observamos las muestra de los estudios realizados in vitro del efecto antifúngico del aceite esencial Aurantifolia (limón) en concentración al 100% en el cual mostró que, a las 12 horas, presenta un mayor efecto antifúngico con un promedio o media de 25,83(mm) y un valor en la desviación estándar de 1,04(mm) con un mínimo valor de 24 (mm) y un máximo valor de 27(mm) sobre las cepas candida Tropicalis (ATCC 1369). Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro el efecto antifúngico del control positivo C++ a las 12 horas presentando un menor efecto antifúngico tenemos una concentración con un promedio o media del total con un valor de 10,11 (mm) y un valor en la desviación estándar es 1,28 (mm) con un mínimo valor de 8 (mm) y un máximo valor de 12 (mm) en concentraciones sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) , en cuanto al control C- no presenta ningún valor significativo en promedio de las 12 horas.

Gráfico N° 6

Efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia en concentración del 100% in vitro y control positivo y negativo sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas.



5.2 Análisis inferencial, pruebas estadísticas paramétricas, no paramétricas, de correlación, de regresión u otras

Tabla Nº 7

Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans en 12 y 24 horas

Halo de inhibición - Aceite esencial citrus Aurantifolia - limón (mm)											
		12 horas					24 horas				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración al 10% (mm)	Entre grupos	1,111	4	0,278	0,219	0,923	1,11	4	0,278	0,219	0,923
	Dentro de grupos	16,5	13	1,269			16,5	13	1,269		
	Total	17,611	17				17,6	17			
Concentración al 25% (mm)	Entre grupos	5,694	4	1,424	0,922	0,481	5,69	4	1,424	0,922	0,481
	Dentro de grupos	20,083	13	1,545			20,1	13	1,545		
	Total	25,778	17				25,8	17			
Concentración al 50% (mm)	Entre grupos	5,278	4	1,319	0,746	0,578	5,28	4	1,319	0,746	0,578
	Dentro de grupos	23	13	1,769			23	13	1,769		
	Total	28,278	17				28,3	17			
Concentración al 75% (mm)	Entre grupos	8,944	4	2,236	0,612	0,661	8,94	4	2,236	0,612	0,042
	Dentro de grupos	47,5	13	3,654			47,5	13	3,654		
	Total	56,444	17				56,4	17			
Concentración al 100% (mm)	Entre grupos	15,194	4	3,799	3,727	0,031	11,7	4	2,924	2,492	0,094
	Dentro de grupos	13,25	13	1,019			15,3	13	1,173		
	Total	28,444	17				26,9	17			

Prueba Anova

Fuente: Propia del investigador

De acuerdo con la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; donde $P = 0,031$ en el aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en la exposición de 12 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 18 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 7

Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans en 12 y 24 horas

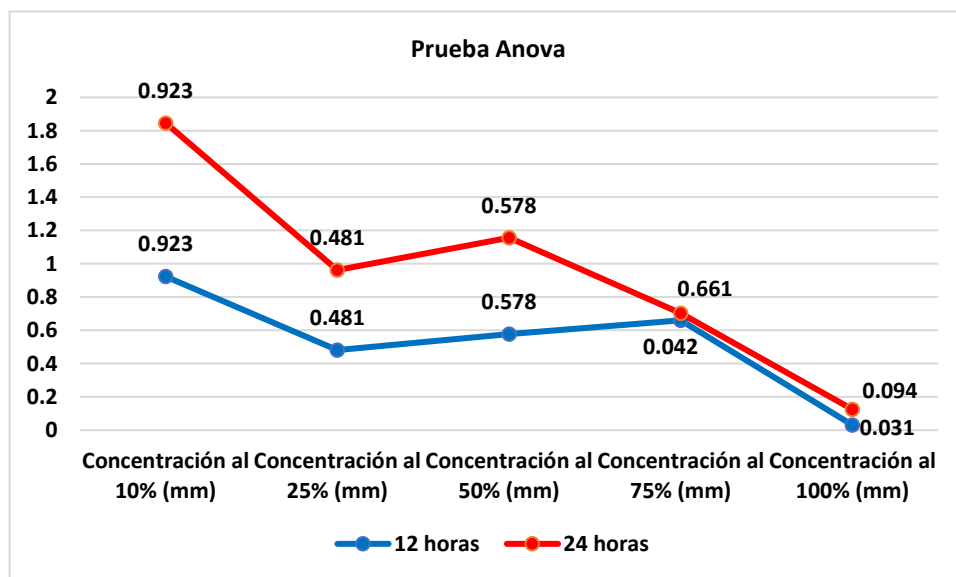


Tabla N° 8

Comprobación de halo de inhibición en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) al 100% Y del fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans y Candida Tropicalis a las 12 horas

Halo de inhibición - 12 horas						
Concentración al 100% (mm) sobre Candida Albicans	Entre grupos	15,19	4	3,799	3,727	0,039
	Dentro de grupos	13,25	13	1,019		
	Total	28,44	17			
Concentración al 100% (mm) sobre Candida Tropicalis	Entre grupos	0,7	4	0,175	0,128	0,655
	Dentro de grupos	17,8	13	1,369		
	Total	18,5	17			
Fluconazol al 2% (12 horas) sobre Candida Albicans	Entre grupos	12,17	4	3,042	1,169	0,364
	Dentro de grupos	33,83	13	2,603		
	Total	46	17			
Fluconazol al 2% (12 horas) sobre Candida Tropicalis	Entre grupos	7,661	4	1,915	1,374	0,296
	Dentro de grupos	18,12	13	1,394		
	Total	25,78	17			

Prueba Anova

Fuente: Propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; $P = 0,039$ en el aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) tiene mayor efecto antifúngico sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) en la exposición de 12 horas que el fluconazol al 2% con lo que se pudo concluir que hay una mayor efectividad en esta concentración experimental para inhibir en las 18 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 8

Comprobación de halo de inhibición en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) al 100% Y del fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans y Candida Tropicalis a las 12 horas

