



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGÍA

TESIS

EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) SOBRE CEPAS DE
CANDIDA ALBICANS AISLADAS, AREQUIPA 2018

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO DENTISTA

PRESENTADO POR:

BACHILLER VICENTE ANTHONY ARANIBAR QUIROZ

ASESOR:

MG. HUBER SANTOS SALINAS PINTO

AREQUIPA, PERÚ

ENERO 2019

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a los seres que más amo en este mundo: Mis padres, Vicente Aranibar Vilca y Danitza Quiroz Budiel, por ser la fuente de mi inspiración y motivación para superarme cada día más, ellos han dado razón a mi vida, por sus consejos, su apoyo incondicional y su paciencia, todo lo que hoy soy es gracias a ellos.

Dedico también este éxito académico a mis hermanos: Luisa Aranibar Quiroz, Marco Miranda y a mi sobrino amado Thiago Vicente Miranda Aranibar, y los motivó a tener una visión de éxito mediante el estudio continuo.

A mi Rosa Flor Sonco Mayta, mi motivo, mi compañera y mi apoyo en toda mi vida.

A una persona especial mi tío: Mario Pamo Caytano, que me ayudo en los mejores momentos de mi formación profesional.

A toda mi familia que es lo mejor y más valioso que Dios me ha dado

AGRADECIMIENTOS

A Dios, Por brindarme todo en esta vida, ya que gracias a él he llegado hasta esta etapa profesional.

Agradezco a ésta, mi casa de estudios, y a todos mis docentes por brindarme todos los conocimientos y valores que han inculcado en mí.

Al Dr. Huber Salinas Pinto, por haber estado desde el inicio predispuesto a ayudarme y orientarme para llevar a cabo correctamente el proyecto de investigación.

Al Dr. Xavier Sacca, por su generosa disponibilidad para resolver mis dudas, por su gran dedicación y por ser un gran educador al estar comprometido con sus alumnos.

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña), en diferentes concentraciones, sobre cepas de *Candida albicans* aisladas; cabe mencionar que éste hongo genera una serie de patologías en la cavidad oral que se constituyen en un problema de salud pública; así mismo, el estudio sobre el uso de productos naturales, como lo son los aceites esenciales, para el tratamiento de diversas afecciones en boca es muy limitado.

Para llevar a cabo el trabajo, se seleccionaron cepas de *Candida albicans* certificadas que reunieran los criterios de selección propuestos en el trabajo. Se realizaron siembras de colonias de *Candida albicans* en 5 placas Petri las cuales tenían el medio (agar saboraud), luego se disolvió el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) con dimetil sulfoxido a concentraciones de 25%, 50% y 100% para comprobar su eficacia antimicótica, se colocaron discos de cada concentración en las placas y un disco prueba control de clorhexidina al 2%, se observaron los resultados a las 24, 48 y 72 horas y se anotaron en una ficha siguiendo los protocolos necesarios.

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 *Minthostachys mollis* (Muña) a concentraciones de (25%, 50% y 100%) demostraron tener algún efecto antimicótico sobre *Candida albicans*, también se comprobó que el efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% es la mejor y es igual de efectivo que la clorhexidina al 2%, a las 24 y 48 horas de su aplicación, mientras que a las 72 horas fue la clorhexidina quien obtuvo la mejor eficacia antimicótica sobre las cepas de *Candida albicans*.

Palabras Clave:

Antimicótico. Aceite Esencial. *Minthostachys mollis*. *Candida albicans*

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the antifungal effect of the essential oil of *Minthostachys mollis* (muña), in different concentrations, on strains of isolated candida albicans; It should be mentioned that this fungus generates a series of pathologies in the oral cavity that constitute a public health problem; likewise, the study on the use of natural products, such as essential oils, for the treatment of various conditions in the mouth is very limited

To carry out the work, certified candida albicans strains that met the selection criteria proposed in the work were selected. Sows of colonies of candida albicans were made in 5 Petri plates which had the medium (flavored agar), then the essential oil of *Minthostachys mollis* (muña) was dissolved with dimethyl sulfoxide at concentrations of 25%, 50% and 100% to check its antifungal efficacy, discs of each concentration were placed on the plates and a disc tested control of 2% chlorhexidine, the results were observed at 24, 48 and 72 hours and were recorded on a card following the necessary protocols.

The study corresponded to a type of experimental research, adjusting the design to the laboratorial, longitudinal, prospective and comparative schemes.

The obtained results allow us to demonstrate that the essential oil of *Minthostachys mollis* (Muña) at concentrations of (25%, 50% and 100%) showed to have some antifungal effect on candida albicans, also it was proved that the antifungal effect of the essential oil of minthostachys 100% mollis is the best and is as effective as chlorhexidine at 2%, at 24 and 48 hours after its application, while at 72 hours it was chlorhexidine that obtained the best antifungal efficacy on the strains of candida albicans .

Keywords

Antifungal. Essential oil. *Minthostachys mollis*. *Candida albicans*.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN	III
ABSTRACT	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICOS	IX
INTRODUCCIÓN	X
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3.1. Objetivo General	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.4.1. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.4.2. VIABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN	5
1.5. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS:.....	7
2.2 BASES TEÓRICAS	11
2.2.1. Plantas Medicinales:.....	11
2.2.1.1. Principio Activo de las Plantas Medicinales	11
2.2.1.2. Definición	11
2.2.1.3. Composición	12
2.2.1.4. Propiedades Físicas	13
2.2.1.5. Composición Química.....	13
2.2.1.6. Localización de los Aceites Esenciales en las Plantas	14
2.2.1.7. Función de los Aceites Esenciales en la Planta	14
2.2.1.8. Influencia de los Factores Externos en la Producción de Aceites Esenciales	15
2.2.1.9. Actividad Antimicrobiana de los Aceites Esenciales.....	15

2.2.1.10. Mecanismo de acción del Aceite Esencial sobre los Microorganismos.....	15
2.2.1.11. Extracción del Aceite Esencial	16
2.2.2. <i>Minthostachys mollis</i> (MUÑA)	17
2.2.2.1. Definición.....	17
2.2.2.2. Clasificación Sistemática.....	18
2.2.2.3. Tipos de <i>Minthostachys</i>	18
2.2.2.4. Moléculas presentes en <i>Minthostachys mollis</i> ⁽³³⁾	19
2.2.2.5. Composición nutritiva de <i>Minthostachys mollis</i>	20
2.2.2.6. Usos y aplicaciones de la especie <i>Minthostachys mollis</i>	21
2.2.3. Candidiasis Bucal	23
2.2.3.1. Etiología.	23
2.2.3.2. Microorganismos.	23
2.2.3.3. Signos y síntomas.....	25
2.2.3.4. Tipos de candidiasis	25
2.2.3.5. Factores riesgo.	28
2.2.3.6. Cultivo y raspado para identificar <i>Candida</i> spp.....	29
2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	30
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN	31
3.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS	31
3.2. VARIABLES; DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL	31
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	33
4.1. DISEÑO METODOLÓGICO	33
4.1.1. Tipo de Investigación	33
4.2. DISEÑO MUESTRAL	34
4.2.1. Criterios de Inclusión.....	34
4.2.2. Criterios de Exclusión	34
4.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	34
Procedimientos para la recolección de datos.....	35
4.5 TÉCNICAS ESTADÍSTICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	36
4.5.1. Plan de Tabulación, Procesamiento y Presentación de los Datos: ..	36
4.5.2. Análisis de los Datos:.....	36

4.6. ASPECTOS ÉTICOS.....	37
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	38
5.2. ANÁLISIS INFERENCIAL:.....	52
5.3. COMPROBACIÓN DE LAS HIPÓTESIS:.....	54
5.4. DISCUSIÓN:	56
FUENTES DE INFORMACIÓN	61
ANEXOS	69
ANEXO N° 01: FICHA DE OBSERVACIÓN LABORATORIAL.....	70
ANEXO N° 02:_MATRIZ DE DATOS	71
ANEXO N° 03: DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA.....	72
ANEXO N° 04: CERTIFICADO DE CEPA.....	78
ANEXO N° 05:_SECUENCIA DE FOTOGRAFÍAS	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 25% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	38
Tabla N° 2: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 50% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	40
Tabla N° 3: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 100% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	42
Tabla N° 4: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	44
Tabla N° 5: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 24 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA	46
Tabla N° 6: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 48 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA	48
Tabla N° 7: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 72 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA	50
TABLA N° 8 :PRUEBA DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EVALUAR EL COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE LA MUÑA, EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA SOBRE CANDIDA ALBICANS.....	52
TABLAN°9 :PRUEBA ANÁLISIS DE VARIANZA PARA COMPARAR LA EFICACIA ANTIMICÓTICA ENTRE LA MUÑA, EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS A LAS 24, 48 Y 72 HORAS.....	53

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO N° 1: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 25% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	39
GRAFICO N° 2: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 50% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	41
GRAFICO N° 3: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 100% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	43
GRAFICO N° 4: COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS	45
GRAFICO N° 5: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 24 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA	47
GRAFICO N° 6: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 48 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA.....	49
GRAFICO N° 7: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 72 HORAS DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA.....	51

INTRODUCCIÓN

La candidiasis oral, es provocada por el agente patógeno *Candida albicans* en la mayoría de las veces, este microorganismo forma parte de la microflora normal del ser humano, este hongo prolifera y se desarrolla cuando el individuo presenta problemas sistémicos y disminución de células del sistema inmune, además de factores exógenos como la falta de higiene de las prótesis lo cual contribuye a desarrollar dicha patología.

La candidiasis oral presenta como característica particular un punteado de color blanco cremoso o amarillento en la mucosa bucal. Las lesiones se encuentran ligeramente elevadas, asintomática; puede aparecer en la lengua, encías, en las paredes laterales o superiores de la boca y en la pared posterior de la garganta. Cuando esta infección es suficientemente intensa, aparecen grandes placas de color blanco. Debajo de este material blanquecino se presenta enrojecimiento que puede sangrar y las lesiones pueden aumentar lentamente en número y tamaño.

Si bien es cierto, actualmente hay fármacos que tratan la candidiasis oral, estos pueden generar en algunos casos, efectos adversos, resistencia antimicótica, costo elevado, por lo que usar productos naturales a los cuales se les atribuye acción antimicótica, es una buena opción en el tratamiento de candidiasis oral, el Perú presenta una amplia diversidad de plantas que son de mucha importancia en la medicina tradicional, un ejemplo de ella es el uso de *Minthostachys mollis* (muña) el cual es utilizado para el tratamiento de diferentes dolencias como de las vías estomacales, respiratorias, y muchas otras afecciones presentes, esta planta habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía peruana donde se encuentra en una muy buena proporción.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La cavidad bucal es una zona anatómica con importantes funciones en el organismo, constituye la mayor parte del aparato estomatognático y está sujeta a infecciones micóticas, principalmente producidas por *Candida albicans*. En el ser humano esta levadura se halla formando parte de la microbiota normal de la cavidad oral (lengua, paladar y mucosa oral), tubo digestivo, vagina, tracto respiratorio y piel. Existen factores locales y sistémicos que favorecen su crecimiento y sobrecolonización en la mucosa oral produciendo la candidiasis

La candidiasis, micosis causada por diversas especies de levaduras del género *Candida*, correspondientes a un grupo de hongos identificados con más de 100 especies cada uno con la capacidad de afectar al ser humano. Los microorganismos de este género constituyen los marcadores de inmunosupresión etiológica por excelencia, ya sea por diversos factores predisponentes, por tal motivo en la actualidad se vienen registrando un aumento significativo y muy considerable de las infecciones producidas por levaduras, es por eso que la presencia de *Candida albicans* en cavidad bucal oscila y se encuentra frecuentemente en un 20% - 70%.

Cualquier tejido y órgano puede ser afectado porque se presentan diferentes cuadros clínicos, cada uno de ellos asociado directamente al estado inmunológico de la persona. *Candida albicans* es la especie con mayor implicancia, siendo este inocuo, que puede pasar de comensal a patógeno dependiendo de diversas condiciones del hospedero, hongo y demás factores que alteren el microambiente predisponente.

Si bien es cierto que hay fármacos que tratan la candidiasis, estos pueden generar en algunos casos, efectos adversos en su uso, resistencia fúngica, costo elevado para su aplicación, por lo que usar productos

naturales que se le atribuye acción antimicótica es una opción en la terapéutica para el tratamiento de candidiasis.

El Perú presenta una riqueza y megadiversidad de plantas medicinales nativas, que es uno de los pilares de la etnofarmacología y la medicina tradicional, desde la época del incanato hasta la actualidad. Siendo estas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud

Dentro de este contexto, los aceites esenciales (AE) son productos naturales de gran valor e importancia económica. La bioactividad de los AE se investiga a partir de los efectos farmacológicos que son producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por diferentes técnicas fisicoquímicas a partir de las hojas.

Actualmente se emplean plantas medicinales para combatir ciertas enfermedades, como es el uso de la “muña” *Minthostachys mollis*, planta oriunda de la sierra del Perú, su uso ampliamente difundido en diversas regiones del país, se debe por poseer propiedades curativas, las cuales atribuyen a sus componentes, entre los cuales destaca el aceite esencial, el cual actúa dependiendo del tipo de microorganismo y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos, además que interferirían en la fase de metabolismo intermedio de los microorganismos inactivan enzimas de reacción.

La muña es una de las pocas plantas que han validado su uso en la medicina tradicional debido a sus diferentes propiedades presentes (principios activos) el cual es utilizado para el tratamiento de diferentes dolencias como de las vías estomacales, respiratorias, y muchas otras afecciones presentes, esta planta habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía peruana donde se encuentra en una muy buena proporción. Razones sobran para maximizar el uso y aprovechamiento de nuestro recurso natural ya que diversos estudios demuestran su efecto antibacteriano sin embargo, poco se conoce y se ha explorado sobre su capacidad antimicótica y menos aún aplicado en pacientes con afecciones presentes o inmunocomprometidos.

La *Minthostachys mollis* (muña) que crece entre los 2500 y 3500 msnm en la sierra del Perú, tiene una variedad de propiedades usadas en la medicina tradicional. Es usado como digestivo, antihelmíntico, antidiarreico y en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio y urinario. Además, se ha demostrado su efecto antibacteriano.

Demostrar la eficacia antimicótica de la “muña”, podría ser de interés y constituir una nueva alternativa terapéutica, de menor costo y mayor eficacia.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Será efectivo como antimicótico el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepas de *Candida albicans*?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo General

Determinar la eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepas *Candida albicans* aisladas, Arequipa, 2018.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) a las concentraciones de 25%, 50% y 100% sobre cepas de *Candida albicans*.
- Determinar la eficacia antimicótica de la prueba control clorhexidina al 2% sobre cepas de *Candida albicans*.
- Comparar la eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) a distintas concentraciones y tiempos, con una prueba control de clorhexidina al 2%.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

El aumento de microorganismos con una resistencia impresionante, las interacciones medicamentosas y la alta toxicidad de antimicóticos, ha impulsado a la identificación y el estudio de nuevas alternativas terapéuticas naturales contra estos patógenos oportunistas, como es el caso de *Candida albicans*.

El Perú presenta una riqueza y megadiversidad de plantas medicinales nativas sin embargo no todas tienen un aval científico, por ello se insta a determinar la acción inhibidora de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre una cepa de *Candida albicans*.

Por lo tanto el presente estudio es conveniente ya que servirá para determinar la acción antimicótica in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas *Candida albicans*, y así ser una guía de fácil acceso para tratar estos gérmenes, teniendo en cuenta que esta planta es muy accesible.

La importancia del trabajo de investigación nos brindará información de los efectos antimicótico de *Minthostachys mollis* (muña) frente a diversos patógenos, en especial frente a *Candida albicans* también ayudará a permitir de esta manera incrementar los conocimientos de profesionales en Odontología sobre formas farmacéuticas elaboradas a base de plantas medicinales propias de nuestra biodiversidad generando alternativas de tratamiento para la mencionada afección.

La importancia práctica se basa en la formulación de un aceite el cual podrá ser accesible a la población vulnerable de la candidiasis oral y así mismo disminuir el uso de fármacos.

Por otra parte en cuanto a su alcance, esta investigación abrirá nuevos caminos para estudios que permitirá contar con información para que los investigadores interesados en el tema dirijan sus decisiones hacia la mejora de su investigación

1.4.2. VIABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación es viable porque se cuenta con todos los recursos.

RECURSOS

A. HUMANOS:

- Investigador : Bachiller Vicente Anthony Aranibar Quiroz
- Asesor : Huber Santos Salinas Pinto
- Colaboradores : Dr. Xavier Sacca Urday

B. FINANCIEROS:

La presente investigación, fue financiada en su totalidad por el investigador

C. MATERIALES:

- Guantes estériles
- Mandil
- Mascarilla facial
- Gorro descartable
- Incubadora
- Dimetil Sulfoxido
- Clorhexidina al 2%
- Discos de papel absorbente
- Pipeta
- Frascos Estériles
- Agar saburou
- Cepa de *Candida albicans* certificada numero: ATCC 10231
- Hisopos
- Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) al 100%, registro sanitario C0001221 N-NAASSA, de la marca TERRA AMAZONAS lote 108047.

- Placas petri estériles
- Fotografías
- Cámara digital
- Laptop

D. INSTITUCIONALES:

- Universidad Alas Peruanas
- LABORATORIO: Universidad Nacional de San Agustín

1.5. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Dentro de las limitaciones del proyecto se podrá observar la poca disponibilidad de información sobre la especie en estudio, así también que no existe literatura científica suficiente del efecto antimicótico de la *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas *Candida albicans*. Otra limitación que puede presentarse en el trayecto, son la falta de tiempo de 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 INVESTIGATIVOS:

A) ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Castillo Andamayo, Diana Esmeralda. **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL GEL DE SATUREJA BREVICALLYX EPLING “INCA MUÑA” FRENTE A CANDIDA SPP.**

DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS. (2017). Al evaluar los halos de inhibición de aquellas cepas expuestas al gel de Satureja brevicalyx Epling “Inca muña” se encontró diversos valores; *Candida glabrata*, 25.50 mm en prótesis total y 30.14 mm en prótesis parcial removible metálica, seguido *Candida guilliermondi* con 20.50 mm en prótesis total y *Candida no albicans* con 27 mm en prótesis parcial removible metálica. Se concluyó que la especie Satureja brevicalyx Epling “Inca muña” tiene efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondi* y *Cándida no albicans*.⁽¹⁾

De Almeida, F *Et Al*, **ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DEL CINNAMOMUN CASSIA (CANELA) FRENTE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADO DE PACIENTES HIV-POSITIVO Y CEPAS ATCC 76485.** Brazil (2012). Se realizaron aceites esenciales en concentraciones entre 1024 ug/mL y 4 ug/mL que fueron comparadas con miconazol, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) usando la técnica de dilución. Se concluyó que al igual que el miconazol el aceite tuvo actividad antifúngica con un CMI entre 128 a 64 ug/mL.⁽²⁾