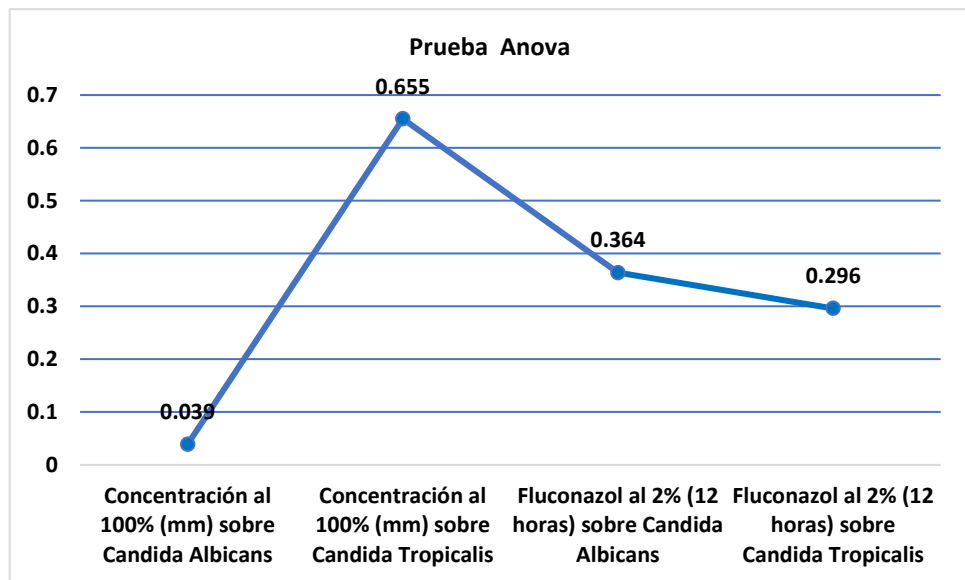


Tabla N° 9

Comprobación de halo de inhibición en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de candida Albicans y Candida Tropicalis a las 12 horas

Halo de inhibición - 12 horas						
Concentración al 100% (mm) sobre Candida Albicans	Entre grupos	13,39	3	4,465	4,153	0,027
	Dentro de grupos	15,05	14	1,075		
	Total	28,44	17			
Concentración al 100% (mm) sobre Candida Tropicalis	Entre grupos	5,05	3	1,683	1,752	0,202
	Dentro de grupos	13,45	14	0,961		
	Total	18,5	17			
Clorhexidina al 0.12% (12 horas) sobre Candida Albicans	Entre grupos	21,11	3	7,037	49,259	0,069
	Dentro de grupos	2	14	0,143		
	Total	23,11	17			
Clorhexidina al 0.12% (12 horas) sobre Candida Tropicalis	Entre grupos	4,228	3	1,409	0,838	0,495
	Dentro de grupos	23,55	14	1,682		
	Total	27,78	17			

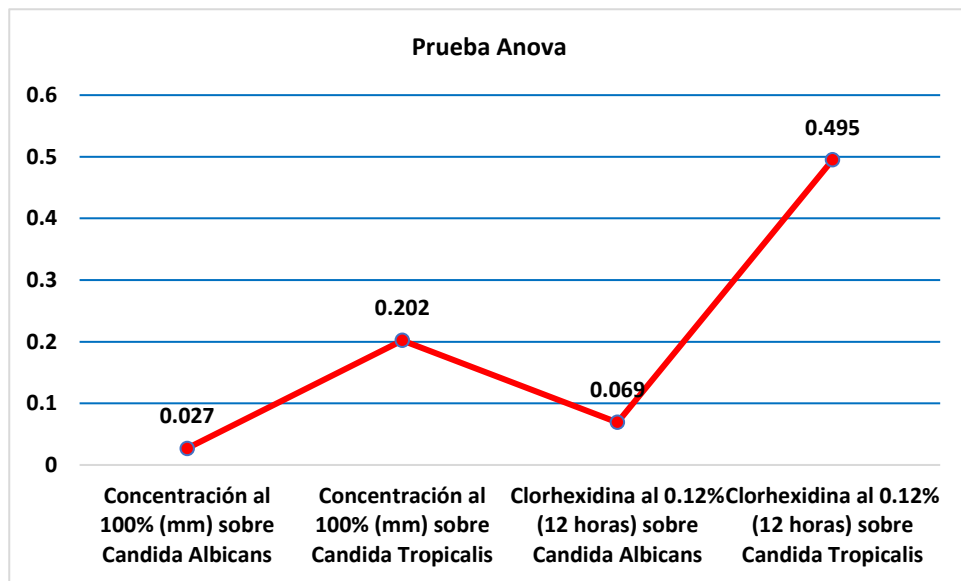
Prueba Anova

Fuente: Propia del investigador

De acuerdo con la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; $P = 0,027$ en el aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) tiene mayor efecto antifúngico sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) en exposición de 12 horas que el control positivo la clorhexidina al 0,12% con lo que se pudo concluir que hay una mayor efectividad en esta concentración experimental para inhibir en las 18 muestras realizadas en el laboratorio.

Gráfico N° 9

Comprobación de halo de inhibición en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de candida Albicans y Candida Tropicalis a las 12 horas



5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

Tabla N° 10

Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369)

	Candida Albicans		Fluconazol 2%	Candida Tropicalis		Fluconazol 2%	
	12 horas	24 horas	12 horas	12 horas	24 horas	12 horas	
ANOVA	Concentración al 10% (mm)	0,923	0,923		0,624	0,624	
	Concentración al 25% (mm)	0,481	0,481		0,278	0,278	
	Concentración al 50% (mm)	0,578	0,578	0,364	0,612	0,588	0,296
	Concentración al 75% (mm)	0,661	0,042		0,019	0,188	
	Concentración al 100% (mm)	0,094	0,031		0,97	0,001	

Prueba Anova

Fuente: Propia del investigador

En el cuadro comparativo de Halo de inhibición del efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol sobre cepas candida Tropicalis (ATCC 1369) en 10%,25%,50%,75% y 100% en concentraciones en 12 y 24 horas de acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 100%; $P = 0,001$ en el aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) en la exposición de 12 horas con lo que se pudo concluir que hay una mayor efectividad en esta concentración experimental para inhibir en las 18 muestras realizadas en el laboratorio.

5.4 Discusión

En el actual estudio fue tipo experimental, transversal, prospectivo y comparativo del cual comparó el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369).

Los resultados obtenidos nos permiten demostrar que el aceite esencial de Aurantifolia (limón) empleado para este estudio, a sus diferentes concentraciones evaluadas el 100% demostró tener mayor efecto antifúngico a las 12 horas sobre las cepas Candida Albicans y Candida Tropicalis, siendo semejante con el estudio de **Su-Mi Lee, Seon-Young Park** donde en sus resultados de la Citrus Aurantifolia presentó inhibición al 100% del crecimiento de triple resistente a fármacos. Estos resultados son semejantes entre sí demostrando que los concentrados del citrus Aurantifolia tienen buenos efectos inhibidores sobre cepas bacterianas tanto Gram Negativos y Gram positivos.¹

En referencia con los halos de inhibición en nuestro estudio se observó que el aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presentó halos de inhibición de 24,56 mm a las 12 horas y 17,06 mm a las 24 horas discrepando con el estudio realizado de **Pardo C.** donde en sus resultados obtenidos se observó que el promedio de inhibición para la concentración al 100 % (17,73 mm; Los promedios del diámetro de los halos de inhibición disminuyeron a medida que la concentración del aceite esencial también disminuye, presentándose valores entre 0 mm y 24 mm , pero A la concentración más baja evaluada (20%), los aceites esenciales presentaron una actividad bacteriostática.²