Bakhshi M. *Et Al* **COMPARACIÓN EL EFECTO ANTIFÚNGICO DE UN ENJUAGUE DE NISTATINA CON EXTRACTO ACUOSO DE AJOS EN PACIENTES CON ESTOMATITIS.** Brazil (2012) Realizaron un ensayo clínico doble ciego, se dividieron los pacientes en dos grupos, aquellos que utilizaron nistatina fue en dosis de 100, 000 u/mL

(20 gotas en cada momento del día) en suspensión, y la solución de ajo fue en concentración de 40mg/mL, ambas fueron utilizadas tres veces al día por 60 segundos; se le solicitó a los pacientes que usen su prótesis luego del enjuague evitando ingerir alimento por una hora durante 4 semanas. En los resultados se obtuvo cambios en la longitud y ancho del eritema. ⁽³⁾

Flores **EVALUACIÓN DEL PERFIL BIOLÓGICO ANTIMICROBIANO IN VITRO DE ACEITES ESENCIALES DE ESPECIES VEGETALES AROMÁTICAS.** Ecuador (1999). El aceite esencial de *Citrus paradisi* “toronja” fue obtenido mediante destilación por arrastre de vapor de agua, para ello utilizó 1 kg del material vegetal y se obtuvo un rendimiento del 0,20 %. Evaluó la actividad bactericida y antifúngica del aceite esencial de toronja mediante la técnica de difusión en agar, encontrando inhibición del crecimiento del hongo saprófito *Neurospora crassa* y de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 1mg/mL. El aceite esencial de *C. paradisi* al 1,0 mg/mL no demostró actividad antifúngica contra *Candida albicans*. ⁽⁴⁾

Krajewska **ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO DE TORONJA SOBRE EL CRECIMIENTO DE CANDIDA ALBICANS.** Inglaterra (2001) El material utilizado en esta investigación fue la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, 200 cepas de *Candida albicans*, 5 cepas de *Candida sp.* aisladas de pacientes con síntomas de candidiasis y 12 de dermatofitos y mohos aislados de pacientes. La susceptibilidad de la *Candida* fue determinada por el método de dilución en serie. Concluyó que el extracto de toronja al 33 % ejerce una potente actividad antifúngica sobre cepas de hongos levaduriformes y tiene una baja actividad sobre dermatofitos y mohos ⁽⁵⁾

Soares M. et al. **ACCIÓN ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HIERBA LUISA CONTRA LEVADURAS Y HONGOS FILAMENTOSOS.** Portugal (2013) Se utilizó discos de difusión y se concluyó que esta planta tiene una potente acción sobre hongos,

especialmente sobre *Candida albicans* (halo >40 mm con 8 ul de aceite esencial) (95% significancia).⁽⁶⁾

Almeida Et Al. **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITE ESENCIAL DE CYMBOPOGON CITRATUS EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS SPP.** Brasil, (2013) El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* mostró actividad fungistática de las cepas de *Candida spp.* Con una concentración inhibitoria mínima de 0,062% hasta para el 70% de las cepas de *Candida albicans* y 100% de las cepas de *Candida tropicalis*. Para *Candida glabrata*, 50% de las cepas mostraron susceptibles con una CMI de 0,062% de aceite esencial.⁽⁷⁾

Chamba Pascal. **ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS A BASE DE VEGETALES MEDICINALES CONTRA INFECCIONES OCASIONADAS POR “CANDIDA ALBICANS” EN CAVIDAD ORAL.** Ecuador (2015) Teniendo como objetivo principal evaluar la actividad antimicótica de los aceites esenciales de Orégano y Hierba Luisa contra cepas de *Candida albicans* teniendo como medicamento control a la nistatina y así identificar su capacidad inhibitoria. Se observó que a mayor concentración tanto del aceite esencial de Hierba Luisa como del orégano presentan mayor acción inhibitoria frente a cepas de *Candida albicans*.⁽⁸⁾

B) ANTECEDENTES NACIONALES

Baca Melo, Cynthia Madeleine. **EFFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE ESENCIAL “MUÑA” MITHOSTACHYS MOLLIS SOBRE EL GÉNERO PROTEUS, CAUSANTES DE INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO.** Puno (2017) Se tuvo como resultado que la concentración mínima inhibitoria para *Proteus vulgaris* es a partir del 50 % (50 mg/ml) con un halo de inhibición de 11.90 mm, mientras que en *Proteus mirabilis* la concentración mínima inhibitoria fue a partir de 75 % (75 mg/ml) con un halo de 7.37 mm, *P. rettgeri* es a partir del 75 % (75 mg/ml) con un halo de 7.00 mm y para *Proteus morganii* también fue a partir del 75 % (75 mg/ml) con un halo de 6.90mm. Con respecto

a las concentraciones y dimensiones de los halos es notoria la diferencia en la sensibilidad obtenida entre *Proteus vulgaris* y *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Proteus morgani*, por ello se considera que estadísticamente es significativa. El aceite esencial de “muña” *Minthostachys mollis* a la concentración del 50 % (50 mg/ml) en *P. vulgaris* tuvo un efecto inhibitorio de 59.5 %, para *P. mirabilis*, *P. morgani* y *P. rettgeri* a la concentración de 75 % (75 mg/ml), tuvo un efecto inhibitorio de: 40.9 %, 38.8 % y 38.3 % respectivamente, mientras que el antibiótico control Vancomicina mostró un efecto inhibitorio del 100 %.⁽⁹⁾

Cano Carlos, Bonilla Pablo, Roque Mirtha, Ruiz Julio. **ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO Y METABOLITOS DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA)**. Lima (2007) Se encontraron los siguientes monoterpenos: pulegona, mentona, limoneno y mirceno. El aceite esencial de muña inhibió completamente el desarrollo de *T. tonsurasn*, *T. mentagrophytes* y *M. canis* con ambos métodos de evaluación y dosis, para *C. albicans* se logró un halo de inhibición de 30 mm para el aceite esencial al 100% y de 35 mm al 50%. Conclusiones. Se demostró la actividad antimicótica del aceite esencial de muña, probablemente por la acción de los monoterpenos encontrados. ⁽¹⁰⁾

Alaba Castañeda Wesley. **EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) SOBRE COLONIAS DE ENTEROCOCCUS FAECALIS ATCC 29212**. Lima (2007) Se evaluó la susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o Kirby-Bauer. Se utilizaron 7 placas Petri con agar Muller-Hinton donde se sembraron las cepas del *E. faecalis* y se colocaron los discos con el IKI al 2 % o con el aceite esencial de muña al 100% y en dilución etanólica al 50 %. Las placas se incubaron a 37°C en estufa, se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 24, 48 y 72 horas utilizando una regla milimetrada. A las 24 horas todos los discos produjeron un halo de inhibición, donde

el mayor registrado fue el del aceite esencial al 100%, y el de menor promedio fue el del IKI al 2 % los halos disminuyeron de tamaño en la lectura a las 72 horas. ⁽¹¹⁾

C) ANTECEDENTES LOCALES

No se encontraron

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1. Plantas Medicinales:

2.2.1.1. Principio Activo de las Plantas Medicinales

Thompson refiere que el valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química – principio activo – que produce un efecto fisiológico. Mucho de los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros 24 han sido purificados, sintetizados o imitados. Por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas. ⁽¹²⁾

2.2.1.2. Definición

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias volátiles con propiedades aromáticas, extraídos de plantas, en su mayoría por destilación; son generalmente líquidos y rara vez sólidos. ⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾. Son el producto final del metabolismo secundario de muchas células vegetales, por lo que no se reintegran al metabolismo celular. ⁽¹⁶⁾

Augusto ⁽¹⁷⁾ define a los aceites esenciales como aquellas sustancias caracterizadas por su volatilidad, formadas por agrupaciones de un gran número de compuestos químicos

aromáticos. Existen en las diferentes partes de las plantas, siendo estas sustancias no miscibles en agua.

Morales ⁽¹⁸⁾ reporta que la mayoría de las esencias están constituidas por un compuesto predominante; pero que no siempre las características de olor y sabor están dadas por el compuesto principal. Otros componentes en menor tasa son importantes y en algunos casos la calidad comercial de ciertas esencias depende de dichos constituyentes

2.2.1.3. Composición

Se considera que los aceites esenciales son químicamente una mezcla compleja y muy variables de hidrocarburos alicíclicos, denominados terpenos y sus derivados oxigenados llamados alcanfores ⁽¹⁹⁾.

La composición de los aceites esenciales es diversa. Están principalmente constituidos por hidrocarburos de fórmula $C_{10}H_{16}$. En la actualidad se refieren a un gran número de hidrocarburos que aparecen en la naturaleza con fórmula (C_5H_8) , sus derivados y compuestos aromáticos. ^{(13) (15)}

Los terpenos por su composición, pueden derivar de la condensación de dos moléculas de Isopreno C_5H_8 . En los mismos aceites esenciales, y en otros productos naturales, aparecen compuestos derivados, análogamente, del Isopreno, de modo que la calificación de terpeno se extiende a todos aquellos, dividiéndolos en hemiterpenos C_5H_8 , terpenos propiamente dichos, sesquiterpenos $C_{15}H_{24}$, diterpenos $C_{20}H_{32}$ y politerpenos (C_5H_8) , siendo un número elevado. ⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾

Los productos derivados de Isoterpenos que tienen oxígeno reciben el nombre de alcanfores, como ejemplo: en los hidrocarburos terpénicos figuran los limonenos, el mirceno, el

pineno. Entre los alcoholes terpénicos más importantes, el geraniol (de las esencias de las rosas), citronelo, etc. ⁽¹³⁾ ⁽¹⁴⁾

2.2.1.4. Propiedades Físicas

- Líquidos a temperatura ambiente (a diferencia de los aceites “fijos”).
- Muy raramente son coloreados.
- En general, su densidad es inferior a la del agua.
- Poseen un índice de refracción elevado.
- Desvían la luz polarizada.
- Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales.
- Arrastrables en vapor de agua (muy poco solubles en ella).
- Punto de ebullición es superior a los 100 °C ⁽²⁰⁾

2.2.1.5. Composición Química

Están constituidos por muchas clases de compuestos químicos, algunos por un solo componente en un alto porcentaje y otros por mezclas complejas de compuestos cíclicos aromáticos, acíclicos, heterocíclicos y derivados oxigenados.

Los constituyentes principales de los aceites esenciales son⁽²¹⁾:

- Hidrocarburos: Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno
- Alcoholes: Isoamílico, geraniol, linalol, citronelol, nerodinol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico
- Fenoles: Timol, carbacrol, eugenol, vainillina
- Aldehídos: Citral, citronelal, anisaldehído, benzaldehído, cinamadehído

- Cetonas: Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona
- Éteres: Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol
- Ésteres: Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo

2.2.1.6. Localización de los Aceites Esenciales en las Plantas

Según Miller ⁽²²⁾ 2000 especies de plantas producen aceites esenciales. Las especies que proporcionan mayor cantidad de aceites esenciales pertenecen a las Familias Labiadas, Umbelíferas Compuestas, Mirtáceas, Laureáceas, Rutáceas y Pináceas. Los aceites esenciales se hallan en regiones circunscritas de la planta como son: raíz, tallos hojas; son segregados por estructuras especializadas como los pelos glandulares, cavidades esquizógenas, etc.

2.2.1.7. Función de los Aceites Esenciales en la Planta

Meyer ⁽²³⁾ informa que no se conoce exactamente la importancia bioquímica que desempeñan los aceites esenciales en las plantas. Probablemente deben considerarse como productos accesorios del metabolismo, es probable que tengan un papel ecológico. Sin embargo; otros estudios han demostrado que los aceites esenciales regulan la transpiración, especialmente al alterar o modificar la actividad calorífica y la presión osmótica, manifiesta que los aceites esenciales son secreciones patológicas como la resina, el bálsamo, etc., sirviendo a la planta como sustancias protectoras contra las enfermedades de los órganos dañados.⁽²⁴⁾

2.2.1.8. Influencia de los Factores Externos en la Producción de Aceites Esenciales

Diversas investigaciones estudiaron el tipo de influencia de los factores externos y su relación con los aceites esenciales, concluyendo que la luz, el suelo, el clima, la velocidad del viento, etc. determinan su producción.^{(12)(25)(26).}

2.2.1.9. Actividad Antimicrobiana de los Aceites Esenciales

Los aceites esenciales, compuestos extraídos de varios tipos de plantas y usados para preservar alimentos y bebidas, tienen un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de microorganismos. En su estudio Walton y col. demostró que el extracto destilado del ajo tiene efectos bactericidas y bacteriostáticos. Se conoce de la actividad antimicrobiana de varias especies vegetales en forma de extractos o hierbas aromáticas en los alimentos, inhiben la formación vegetativa de esporas, detienen el crecimiento de elementos patógenos y levaduras.⁽²⁰⁾

2.2.1.10. Mecanismo de acción del Aceite Esencial sobre los Microorganismos

Este mecanismo de acción hacia los microorganismos es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado. El modo de acción de los aceites esenciales también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos.⁽²⁷⁾ Kakrani y col. establecieron, in vitro, la actividad antimicrobiana, antiparasitaria y antimicótica de los aceites esenciales de *Aglaodoratissima*. Las investigaciones plantean que los aceites esenciales interferirían la fase del metabolismo intermedio de los microorganismos inactivando enzimas de reacción.⁽²⁸⁾

2.2.1.11. Extracción del Aceite Esencial

Para obtener la fracción cromática del material vegetal, a lo largo de los años, se usaron diferentes procesos. Motle ⁽²⁹⁾ en su estudio consideraba los siguientes métodos:

- Extracción por expresión
- Extracción por solución con grasas sólidas y frías con grasas líquidas y calientes con solventes volátiles.
- Extracción por destilación con agua caliente.
- Extracción por arrastre de vapor.

a. Extracción por Destilación por Arrastre de Vapor

Esta técnica resulta una de las más simples y económicas para obtener el aceite esencial de este tipo de planta y en general para cualquier otro. Las ventajas de este método son su simplicidad, bajo costo y el hecho de poder maniobrar grandes volúmenes de materia prima. Este método se fundamenta en que los aceites esenciales son arrastrados por la corriente de vapor de agua que se genera en la fuente de vapor, luego esta mezcla (vapor de agua y aceite) es condensada mediante su paso por un refrigerante de vidrio, para luego separar el aceite del agua por simple diferencia de densidades. La destilación es una operación farmacéutica que tiene por finalidad separar los principios volátiles (contenidos en una mezcla compleja) de los que no lo son. El equipo de destilación está compuesto por un sistema de destilación de doble balón, en el cual solo uno de los balones que contiene agua, es sometido al calor directo; mientras que el segundo balón que contiene la planta licuada recibe los vapores de agua, para luego liberar el vapor mixto (agua-aceite esencial) hacia el condensador.⁽³⁰⁾

El método involucra los siguientes pasos:⁽³⁰⁾

- Selección de las hojas, talluelos y flores en buen estado.
- Las hojas se pesan y licúan, para lo cual se utiliza una pequeña cantidad de agua destilada, éste luego se deposita en el segundo balón de destilación.
- Se activará el sistema al someter a calor directo (mechero de Bunsen) el balón de agua destilada
- El destilado se recibe en un depósito estéril y cerrado, aquí se observa un estado difásico entre agua y aceite esencial, debido a la diferencia de densidades. Esto permite separar el aceite esencial mediante el uso de pipeta Pasteur a viales estériles.
- Los aceites esenciales obtenidos luego son esterilizados por filtración con membrana de Millipore de 0.22 um; almacenado a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

2.2.2. *Minthostachys mollis* (MUÑA)

2.2.2.1. Definición

Se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymará tiene dos nombres: “Coa” y “Huaycha”. Debido a sus características semejantes al póleo y orégano, los españoles la denominaban póleo silvestre. Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: "muña negra", "polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon" "orccomuña". (31)(32)

La muña es un recurso natural que tiene un plano altitudinal de crecimiento entre los 2500 – 3500 m.s.n.m. Habita entre los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, comportándose como tal; existe en gran abundancia. Así como es una planta hemicriptófila que durante la época más

fría del invierno y seco desaparecen sus órganos aéreos para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera. Alcanza una altura de 0.80 a 1.50m, desarrollándose en forma difusa y muy ramificada, crece en lugares cercanos a acequias, manantiales sin tener grandes requerimientos de agua. Se desarrolla en suelos arenosos, ricos en materia orgánica, bien drenados, con buena retención de humedad, con un pH entre 5-8 y un clima con elevada luminosidad, florece en época de lluvia, se multiplica por semilla y por codo.⁽¹⁸⁾.

2.2.2.2. Clasificación Sistemática

- Reino : Vegetal
- Sub reino : Embryophyta
- División : Magnoliophyta
- Clase : Magnoliopsida
- Subclase : Methachlamydeae
- Orden : Tubiflorae
- Familia : lamiaceae (labiatae)
- Género : Minthostachys
- Especie : Minthostachys mollis (Spach) Griseb
- Nombre vulgar : “Muña”

2.2.2.3. Tipos de Minthostachys

Se indica un total de 12 especies, cuya distribución abarca desde Argentina hasta Venezuela y en el Perú encontraron 6 especies distribuidas desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cusco), con una mayor distribución en la región central, cuyas especies son: (34.35)

- Minthostachys glabrenscens
- Minthostachys salicifolia
- Minthostachys setosa
- Minthostachys spicata

- *Minthostachys tomentosa*
- *Minthostachys mollis* (HBK) griseb

2.2.2.4. Moléculas presentes en *Minthostachys mollis*⁽³³⁾

La composición de la muña es: aceite esencial, glicósidos, mucílagos, saponinas, taninos, alcaloides y esteroides. Además contiene carbohidratos, calcio, fósforo, hierro, trazas de vitamina B1, esencias y mentol. ⁽³³⁾

Pulegona: Es uno de los componentes más importantes de muchos aceites *Minthostachys*, pero es mejor conocido por poleo (*Mentha pulegium*). Es altamente tóxico en grandes cantidades, daña el hígado y puede provocar el aborto. Su toxicidad probablemente explica algunos de los efectos de aceite de *Minthostachys* contra las plagas y parásitos. La sustancia también se usa en perfumería y saborizantes. ⁽³³⁾

Mentona: Otro componente importante, junto con la pulegona a menudo representa más del 75 % de la composición del aceite entero. El componente más conocido de la menta (*Mentha piperita*). Tiene un aroma muy agradable sabor a menta y se usa en perfumería, pero también tiene propiedades digestivas. ⁽³³⁾

Carvacrol: Es un componente dominante en menor proporción, según estudios de los aceites *Minthostachys mollis*. El carvacrol también se encuentra en varias hierbas conocidos como el orégano (*Origanum vulgare*), la ajedrea de jardín (*Satureja hortensis*) o tomillo del monte serpolio (*Thymus serpyllum*). ⁽³³⁾