En referencias a otras cepas bacterianas el estudio realizado de **Calderón D.** aceite esencial citrus limón sobre la viabilidad de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en sus resultados obtenidos sobre los halos de diámetro sobre *S. Aureus* a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100% del aceite de citrus limón inhibitorio lo tiene la concentración del 100% teniendo un halo de 26mm y en cuanto en estudio sobre *E. coli* presentó un halo de 20mm con la concentración de 100%²⁸ siendo discrepante con el estudio de **Churata D.** el efecto antifúngico de citrus paradisi "toronja" en las cepas de *Candida albicans* con concentraciones de 25; 12,5; 6,25; 3,13 y 1,56 % demostraron actividad antifúngica sobre las cepas de *Candida Albicans* con halos de inhibición promedio de 12,63; 10,33; 7,79; 6,75 y 6,29 mm.¹² Estos resultados discrepan entre si porque demuestran una diferencia significativa entre las concentraciones estudiadas y que el efecto inhibitorio aumenta a mayor concentración del aceite esencial citrus limón teniendo mejor efecto antibacteriano.²⁸

Mientras que en el estudio de **Huaracha O.** sobre el efecto Antimicótico In Vitro Del Aceite Esencial De *Cinnamomum Zeylanicum* "Canela" sobre *Candida Albicans* donde la inhibición porcentual del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Candida albicans*, para el control positivo se usó el (fluconazol) obteniendo el valor mínimo de 25.68mm y máximo de 25.68mm, con media de 26.08 mm; para la primera concentración de aceite esencial de 25% se obtuvo un mínimo de 19.78mm y máximo de 20.72mm con media de 20.15mm; con 50% de aceite se presentó un mínimo de 20.87mm y máximo de 21.72mm con media de 21.35mm; para 75% de aceite se tiene mínimo de 23.07mm y máximo 24.35mm con media de 23.78mm; con 100% se obtuvo un

mínimo de 24.6mm y máximo de 25.98mm con media de 25.17mm, en tanto para el control negativo (alcohol 96%) no se observó ningún tipo de crecimiento en vista que es un control negativo que no se espera que funcione o que muestre datos.²⁹

En otro estudio realizado por **Natalia M, Viera P, Fernández A.** sobre cepas de Candida Oral a Extracto Etanólico del Propóleo Chileno de Olmué”, Con respecto a la concentración mínima inhibitoria, se pudo confirmar que el 100 % de las muestras en rangos de concentración de propóleo de 0,1 µg/mL y 1,6 µg/mL presentaron inhibición en su crecimiento. Mientras que en todas las muestras con concentraciones de 0,025 y 0,05 µg/mL hubo crecimiento de la levadura.³⁰

De acuerdo en la investigación realizada se desarrolló en cepas la candida Albicans y la candida Tropicalis para poder demostrar el objetivo de la investigación como la hipótesis , la cual tuvo un buen resultado , demostrando que efectivamente el aceite esencial de citrus Aurantifolia tiene un buen efecto antifúngico sobre dichas cepas tales como en diferentes microorganismos , demostrando así que desde la concentración del 100% del aceite esencial Aurantifolia tiene un efecto antifúngico notables, dando así resultados favorables para el desarrollo de la investigación , presentó un mayor efecto antifúngico a las 12 horas sobre las candida Albicans y Tropicalis.

CONCLUSIONES

El efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presenta diferencias estadísticamente significativas ante el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y la candida Tropicalis (ATCC 1369).

El aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presento un efecto antifúngico en cepas de candida Albicans (ATCC 10231) siendo la concentración al 100% con un halo de (24, 56mm) generando un mayor efecto antifúngico a las 12 horas en comparación a las 24 horas donde la concentración del aceite al 100% presenta un halo de (17,06mm) teniendo un menor efecto antifúngico.

El aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presento un efecto antifúngico en cepas de candida tropicalis (ATCC 1369) siendo la concentración al 100% con un halo (25,83mm) generando un mayor efecto antifúngico a las 12 horas en comparación a las 24 horas donde la concentración del aceite al 100% presenta un halo de (18,67mm) teniendo menor efecto antifúngico.

El aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presento un efecto antifúngico en cepas de candida Albicans (ATCC 10231) con la mayor concentración al 100% con un halo de (24,56mm) teniendo un mayor efecto antifúngico a comparación del fluconazol al 2% que mostro un halo de (18,00mm) con menor efecto y en la candida Tropical (ATCC 1369) el aceite esencial también mostro efectos positivos con la concentración del 100% con un halo de (25,88mm) teniendo mayor efecto antifúngico a comparación del fluconazol al 2% con un halo de (20,11mm) a las 12 horas.

El aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) presento mayor efecto sobre las cepas de candida Albicans (ATCC 10231) con una concentración del 100%presentando un halo de (24,56mm) teniendo el mayor efecto antifúngico en comparación con la clorhexidina al 0,12% que es el control positivo (C++) presentando un halo de (9,22mm) teniendo un menor efecto antifúngico y con el control negativo (C-) (0mm) no hubo ningún efecto , en cuanto a las cepas de la candida Tropicalis (ATCC 1369) la concentración del aceite esencial al 100% presento un halo de (25,83mm) teniendo un mayor efecto antifúngico a comparación a la clorhexidina al 0,12% (C++) presentando un halo de (10,11mm) teniendo un efecto menor y el (C-) (0mm) no hubo efecto a las 12 horas.

RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones comprobando la actividad antimicótica del aceite esencial de citrus Aurantifolia (Limón) frente a diferentes fármacos de interés terapéutico, en el tratamiento de afecciones por causa de Candidiasis

Es recomendable el uso del aceite citrus Aurantifolia en una concentración de 100% por actuar dentro de las primeras 12 horas.

Se recomienda a los odontólogos usar tratamientos naturales, como el uso del aceite natural citrus Aurantifolia (Limón) para el tratamiento de candidiasis oral, con un adecuado diagnóstico y seguimiento respectivo sobre su aplicación.

Elaborar diferentes formas farmacéuticas de acuerdo a la vía de administración utilizando aceite esencial de citrus Aurantifolia (Limón) para realizar ensayos clínicos en pacientes portadores de prótesis, pacientes inmunodeprimidos.

Continuar con las investigaciones de productos naturales antifúngicos presentes en aceites esenciales de diversas plantas, con el propósito de promover la investigación de tratamientos a partir de productos naturales y beneficiar a los pacientes saludable y económicamente a que puedan adquirir el producto.