Carvona: Como su nombre lo sugiere es conocida como un producto de semillas de alcaravea (*Carum carvi*), un *Apiaceae*. Tiene propiedades digestivas y se utiliza para dar sabor. ⁽³³⁾

Mentol: Por lo general, mucho menos importante en *Minthostachys mollis*, pero a veces, se encuentra como componente menor de la mezcla de aceites. Se utiliza contra el dolor de garganta. ⁽³³⁾

Linalol: Empleado como condimento y como insecticida, linalol es más conocido de cilantro (*Coriandrum sativium*) de la familia Apiaceae. A menudo es uno de los componentes menores del aceite de *Minthostachys mollis*. ⁽³³⁾

Timol: Es un componente bien conocido de los aceites esenciales de distintas especies de tomillo. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. A veces se encuentra como un componente menor en el aceite de *Minthostachys mollis*. ⁽³³⁾

2.2.2.5. Composición nutritiva de *Minthostachys mollis*

Componentes mayores:⁽⁵⁶⁾

- Agua 16 ug %
- Proteínas 3.20 ug %
- Grasa 2.80 ug %
- Carbohidratos 66.30 ug %
- Fibras 9.40 ug %
- Cenizas 11.70 ug %

Minerales

- Calcio 2.24 ug %
- Fósforo 269 ug %
- Hierro 22.40 ug %

Vitaminas

- Retinol 306 ug %
- Tiamina 0.35 ug %
- Riboflavina 1.81 ug %

- Niacina 6.85 ug %
- Ac. Ascórbico 21.10 ug %

Otros componentes

- Ácidos débiles 2.54 ug%
- Ésteres 14.02 ug %
- Taninos Positivos
- Resinas Positivos
- Fenoles Positivos
- Alcoholes Positivos
- Aldehídos Positivos
- Cetonas Positivos
- Carbonilo 22.06 ug %
- Mentol 40.42 ug %

2.2.2.6. Usos y aplicaciones de la especie *Minthostachys mollis*

La muña es conocida por la gente del pueblo por sus propiedades digestivas contra cólicos, flatulencias (carminativo), vómitos, diarreas, antitusígenas, antiasmático, expectorante, ⁽⁴²⁾ ⁽³²⁾ antiespasmódico, ⁽³⁹⁾ antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se emplea en fracturas. ⁽²⁷⁾ Es excelente contra la halitosis ⁽³⁴⁾ y para combatir jaquecas y soroche. ⁽⁴²⁾

Además es utilizada como condimento para preparar platos típicos. En el campo agrícola se emplea para la preservación de algunos productos como la papa, del ataque de insectos. ⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³⁴⁾ A manera de fumigante orgánico vegetal contra el gorgojo de los andes y como antimoho. ⁽³⁹⁾

En el campo agropecuario es utilizado para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos,

además para curar sarna en equinos y camélidos. ⁽⁴²⁾ En otras zonas de Latinoamérica, principalmente en Argentina, se le emplea para aromatizar y fabricar licores y bebidas. ⁽⁴³⁾

Se le conoce de tiempos preincaico por sus propiedades medicinales, comestibles y para preservar los tubérculos de plagas durante su almacenamiento. ⁽⁵⁵⁾

Se señala que sus hojas actúan como resolutivas de tumores y en mezcla con clara de huevo la emplearon en fracturas de huesos. Su cocimiento se aplicaba como antiinflamatorio y antirreumático. Su cocimiento con miel limpia la flema en el pecho y llagas del pulmón, riñones, vejiga. Lastres la definía como febrífugo. Valdizán y Maldonado la definen como carminativa. ⁽⁵⁵⁾

La muña se emplea en infusión para curar cólicos de gases, diarreas, tiene acción carminativa, para curar heridas y tumores, úlceras, sarna y rasca - rasca, el pie de atleta y además por limpiar la flema del pecho (expectorante). Además, por sus propiedades aromáticas se emplea como un condimento en muchos platos típicos de la sierra central en especial la llamada sopa verde en Junín. El género *Minthostachys* es utilizado por el campesino de los Andes Peruanos para preservar la papa y otros tubérculos menores contra el ataque de insectos en condiciones de almacenamiento, esto deja entrever que se trata de una planta con singulares propiedades, se considera que esta planta permitió en épocas prehispánicas; conservar en perfectas condiciones los alimentos de origen vegetal. ⁽⁵⁵⁾

2.2.3. Candidiasis Bucal

2.2.3.1. Etiología.

La candidiasis es una enfermedad causada por las diferentes especies del género *Candida spp*, destacándose la *Candida albicans* como la especie más frecuente. El género *Candida spp* normalmente vive como comensal inofensivo y colonizan varios hábitats en los humanos como son: la piel, el estómago, el colon, genitales femeninos, la boca y garganta. La especie de *Candida spp* que más a menudo se asocia con lesiones en la mucosa bucal es *Candida albicans*, la cual altera los niveles de proteínas antimicrobianas como lactoferrina, sialoperoxidasa, lisozimas, polipéptidos y anti cuerpos. Ocasionando el crecimiento de *Candida albicans*.⁽⁴⁴⁾

2.2.3.2. Microorganismos.

La candidiasis es ocasionada por un microorganismo levaduriforme llamado *Candida spp*. Las especies aisladas relacionadas son *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida rugosa*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida parakrusei*, *Candida zeylanoides*, *Candida stellatoidea*, *Candida brumptii*⁽⁴⁵⁾

La *Candida albicans* es un microorganismo comensal que vive en la cavidad bucal de la mayoría de las personas saludables. Para que este microorganismo pase de estado comensal a patógeno se relaciona con los factores locales y sistémicos muy difíciles de crear en condiciones experimentales. El microorganismo es una levadura unicelular de la familia Criptococácea y puede existir en tres formas biológicas y morfológicas distintas (levaduras, blastoconidias, pseudomicelios) las formas vegetativa o levadura, de células ovales (blastoconidias) que miden 1.5 a 5 micras de diámetro,

la forma celular alargada (pseudomicelios) que miden 7 a 17 micras de diámetro encerrados en una pared gruesa y refringente. Este microorganismo persiste en la boca en su estado vegetativo, lo cual se debe en parte a su relación simbiótica con *Lactobacillus acidophilus*. La patogenicidad de *Candida albicans* es débil según lo manifiesta su frecuencia en la población general, que refleja la necesidad de factores predisponentes locales o sistémicos para causar enfermedad.⁽⁴⁶⁾

Candida dubliniensis es una de las especies principalmente asociada a la infección en la cavidad bucal, en pacientes infectados con el Virus de Inmunodeficiencia humana (VIH). Pero ha sido reportada en otras localizaciones anatómicas, de individuos sanos y en casos de infecciones sistémicas. Se presenta en pacientes portadores de prótesis removible que tienen estomatitis subprotésica principalmente localizada en el paladar. *Candida dubliniensis* es una especie que presenta una gran similitud fenotípica y genotípica con *Candida albicans*. La diferenciación entre ambas especies se realiza utilizando pruebas que analizan la asimilación de hidratos de carbono, la temperatura de crecimiento, el color de las colonias en CHRO-Magar *Candida spp*, la producción de clamidosporas terminales, las diferencias antigénicas y las diferencias en la secuencia de ADN. Utilizando una sonda de ADN específica para *Candida dubliniensis*, denominada Cd25, Joly et al. Describieron dos grupos, denominados I y II, en 57 aislamientos independientes de *Candida dubliniensis* procedentes de 11 países.⁽⁴⁷⁾

2.2.3.3. Signos y síntomas.

La candidiasis presenta como característica particular un punteado de color blanco cremoso o amarillento en la mucosa bucal. Las lesiones se encuentran ligeramente elevadas, asintomática; puede aparecer en la lengua, encías, en las paredes laterales o superiores de la boca y en la pared posterior de la garganta. Cuando esta infección es suficientemente intensa, aparecen grandes placas de color blanco. Debajo de este material blanquecino se presenta enrojecimiento que puede sangrar y las lesiones pueden aumentar lentamente en número y tamaño. Si la persona está inmunocomprometida, la infección se puede diseminar a otros órganos como el esófago (causando dolor al deglutir), algunas veces produce dolor en la boca originando queilitis angular y lengua enrojecida que ocasiona quemazón. El uso de diversos medicamentos puede causar un desequilibrio en la microbiota bucal y generar la aparición de *Candida spp*; enfermedades como el SIDA, diabetes, deficiencia de vitamina B, fumar ocasionan mayor proliferación de este hongo. ⁽⁴⁴⁾

2.2.3.4. Tipos de candidiasis

a. Formas agudas

- Forma pseudomembranosa. Es una forma frecuente en niños o en adultos. La forma infantil puede presentarse por una contaminación a través del canal de parto, por el uso de biberones poco limpios. Si la candidiasis es contagiada por el canal de parto hay una posibilidad de aparecer a los 7 días; se caracteriza por la aparición de manchas blancas en toda la boca especialmente en los surcos, lengua, mucosa yugal, paladar, amígdalas. Este tipo de lesión se desprende fácilmente al pasar una

gasa, dejando en la zona que se encontraba una superficie enrojecida ⁽⁸⁾. En los adultos se encuentran características similares que en los niños, pero se diferencia en que puede aparecer después de un tratamiento con antibióticos, corticoides y en pacientes inmunodeprimidos; cuando se presenta este tipo de lesión se debe acudir a consulta médica. Por la presentación de las lesiones puede ser una manifestación inicial de pacientes con SIDA clínicamente se observa manchas blancas en todas la superficie bucal, la zona más frecuente es el paladar⁽⁴⁸⁾.

- Forma eritematosa. Es conocida como lengua dolorosa, cuando una persona recibe un tratamiento con antibiótico, el enfermo sufre una depilación de la mucosa lingual, acompañada de disfagia al presentar una susceptibilidad al ingerir alimentos ácidos, picantes o calientes ⁽⁴⁸⁾.

b. Formas crónicas

- Forma pseudomembranosa: Tiene características similares a la forma aguda diferenciándose por la persistencia del cuadro luego de realizar un tratamiento. ⁽⁴⁸⁾
- Forma eritematosa: Presenta zonas enrojecidas, bien delimitadas que se encuentran a nivel de la mucosa yugal, en la lengua, paladar y son ligeramente dolorosas al tener contacto con los alimentos y puede estar acompañada de formas pseudomembranosa. ⁽⁴⁸⁾
- Forma leucoplasia-candidiasis: Inicia en la zona retrocomisural, presenta casi siempre forma triangular de base anterior, bilateral o forma de placas alargadas radiadas, puede sufrir de ulceraciones en la superficie.⁽⁴⁸⁾

- Forma nodular: Se encuentra localizada en la región retrocomisural, donde aparecen unas formaciones nodulares endurecidas que no alteran la coloración de la mucosa y a veces están cubiertas de una capa queratósica adherida. ⁽⁴⁸⁾

c. Candidiasis asociada con otras lesiones

- Queilitis angular: Lesión inflamatoria por lo general suele ser bilateral y crónica en las comisuras de los labios. Se caracteriza por un enrojecimiento y agrietamiento de las comisuras de los labios, suele sangrar con facilidad y ser dolorosa. Se encuentra cubierta por una capa cremosa débil; en el momento de limpiarla con una gasa deja un fondo nacarado brillante. Aparece principalmente por disminución de la dimensión vertical, prótesis dentales, fármacos, déficit de vitaminas y hierro. ⁽⁴⁹⁾
- Glositis romboidal media. Es una lesión romboidal eritematosa localizada en la zona media de la lengua. Suele asociarse con una lesión en “espejo” en el paladar. Es más frecuente en varones, fumadores y diabéticos. ⁽⁴⁹⁾
- Hiperplasia papilar inflamatoria. Lesión papular que aparece en paladar duro producto de una inflamación por uso frecuente de prótesis mal ajustadas, con presencia de placa bacteriana subprotésica rica en *Candida albicans*, uso continuo de prótesis y mala higiene protésica. Inicia en forma de múltiples proyecciones papilares, que tienden a ulcerarse, sangrar y presentar edema, el uso continuo de prótesis mal adaptada produce una lesión con aspecto de verrugas redondeadas y enrojecidas por la presencia de infección. ⁽⁵⁰⁾

2.2.3.5. Factores riesgo.

La *Candida spp* es considerada como microorganismo oportunista, tiene como hábitat la cavidad bucal y cuando este le da las condiciones ambientales se instaurará y genera la candidiasis bucal. Sin embargo existen diversos factores de riesgo como son factores locales, microambientales, falta de higiene adecuada que proporcionaran un medio adecuado para el crecimiento de *Candida spp* que podrá generar al paciente molestias para desarrollar su actividad rutinaria ⁽⁴⁰⁾. Los pacientes que utilizan aparatos protésicos sin el debido cuidado que permitan un mantenimiento adecuado, como son: periodos de reposo en la noche, la limpieza de la prótesis, aparatos mal ajustados y el género femenino presenta mayor prevalencia del uso prolongado de la prótesis por factores estéticos. Esto influye en la colonización de *Candida spp*.⁽⁴¹⁾ La saliva es un factor determinante que influye en la colonización de *Candida spp*. El paciente con xerostomía tiene una mayor predisposición a adquirirla; utilizar aparatos protésicos en las noches permite que *Candida spp* se instaure, la disminución de la salivación en las mañanas también es un factor importante en su crecimiento⁽⁴¹⁾.

El cigarrillo genera alteración en la mucosa y el paladar lo cual permiten la ubicación de *Candida spp* y su crecimiento, existiendo así una relación entre el cigarrillo y *Candida spp*. El cigarrillo mediante la eliminación de hidrocarburo y *Candida spp* instalada logra que se convierta en una leucoplasia como lo evidenció Cawson and Binnie, 1980. Personas inmunosuprimidas o bajo tratamiento con tetraciclinas, personas hospitalizadas permitirán su mayor desarrollo, al igual que la infancia la quimiotaxis está disminuida por la poca deformación del neutrófilo y la vejez estados donde el sistema inmune es más inmaduro, lo que influye notablemente en la

existencia de candidiasis. Las personas que son diagnosticadas con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con un recuento de 200/mm linfocitos TCD4 se evidencia *Candida spp* como microorganismo oportunista. Se realizó un estudio en la Universidad Autónoma de México donde la desnutrición es la causa más frecuente de inmunodeficiencia, por tanto se incrementa 4.5 veces más la colonización bucal por *Candida*.⁽⁴²⁾

2.2.3.6. Cultivo y raspado para identificar *Candida spp*.

Las especies de *Candida spp* crecen en diferentes medios de cultivo como son agar saboraud, peptona, dextrosa, maltosa o sacarosa, se presentan en forma de levaduras, blastoesporas, pseudomicelios con un tamaño de 1.5 a 2 mm. Presentan un color blanquecino y crecen en condiciones anaerobias, la temperatura promedio en la cual puede crecer *Candida* es de 20 a 37°C con un pH de 2.5 a 7.5. Las levaduras poco virulentas dejan de crecer a partir de 38 °C. El espécimen se debe tomar de la lesión activa (del paladar), bajo condiciones asépticas, con un bajalenguas estéril o un hisopo. Los hisopos deben ser utilizados para sembrar en un medio agar Saboraud. El medio agar Saboraud es utilizado como un medio primario, en este medio de agar se debe dejar incubar por 24 a 36 horas a 37 grados centígrados después de este tiempo se empiezan a formar las colonias. Se caracterizan por ser lisas, suaves, húmedas, de color blanco cremoso, el tamaño es de 1.5 mm y se observan como filamentos que se proyectan por todo el agar, después de 4 a 5 días de haber realizado el cultivo presenta un olor característico a levadura ⁽⁵⁴⁾

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- **Aceite esencial.** Líquido oleoso volátil, generalmente insaponificable, algo soluble, contiene terpenos, alcoholes, cetonas, fenoles, ácidos, aldehídos, éteres, se encuentran generalmente en las flores, hojas y tallos de plantas.
- **Antimicótico.** Sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos.
- **Candidiasis.** Infección producida por el género Candida.
- **Candida Albicans.** Hongo diploide asexual (forma de levadura) y saprófito, de la familia de los Sacaromicetos. Habitualmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Tiene una función relevante en la digestión de los azúcares, mediante un proceso de fermentación.
- **Concentración mínima inhibitoria (CMI).** Concentración mínima de una sustancia necesaria para impedir el crecimiento microbiano.
- **Cepa.** Conjunto de virus bacterias u hongos que tienen el mismo patrimonio genético.
- **Hongo.** Organismo eucariota que pertenece al reino fungí.
- **Inhibición.** Impedir o reprimir el ejercicio de facultades o hábitos.
- **Micosis.** Enfermedad infecciosa producida por hongos microscópicos que puede afectar a cualquier parte del organismo.
- **Muña.** Especie de planta arbustiva leñosa, que alcanza de 80 – 120 cm de altura.
- **Planta medicinal.** Especie vegetal que contiene en toda o en alguna de sus partes constitutivas, principios activos útiles para combatir enfermedades.
- **Efecto Antifúngico.** Se entiende por antifúngico o antimicótico a toda sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS PRINCIPAL Y DERIVADAS

3.1.1. Hipótesis Principal

Es probable que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sea efectivo como antimicótico frente a *Candida albicans*.

3.1.2. Hipótesis Derivadas

Es probable que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a mayor concentración sea más efectivo.

Es probable que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a una concentración del 100% tenga el mismo efecto antimicótico que la prueba control de clorhexidina.

3.2. VARIABLES; DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

Variable Estimulo:

Aceite esencial de *Minthostachys mollis* (MUÑA)

Variable Respuesta:

Actividad antifúngica (halo de inhibición)

VARIABLE	INDICADOR	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICION
Aceite esencial de <i>Minthostachys</i> <i>Mollis</i> (MUÑA) (Variable estímulo)	C - 100% C – 50% C – 25%	Cualitativa	Ordinal
Efectividad Antimicótica (variable respuesta)	(mm)	Cualitativa	Razón

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1.1. Tipo de Investigación

Se valoró el efecto del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (MUÑA) a una concentración de 100%, 50%, 25% donde el investigador manipuló las condiciones de la investigación que se llevó a cabo in vitro, por tanto es una investigación experimental.

4.1.2. Diseño de la Investigación

- **De acuerdo a la temporalidad:**

La presente investigación es longitudinal porque se analizó los resultados en diferentes momentos (24 horas, 48 horas y 72 horas).

- **De acuerdo al lugar donde se obtendrá los datos:**

La presente investigación es de tipo laboratorial porque se desarrolló en un laboratorio.

- **De acuerdo al momento de la recolección de datos:**

La presente investigación es prospectiva porque la información se obtuvo una vez iniciada la investigación.

- **De acuerdo a la finalidad de la investigación:**

La presente investigación es comparativa, ya que se comparó el efecto a diversas concentraciones (100%, 50%, 25%), tiempos (24 horas, 48 horas y 72 horas), con una prueba control de clorhexidina al 2%.