Realizar más estudios del aceite esencial de limón para poderlo utilizar en un futuro en una actividad clínica frecuente en los posibles tratamientos

FUENTE DE INFORMACIÓN

1. Lee u, Young S, Kim LJ, Cho EA, Jun CH. Key lime (Citrus Aurantifolia) inhibits the growth of triple drug resistant Helicobacter pylori. Gut Pathog. 2018 octubre; 10(16): 501-757.
2. Pardo C, Lemes R, Alves C, Esteban E. Composición química y la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de agrios Aurantifolia hojas y cáscara de la fruta contra las bacterias orales patógenas. Un Acad Bras Cienc. 2018 octubre; 90(2): 12.
3. Giovanna C, Gladys M, Alveiro E. Antimicrobial effect of essential oil of Citrus reticulata on Fusobacterium nucleatum associated with periodontal disease. Biotecnol. 2017 diciembre; 21 (7): 14.
4. Churata D, Ramos D, Moromi H, Martínez E. Efecto antifúngico de citrus paradisi "toronja "sobre cepas de candida albicans aisladas de pacientes con estomatitis subprotésica. Estomatológica Herediana. 2016 Abril; 26(2): 78-84.
5. Araníbar A, Eficacia Antimicótica Del Aceite Esencial De Minthostachys Mollis (Muña) Sobre Cepas De Candida Albicans Aisladas, Arequipa 2018 enero 14. [Internet] [Tesis] Arequipa, 2018.
6. Castro L, Álvarez M, Martínez E. Candida en la cavidad oral de pacientes con VIH en Cali, Colombia. IATREIA. 2015 octubre; 28(4): 368-377.
7. Laís V, Laurelyne V. Denture hygiene in denture stomatitis control. Rev.gaúch odontol. 2016 junio; 61(2): 255-261.

8. Pérez M, Cosetti L. Candidiasis bucal. *actas odontológicas*. 2014 octubre; 1(53-62): 53.
9. Innes K, Griht M, Nansol K. Research. [Online].; 2015 [cited 2015 15 de abril 2016. Available from: <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2015>.
10. Alcalá de Henares. Ficha técnica del fluconazol. MABO-FARMA. 2017 junio; 10(19):1-19.
11. Diomedi A, Chacón E, Delpiano L, Hervé B, Jemenao I. Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional, Recomendaciones del Comité Consultivo, de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Chilena Infectol*. 2017 marzo; 32(2): 156-174.
12. Elena F, Jiménez T. Limón Medicinal. [Online].; 2018 [cited 2017 Abril 11. Available from: https://www.ecured.cu/Lim%C3%B3n_medicinal.
13. José C, Vázquez Y. lifeder.com. [Online].; 2017 [cited 2014 Octubre 19. Available from: <https://www.lifeder.com/citrus-x-aurantifolia/>.
14. Guido B, Méndez S. EcuRed Limón medicinal. [Online].; 2019 [cited 2019 mayo 9. Available from: <https://www.ecured.cu/index.php?>
15. Meroño Q. El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales. 1999.
16. Vegetal HL. Aceites Esenciales. In Havea; España. 2016, 1(1): 1-7.
17. Laboratories I. IDEXX.es. [Online].; 2018 [cited 2018 Octubre 17. Available from: <https://www.idexx.es/files/mic-gui%CC%81a-icrobiolo%CC%81gica-es.pdf>.

- 18 Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis Sistémica En Pacientes Críticos, Factores Predictores De Riesgo. Horiz Med. 2018 Julio; 18(11):75-85.
- 19 Biasoli M. Candidiasis. Doctoral. Española: Médica, Centro de micología; 2015, Abril; 1(1): 1-7.
- 20 Contran R, Vinay K, Collins T. Patología estructural y funcional. in interamericana, editor. ROBBINS. Sexta Edición ed. México: Ultra, S.A. De C.V.; 2000, 1(1): 790
- 21 Cruz S, Díaz P, Mazón G. Genoma De Candida Albicans. Salud Uninorte. 2017 abril 9; 33(3): 438-450.
- 22 Llop M, Poy C. Fluconazol. Pesamecum. 2013 Diciembre; 1(3): 1-10.
- 23 Velásquez L, Lorenzo P, Moreno A. Farmacología Básica y clínica. In Miguel Hidalgo cp. Editor. Farmacología Básica y clínica. 18th ed. México: medicina panamericana; 2014. Abril 1(1): 966.
- 24 Macalupú Z. Situación de la resistencia antifúngica de especies. Perú Med Exp Salud Publica. 2018 Marzo; 35(1):126-31.
- 25 Elena F, Pedro V, Nancy F, Ariana G. Aceites Esenciales Con Propiedades Antibióticas. Biofarbo. 2015 Noviembre; 7(7): 5-8.
- 26 Roberto S, Carlos F, María B, Metodología de la investigación científica, editor INTERAMERICANA EDITORES sexta edición ed. México: ultra, de Cv. 2014, Marzo; 1(1): 736: 1-9.

- 27 Natalia M, Paulina V, Alejandra F. Susceptibilidad de Cepas de Candida Oral a Extracto Etanólico del Propóleo chileno de Olmué. Ed. BioMAX: Santiago De Chile: Int. J. Odontoestomatol 2017. 11(3): 295-303.
- 28 Denis c. Efectos del aceite esencial citrus limón sobre la viabilidad de Escherichia coli y staphylococcus aureus in vitro: biblioteca de ciencias biológicas. Trujillo – Perú 2017; Abril, 1(60): 1-10.
- 29 Olinda H. Efecto Antimicótico In Vitro Del Aceite Esencial De Cinnamomum Zeylanicum “Canela” Sobre Candida Albicans. Facultad De Ciencias Biológicas. Puno- Perú 2019; Mayo 1 (74): 1-8.
- 30 Natalia M, Paulina V, Alejandra F. Susceptibilidad de Cepas de Candida Oral a Extracto Etanólico del Propóleo chileno de Olmué'. Int. J. Odontostomatol, 2017 octubre 11(3): 295-303
- 31 Manuel R. “Evaluación del aceite esencial de limón Citrus (Aurantifolia swingle) como conservante natural en carne de cerdo (Sus scrofa domesticus)”. Facultad De Ingeniería Química E Industrias Alimentarias. Lambayeque – Perú julio 2018 .24-25. p:127
- 32 Diego B.” Terapia Farmacológica Antifúngica En Estomatología” Facultad De Estomatología, Lima -Perú 2017. Mayo, 1(1):30- 32.
- 33 Otero R, María M, Rodríguez P” Candidiasis oral en el paciente C.V. Odontoestomatol. Madrid May/jun. 2015 May, 31(3): 1 -10.
- 34 Katirae f, Ahmadi A, Rahimi P, Shokri H.” In vitro antifungal activity of essential oils extracted from plants against fluconazole-susceptible and -

resistant *Candida Albicans*". *Micología médica actual* vol. 3,2. Iraní de
Micología Médica junio del 2017, Mayo 1(1): 1-6.

- 35 KARIN Q. "Efecto Antimicótico In Vitro Del Extracto De La Cúrcuma
(cúrcuma Longa) Frente A La Cepa De *Candida Albicans*" *Escuela
Profesional De Biología Puno – Perú* octubre 2020. Abril, 1(1): 1-67.

ANEXOS

ANEXO 1: CONSTANCIA DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN



Atención Profesional Permanente...



CONSTANCIA DE EJECUCION DE PROYECTO

La Sra. **FREDESBINDA, CERNA MORALES** Tecnólogo Medico con número de DNI N° **31631612**, en su rol de **Gerente General** de **Laboratorios Clínicos "FRIDA" E.I.R.L.** con RUC N° **20603440928**.

HACE COSTAR:

Que, la Srta. **LUZ EHVELYN SANCHEZ HENOSTROZA**, con número de DNI N° **72836851**, ha realizado la ejecución de su **Proyecto De Tesis "COMPARACION IN VITRO DEL EFECTO ANTIFUNGICO DEL ACEITE ESENCIAL CITRUS AURANTIFOLIA Y FLUCONAZOL AL 2% EN CRECIMIENTO DE CANDIDA ALBICANS (ATCC 10231) Y CANDIDA TROPICALIS (ATCC - 1369)"** en nuestra empresa en el **ÁREA DE MICROBIOLOGIA**, durante el periodo comprendido del **11 de diciembre** hasta **17 de Diciembre del presente año**, demostrando durante su ejecución de dicho proyecto responsabilidad, honestidad y dedicación.

Se expide la presente a solicitud del interesado, para los fines que crea conveniente.

Huaraz, 17 de Diciembre de 2020.


T.M. Fredesbinda Cerna Morales
PATOLOGIA CLINICA / ANATOMIA PATOLOGICA
C.T.M.P. 1265

Emergencias

Cel.: 955-978-964 - 943-88-707

Av. Luzuriaga 1208 - (Frente al Hospital "V.R.G.")

fridacerna@hotmail.com

ANEXO 2: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS



TIEMPO DE EXPOSICIÓN	NÚMERO DE PLACAS PETRI	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)							C -	C+ +
		ACEITE DE LIMÓN					FLUCONAZO L 2%			
		10 %	25 %	50 %	75 %	100 %				
24 HORAS	1									
	2									
	3									
	4									
	5									
	6									
	7									
	8									
	9									
	10									
	11									
	12									
	13									
	14									
	15									
	16									
	17									
	18									
CONTROL DE ESTERILIDAD										
CONTROL DE CRECIMIENTO										

TIEMPO DE EXPOSICIÓN	NÚMERO DE PLACAS PETRI	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)							
		ACEITE DE LIMÓN					FLUCONAZO L 2%	C	C+
		10 %	25 %	50 %	75 %	100 %		-	+
24 HORAS	1								
	2								
	3								
	4								
	5								
	6								
	7								
	8								
	9								
	10								
	11								
	12								
	13								
	14								
	15								
	16								
	17								
	18								
CONTROL DE ESTERILIDAD									
CONTROL DE CRECIMIENTO									

C+ clorhexidina 0,12% c+ control de esterilidad del medio c++ cultivo

ANEXO 3: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	VARIABLES DE ESTUDIO	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN
<p>Principal: Problema principal ¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y la candida Tropicalis (ATCC 1369)?</p> <p>Problemas específicos ¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%, 25%,50%, 75% y 100% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) a las 12 y 24 horas? ¿Existe diferencia en el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 y 24 horas? ¿Cuál será el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y el fluconazol al 2% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas? ¿Cuál será el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 horas?</p>	<p>Principal: Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) y el fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y candida Tropicalis (ATCC 1369).</p> <p>Específicos: Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) en 12 y 24 horas Comparar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial Citrus Aurantifolia (Limón)al 10%,25%,50%,75% y 100% sobre cepas de Candida Tropicalis (ATCC 1369) en 12 y 24 horas. Determinar el efecto antifúngico in vitro del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y del fluconazol al 2% sobre cepas de candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 horas. Determinar el efecto antifúngico del aceite esencial citrus Aurantifolia (limón) al 100% y la clorhexidina al 0.12% sobre cepas de Candida Albicans (ATCC 10231) y Candida Tropicalis (ATCC 1369) a las 12 horas .</p>	<p>variables dependientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Efecto antibacteriano de limón y fluconazol <p>variable independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentración mínima inhibitoria de limón y fluconazol • Sustancia experimental 	<ul style="list-style-type: none"> • Experimental • Prospectivo • Transversal • Analítico • Muestreo probabilístico

ANEXO N° 04: FACTURA ELECTRÓNICA DE LAS CEPAS



Gen Lab del Perú S.A.C

Jr. Capac Yupanqui N° 2434
Lince - Lima - Perú
Central Telefónica
(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501
Email : ventas@genlabperu.com
Web Site : www.genlabperu.com

RUC N°:20501262260

**FACTURA
ELECTRONICA
F001-007450**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 26/10/2020

Orden Compra: GL- 20-044061

Fecha Vcto : 26/10/2020

Guía de Remisión : 0030002161

Cliente: UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS S.A.

N° Pedido : 025869

Dirección: AV. SAN FELIPE NRO. 1109
JESUS MARIA - LIMA - LIMA - Peru

Tipo Movimiento : VTA LOCAL/APLIC. ANTICAnticipo: F002-001069

RUC: 20303063766

Lugar de destino : AV. SAN FELIPE NRO. 1109

Código	Descripcion	Cant	U/M	Precio Unit.	Dcto	Sub-Total
H03948-A	KWIK-STIK Candida tropicalis derived from ATCC® 1369™	1	UND	399.2300	0.00	399.23
H03918-A	KWIK-STIK Candida albicans derived from ATCC® 10231™	1	UND	351.1000	0.00	351.10

MONTO ES IGUAL A CERO. SOLES



Sub-Total	750.33
Anticipo	750.33
Op. Gravada S/	0.00
IGV 18%	0.00
Importe Total S/	0.00

Representacion Impresa de la Factura Electrónica
Consulta : <http://cpe.genlabperu.com>

Observaciones de SUNAT :

La FACTURA numero 20501262260-01-F001-007450, ha sido aceptada

1. CERTIFICADO DE CANDIDA ALBICANS



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1090** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2019/10/23
Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive
<p style="text-align: center;"><i>Amanda Kuperus</i></p> <p style="text-align: center;">Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE</p> <p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="220 1310 434 1451">  ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02 </div> <div data-bbox="486 1456 1396 1512"> (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures. </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="220 1467 375 1518">  ATCC Licensed Derivative </div> <div data-bbox="486 1534 877 1568"> (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005. </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="220 1545 434 1680">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div> </div>	

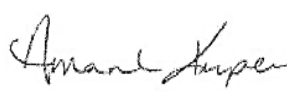
2. CERTIFICADO DE CANDIDA TROPICALIS



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida tropicalis Catalog Number: 01036 Lot Number: 1036-15** Reference Number: ATCC® 1369™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2019/10/11
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium, circular, convex, entire edge, cream-white, smooth, and waxy in appearance.	Medium: Nutrient
Microscopic Features: Gram positive ellipsoidal to ovoid yeast cells. Pseudohyphae may be present.	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