4.2. DISEÑO MUESTRAL

En la presente investigación la muestra estuvo constituida por Cepas de *Candida albicans*, el tamaño fue de 5 unidades por cada concentración, presentados de acuerdo con antecedentes investigativos.

4.2.1. Criterios de Inclusión

- Cepas de *Candida albicans* sembradas
- Hongos oportunistas
- Cepas estandarizadas
- Cepas en buen estado
- Cepas sembradas adecuadamente

4.2.2. Criterios de Exclusión

- Cepas de hongos incapaces de restablecerse en el medio de cultivo.
- Cepas no certificadas
- Cepas que no crezcan
- Cepas que se contaminen
- Muestras no adecuadas

4.3. TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

4.3.1. Técnica

Para la presente investigación se utilizó la técnica de observación laboratorial.

4.3.2. Instrumento

Los datos de la investigación se registraron en un instrumento de recolección de datos por el investigador (Anexo 1).

Procedimientos para la recolección de datos

- Se solicitaron los permisos correspondientes a la Universidad Alas Peruanas.
- Con dicha solicitud, se solicitó permiso para utilizar el laboratorio.
- Se compró el aceite esencial de *Minthostachys molly* (muña) con registro sanitario C0001221 N-NAASSA, de la marca Terra Amazonas lote 108047.
- Se obtuvo la cepa de *Candida albicans* debidamente certificada, numero ATCC 10231
- Se acudió al laboratorio de ciencias biológicas de la Universidad Nacional San Agustín para iniciar con las pruebas.
- Se ingresó con todos las medidas de seguridad al laboratorio (gorro, barbijo, guantes, mandil).
- Se preparó medio Saboraud en placas Petri y esterilizado por autoclave para la posterior inoculación.
- Se preparó el inóculo de *Candida albicans* con una OD600nm de 0.8.
- Se preparó los discos a partir de papel filtro lento (grueso) y se colocaron en frascos para esterilizar.
- Se diluyó el aceite con DMSO, para obtener las concentraciones de 25, 50 y 100 % en frascos estériles con el uso de micro pipetas.
- Se dispensó las diluciones de aceite en los frascos estériles con los discos de 6 mm de diámetro.
- Se sembró densamente con cotoletes (hisopos grandes) *Candida albicans* en toda la superficie de placas petri, las cuales contenían el medio selectivo Saboraud.
- Se colocó los discos a base de papel filtro grueso de 6 mm de diámetro en las placas, 4 discos por placa, un disco con aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, otro al 50%, otro al 25% y uno último con clorhexidina al 2%, se realizaron 5 repeticiones, dispersos en el área de la placa.
- La incubación se realizó a 30 °C con observaciones a los 24, 48 y 72 horas.
- La medición de los halos se realizó con vernier de ± 0.01 mm.
- Se anotaron los controles en la ficha de recolección de datos

4.4. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La técnica fue experimental, se confeccionó una ficha de recolección de datos, esta contenía los siguientes datos:

1. Identificación de la muestra
2. Identificación de la concentración utilizada
3. Medida en milímetros del halo de inhibición formado
4. Tiempo de efecto del aceite esencial

4.5 TÉCNICAS ESTADÍSTICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

4.5.1 Plan de Tabulación, Procesamiento y Presentación de los Datos:

La tabulación de los datos se realizó a través de la confección de una matriz, en una hoja de cálculo Excel. El procesamiento de la información se llevó a cabo de manera computacional. La presentación de los datos se realizó a partir de la confección de tablas de simple y doble entrada y la elaboración de gráficos.

4.5.2 Análisis de los Datos:

Análisis de los datos se llevó 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).

Para llevar a cabo las comparaciones entre diferentes concentraciones y tiempos en las que se van a medir los halos, se aplicó la prueba estadística T de student, a un nivel de confianza de 95% y un error estimado máximo de 5%(0.05).

La totalidad del proceso estadístico se desarrolló con la ayuda del software EPI-INFO versión 6.0.

4.6. ASPECTOS ÉTICOS

Dado que la investigación es In vitro, pues son cepas certificadas de hongos nuestras unidades de estudio, no se va en contra de ninguno de los principios éticos de la investigación científica.

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

TABLA N° 1

COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 25% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS

Muña – 25%	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	9.29	5.87	4.29
Desviación Estándar	1.05	3.41	3.99
Halo Inhibitorio Mínimo	7.88	0.00	0.00
Halo Inhibitorio Máximo	10.73	8.87	8.41
Total	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 1 se muestra los valores de los halos de inhibición obtenidos de la *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas luego de ser sometidas a el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) a una concentración del 25%.

Como se aprecia de los resultados a los cuales hemos arribado, a las 24 horas de ser expuesta la *Candida* al aceite esencial de Muña, concentración de 25%, el halo formado fue de 9.29 mm, en tanto, a las 48 horas, este disminuyó hasta llegar a un valor de 5.87 mm y, finalmente, a las 72 horas de aplicado el estímulo el halo siguió disminuyendo hasta un valor promedio de 4.29 mm.

GRÁFICO N° 1

COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 25% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS

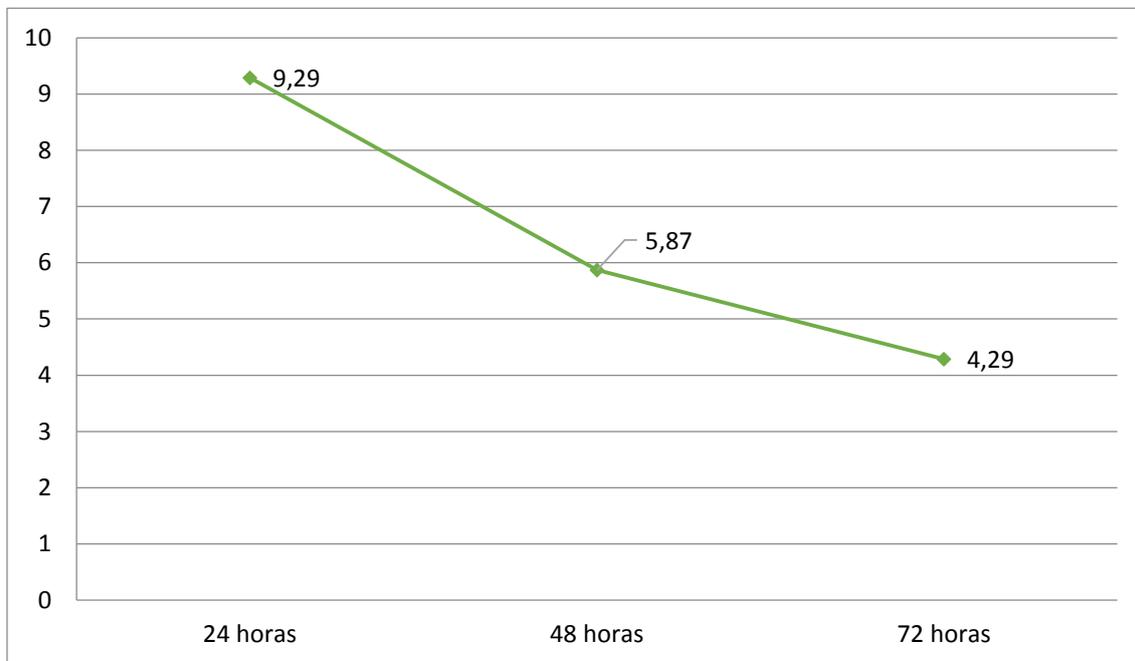


TABLA N° 2

**COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE
ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 50% SOBRE
CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS**

Muña – 50%	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	11.98	7.98	6.14
Desviación Estándar	2.92	1.58	3.55
Halo Inhibitorio Mínimo	9.20	6.70	.00
Halo Inhibitorio Máximo	16.83	10.37	9.24
Total	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla que mostramos, se pueden apreciar los valores de los halos de inhibición obtenidos de la *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas luego de ser sometidas al aceite esencial de *misthostachys mollis* (Muña) a una concentración del 50%.

De acuerdo a los resultados a los que se ha arribado, a las 24 horas, el halo de inhibición formado correspondió a un valor promedio de 11.98 mm, a las 48 horas de la exposición, este halo disminuyó hasta llegar a un valor promedio de 7.98 mm y, al final de las 72 horas de aplicado el estímulo, el halo siguió con su tendencia decreciente, evidenciándose un valor medio de 6.14 mm.