4. CERTIFICADO DE SABOURAUD DEXTROSA AGAR DE 500G

Liofilchem® Certificate of Analysis			Page 1 of 1	
Product	Batch	Expiration date		
Sabouraud Dextrose Agar Ref. 610103 – 620103 – 6101035	062220502	2024.06.02		
Physical quality control	Specification	Results		
Expected pH-value (25°C)	5,6 ± 0,2	5,8		
Appearance of powder	Free-flowing, homogeneous	Conforms		
Colour of powder	Light beige	Conforms		
Appearance of prepared medium	Slightly opalescent	Conforms		
Colour of prepared medium	Light amber	Conforms		
Microbiological Performance				
Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133, Harmonized USP/EP/JP Reference media: Sabouraud Dextrose Agar – batch already validated				
Productivity, Method of control: Quantitative Inoculum: 50-100 CFU				
Control strains	Incubation	Expected Results	Specification	Results
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> WDCM 00058	Aerobic, 72 ± 2 h 22.5 ± 2.5°C	P _R ≥ 0.7	Good growth	Conforms
<i>Aspergillus brasiliensis</i> WDCM 00053	Aerobic, 3-5 d 22.5 ± 2.5°C	P _R ≥ 0.7	Good growth	Conforms
<i>Candida albicans</i> WDCM 00054	Aerobic, 46 ± 2 h 22.5 ± 2.5°C	P _R ≥ 0.7	Good growth	Conforms
<i>Candida albicans</i> ATCC® 10231	Aerobic, 24-48 h 32.5 ± 2.5°C	P _R ≥ 0.7	Good growth	Conforms
Batch Release				
Approved				
Date	25.06.2020	Signature	Quality Control (D. Vitagliano)	
The results reported were obtained at the time of release.			Dario Vitagliano	
©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia - Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy - Tel +39 0858930745 - Fax +39 0858930330 CoA Ref. 610103 – 6101035 – 620103 Rev. 9 of 20.11.2015				

ANEXO N° 05: FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL CITRUS AURANTIFOLIA DEL LABORATORIO NUA



FICHA TÉCNICA: ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN

(*Citrus Aurantifolia*)

Identidad: Aceite esencial de limón.

Parte de la planta extraída: Cáscara (pericarpio de la fruta).

Nombre botánico: *Citrus limonum*, *Aurantifolia*

Familia botánica: Rutaceae.

País de origen: Perú.

Cultura: Convencional.

Proceso para la obtención: Primera prensa en frío.

Calidad: Aceite esencial definido botánica y bioquímicamente (HEBBD)

100% puro (libre de otros aceites esenciales)

100% integral (no decolorado, no rectificado)

100% natural (sin neutralizar con moléculas sintéticas)

Presentación: Botellas de vidrio ámbar con gotero.

Fecha de producción: Marzo 2019.

Usar preferentemente antes de finalizar: Marzo 2023.

Propiedades organolépticas:

- Apariencia: líquido móvil límpido.
- Color: amarillo verdoso pálido.
- Olor: fresco, agradable, dulce, limonada.

Densidad: 0.84 - 0.86

Punto de inflamación: 48°C

Composición: Principales componentes bioquímicos

Monoterpenos: limoneno (67.15%), beta-pineno (13.75%), gamma-terpineno (9.04%), alfa-pineno (2.05%), sabineno (1.63%)

Aldehídos: geraniales (1.60%)



ANEXO 6: SECUENCIA DE FOTOGRAFÍAS

1. Materiales Que Se Usaron Para El Desarrollo De La Investigación



Al lado izquierdo se observa los frascos con las cepas candida albicans y candida tropicalis

En el lado derecho tenemos el frasco del agar de Sabouraud dextrosa



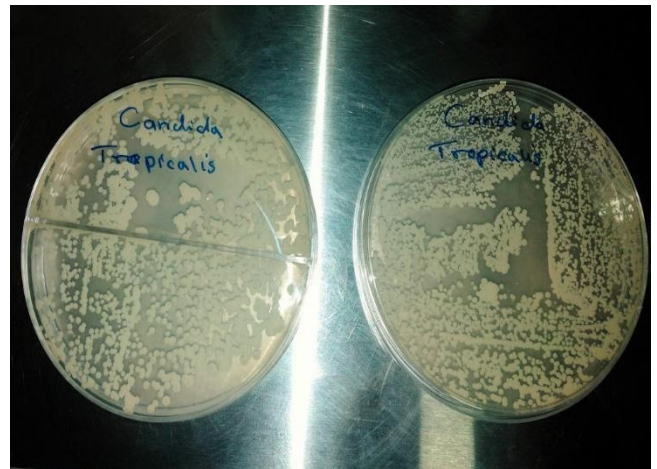
Al lado izquierdo encontramos placas Petri, matraz de 200ml, probeta y agua destilada.

A la derecha encontramos Clorhexidina 0,12%, fluconazol de 150 mg y el aceite de limón.

Pipetas para medir las concentraciones del aceite



Cultivando las cepas de candida albicans y tropicalis dentro de la cámara flujo laminar



Activación de incubación a 37°C a 72 horas de las cepas de candida albicans y tropicalis.



Selección de las colonias, luego se hizo la escala de Macfarlán usando un líquido salino para ver el grado de turbidez con un valor promedio de 0,5 dentro de los estándares y puede ser visualmente comparados, se usó hisopos estériles



Se preparó en las placas Petri el agar y se pasó el control de esterilidad, para luego activar las cepas de candida Albicans y tropicalis con ayuda de suero fisiológico.



Se diluyo el aceite de limón con dimetilsulfoxido, para obtenerlo a diferentes concentraciones, se prepararon los discos de papel estériles que se colocaron en las Placas Petri ya rotuladas y activadas con las cepas de candida albicans y tropicalis.



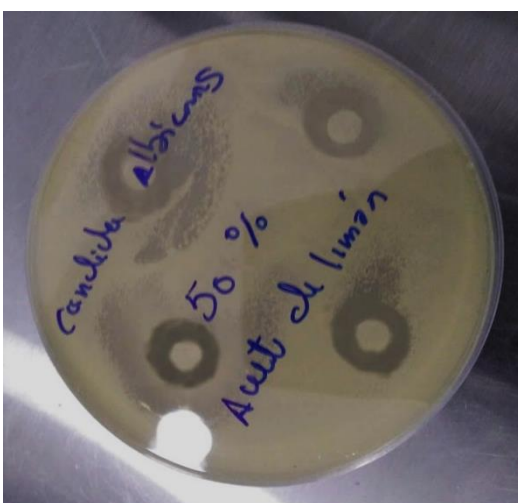
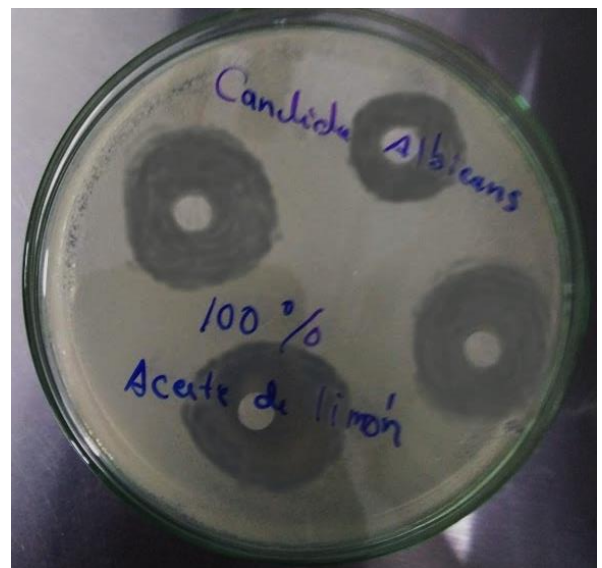
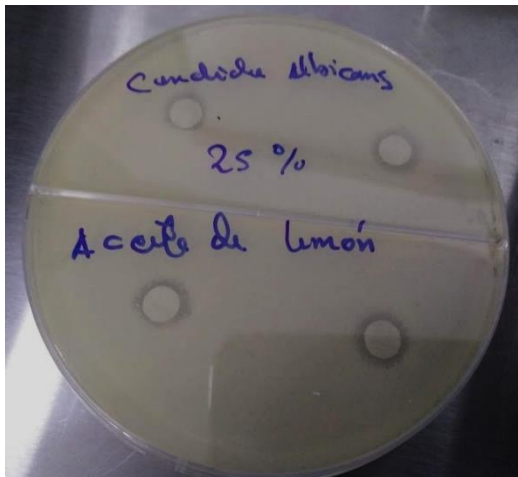
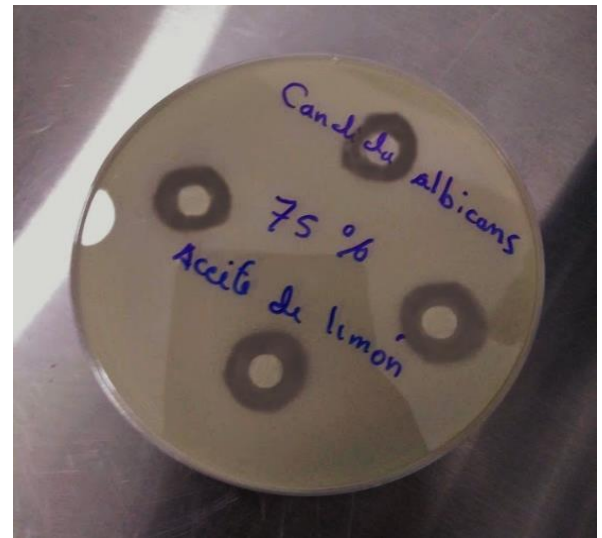
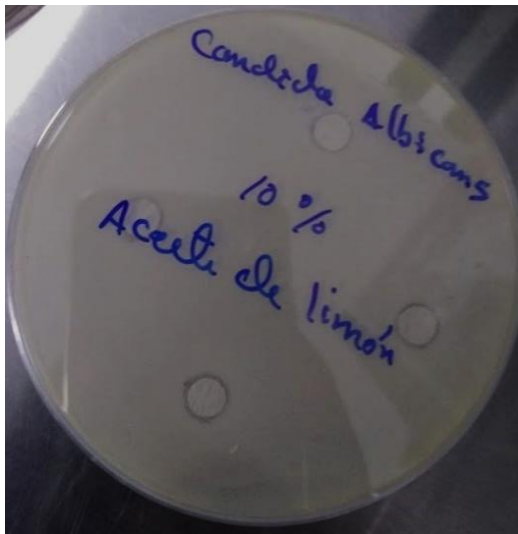
Se colocó los discos de papel con las concentraciones del aceite de limón a cada placa rotulada con las debidas concentraciones.



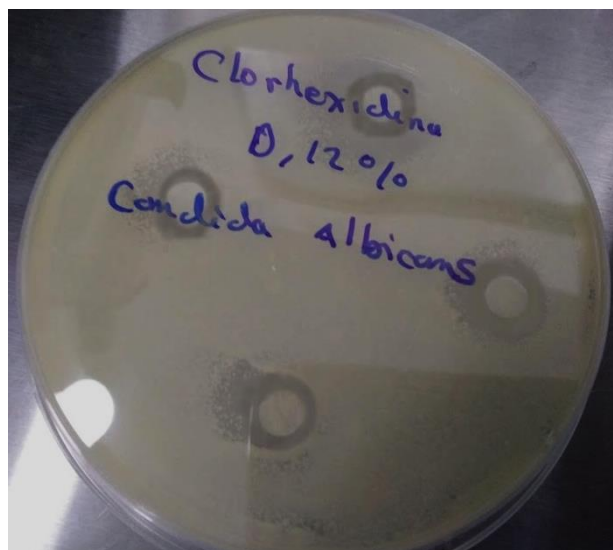
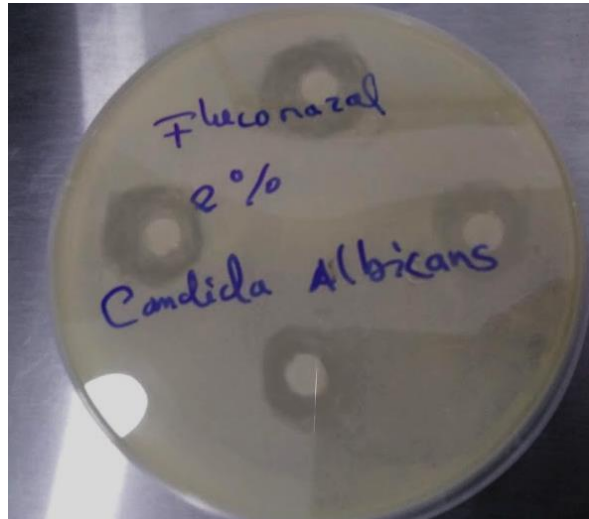
Terminada la colocación de los discos de papel con las concentraciones del aceite de limón de 10%, 25%, 50%, 75% y 100% en cada placa rotulada, se llevó a la incubadora durante 12 y 24 horas.



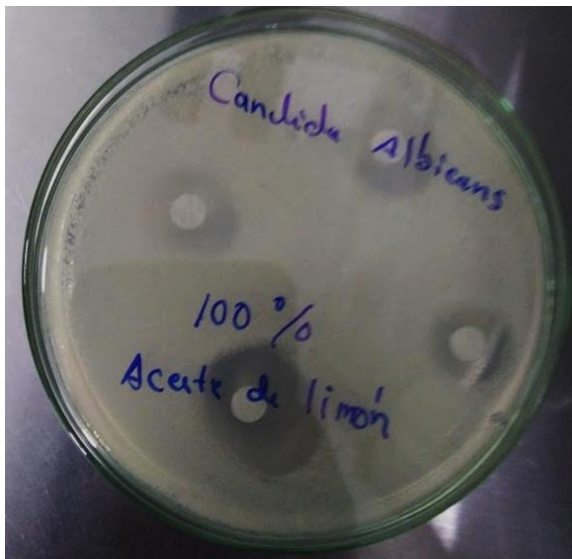
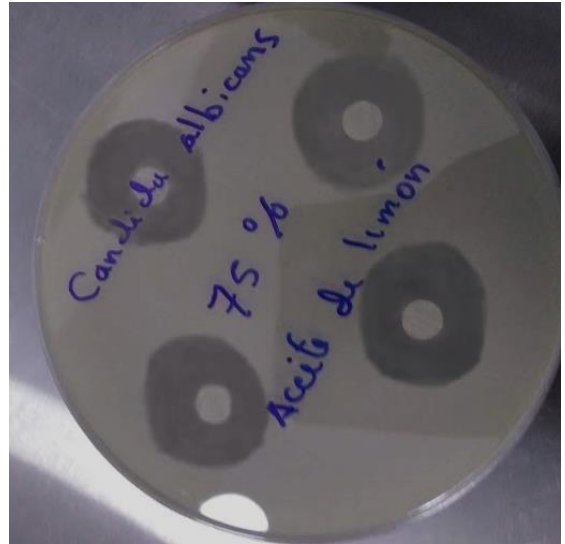
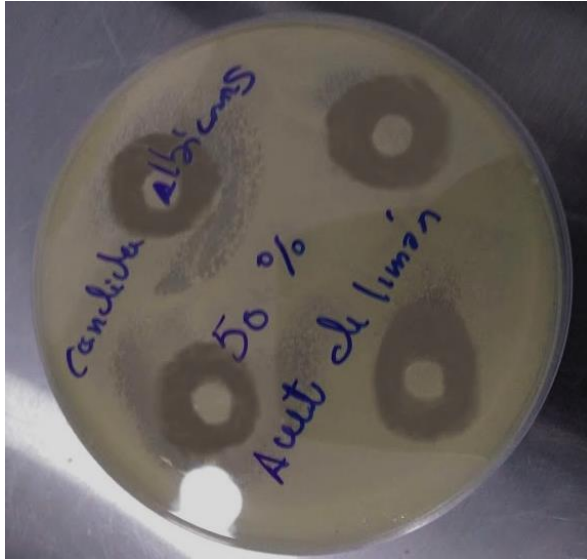
Pasado las 12 horas y 24 horas, se regresó al laboratorio para poder medir los halos de inhibición con una regla milimétrica o venner y la hoja de recolección de datos de cada concentración del aceite de limón que se realizó.



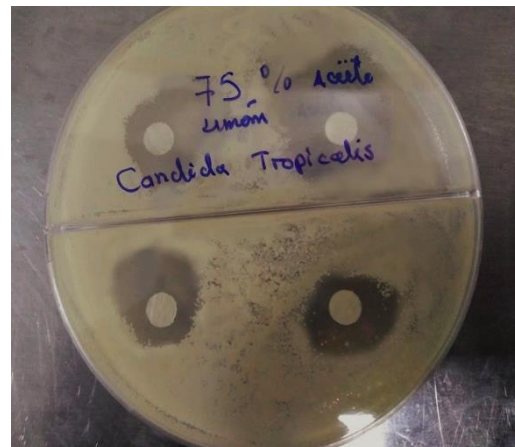
Halos de inhibición de las concentraciones 10%, 25%, 50%, 75% y 100% del aceite Aurantifolia (limón) en 12 horas .de las cepas candida Albicans



Halos de inhibición del fluconazol al 2% y la clorhexidina en 12 horas en cepas de candida Albicans



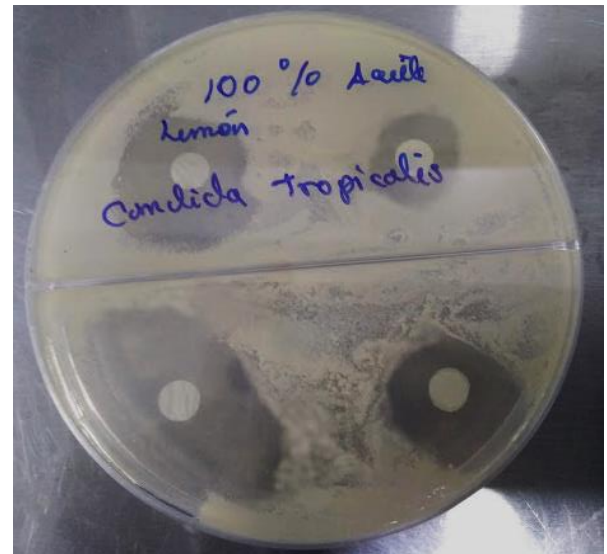
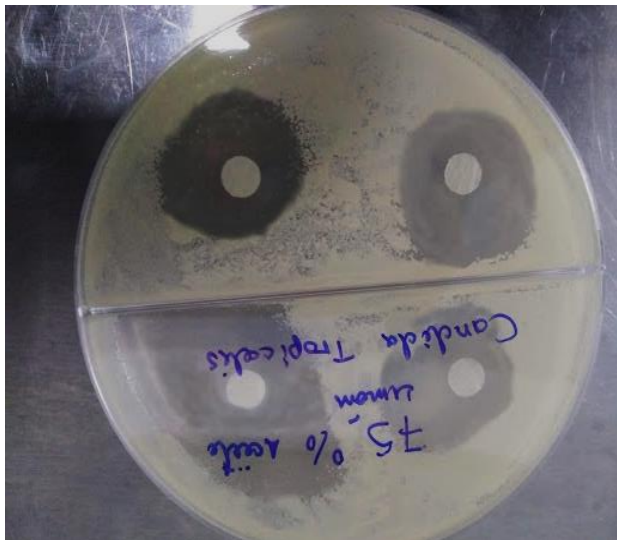
Halos de inhibición del aceite Aurantifolia (limón) del 50%, 75% y 100% del fluconazol al 2% y clorhexidina en 24 horas. en cepas de candida Albicans.



Halos de inhibición de las concentraciones 10%, 25%, 50%, 75% y 100% del aceite Aurantifolia (limón) en 12 horas .de las cepas candida Tropicalis



Halos de inhibición del fluconazol al 2% y la clorhexidina en 12 horas en cepas de candida Tropicalis.



Halos de inhibición del aceite Aurantifolia (limón) del 50%, 75% y 100% del fluconazol al 2% y clorhexidina en 24 horas en cepas de candida Tropicalis