GRÁFICO N° 2

COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 50% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS

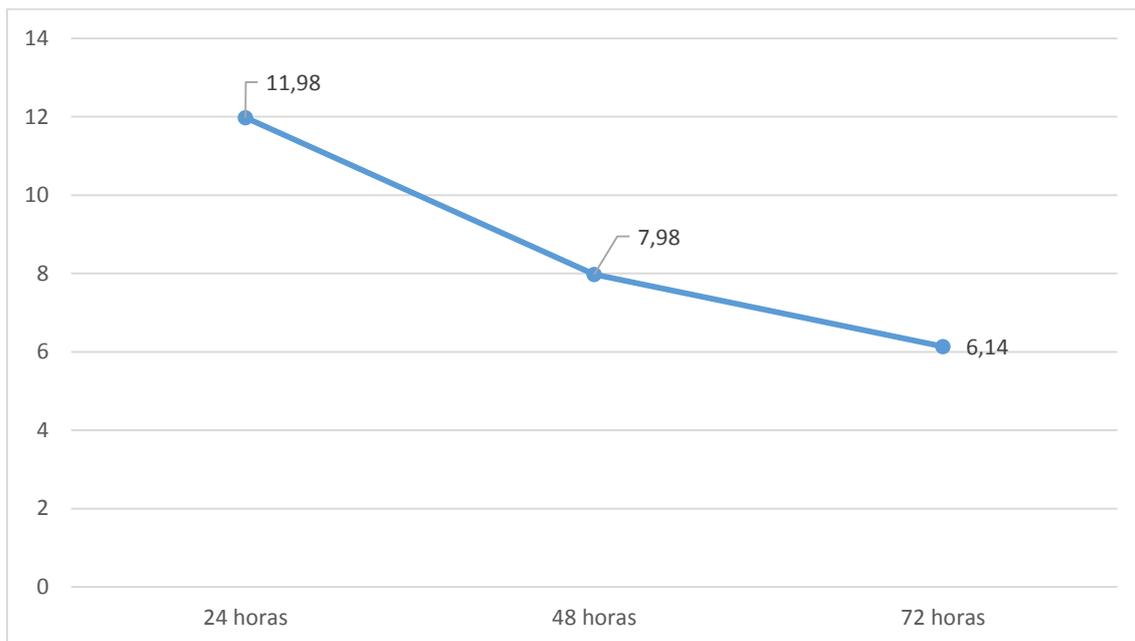


TABLA N° 3**COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE
ESENCIAL MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 100% SOBRE CEPAS
DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS**

Muña – 100%	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	15.60	14.96	14.00
Desviación Estándar	2.56	4.93	4.60
Halo Inhibitorio Mínimo	12.48	8.51	8.50
Halo Inhibitorio Máximo	19.60	19.30	19.08
Total	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

La tabla que se muestra nos permite evaluar el comportamiento de la eficacia antimicótica, específicamente sobre la *Candida albicans*, del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) a una concentración del 100%. Las mediciones se llevaron a cabo a las 24, 48 y 72 horas después de llevada a cabo la exposición.

Si se observan los resultados, se evidencia que, a las 24 horas de empezada la experimentación, el halo inhibitorio formado obtuvo un valor promedio de 15.60 mm, en tanto, a las 48 horas de la exposición, este halo disminuyó ligeramente hasta llegar a un valor promedio de 14.96 mm y a las 72 horas de aplicado el estímulo, el halo nuevamente disminuyó hasta un valor medio de 14.00 mm.

GRÁFICO N° 3

COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) AL 100% SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS

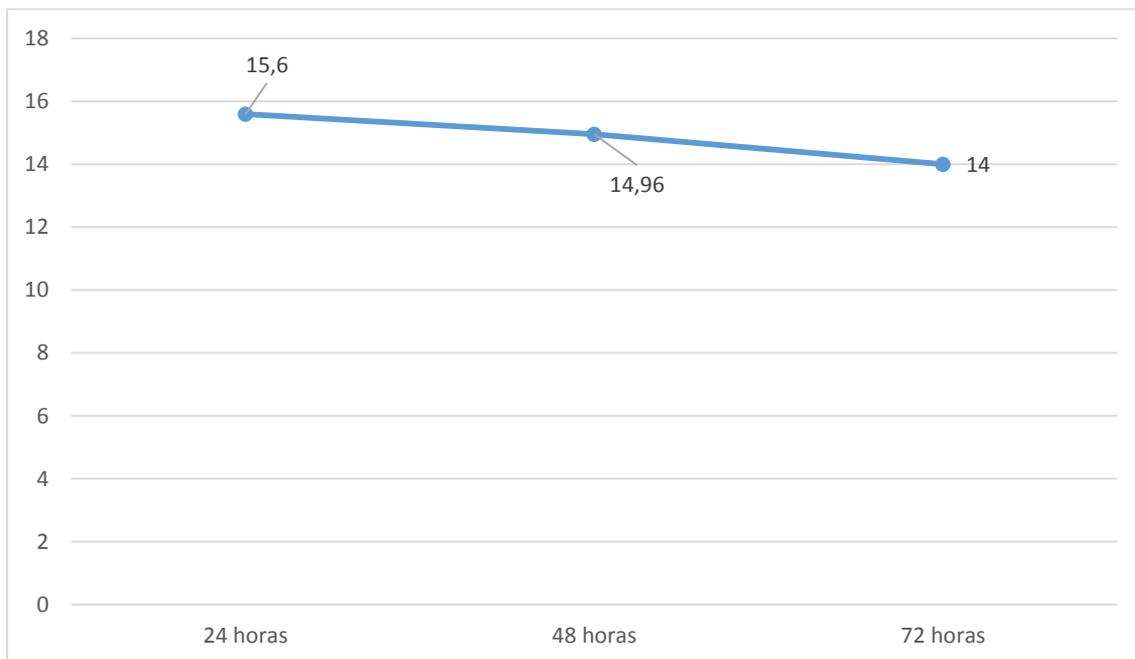


TABLA N° 4**COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS**

Clorhexidina	Medición		
	24 horas	48 horas	72 horas
Media Aritmética	15.26	16.00	15.91
Desviación Estándar	1.61	1.30	1.39
Halo Inhibitorio Mínimo	13.63	14.79	14.21
Halo Inhibitorio Máximo	17.90	17.88	17.83
Total	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 4 se presenta información respecto al comportamiento de la eficacia antimicótica de la clorhexidina frente a la *Candida albicans*, medida a las 24, 48 y 72 horas de su aplicación. Cabe resaltar que en nuestra investigación la clorhexidina corresponde a nuestro grupo control.

La *Candida albicans*, a las 24 horas de ser expuesta a la clorhexidina, mostró un halo de inhibición promedio de 15.26 mm, a las 48 horas de la aplicación del estímulo, el halo se incrementó ligeramente hasta alcanzar un valor promedio de 16.00 mm, luego, a las 72 horas, que correspondió a la última medición llevada a cabo, el halo sufrió una ligera disminución en su diámetro, obteniéndose un valor promedio de 15.91 mm.

GRÁFICO N° 4

COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DE LA CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS AISLADAS

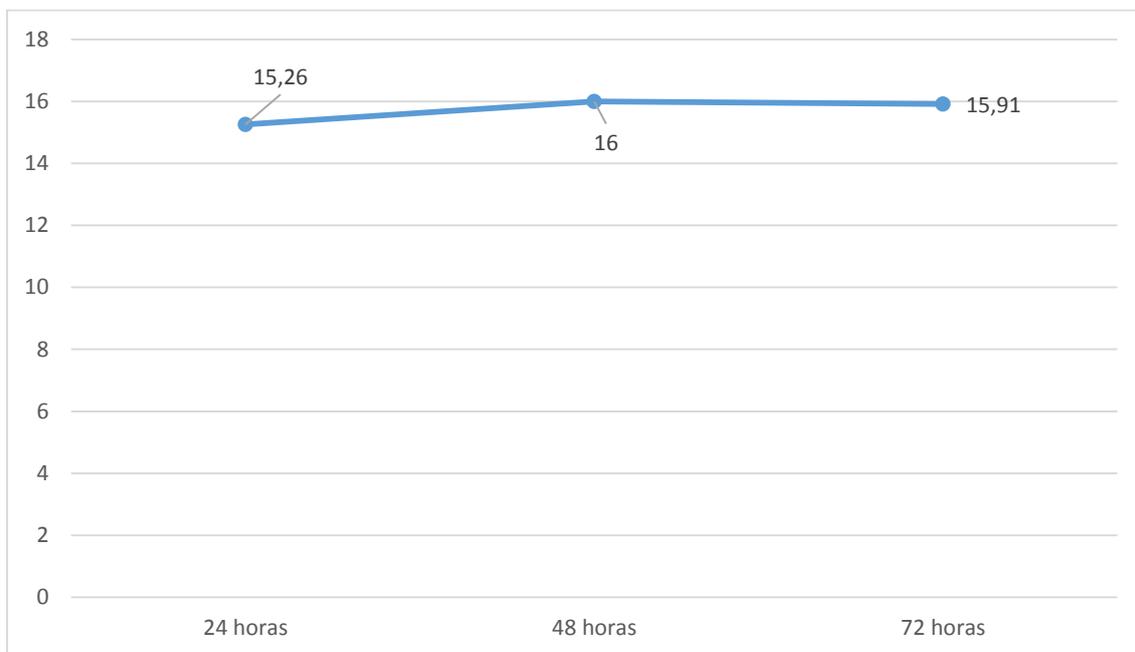


TABLA N° 5**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 24 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA**

Medición	Grupo de Estudio			
	Muña 25%	Muña 50%	Muña 100%	Clorhexidina
24 horas				
Media Aritmética	9.29	11.98	15.60	15.26
Desviación Estándar	1.05	2.92	2.56	1.61
Halo Inhibitorio Mínimo	7.88	9.20	12.48	13.63
Halo Inhibitorio Máximo	10.73	16.83	19.60	17.90
Total	5	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla N° 5 mostramos la eficacia antimicótica obtenida de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) y la clorhexidina a las 24 horas después de su aplicación sobre *Candida albicans*.

Como se aprecia en los resultados obtenidos, el grupo que obtuvo el menor valor en su diámetro del halo de inhibición fue la del aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) en una concentración de 25%, siendo este de 9.29 mm, luego ubicamos al aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) en su concentración al 50%; cuyo valor promedio fue de 11.98 mm; siguiendo ascendentemente está la clorhexidina, cuyo halo formado en este tiempo fue de 15.26 mm, finalmente encontramos al aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en su concentración del 100%, siendo su halo evidenciado de 15.60 mm.

GRÁFICO N° 5

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 24 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA

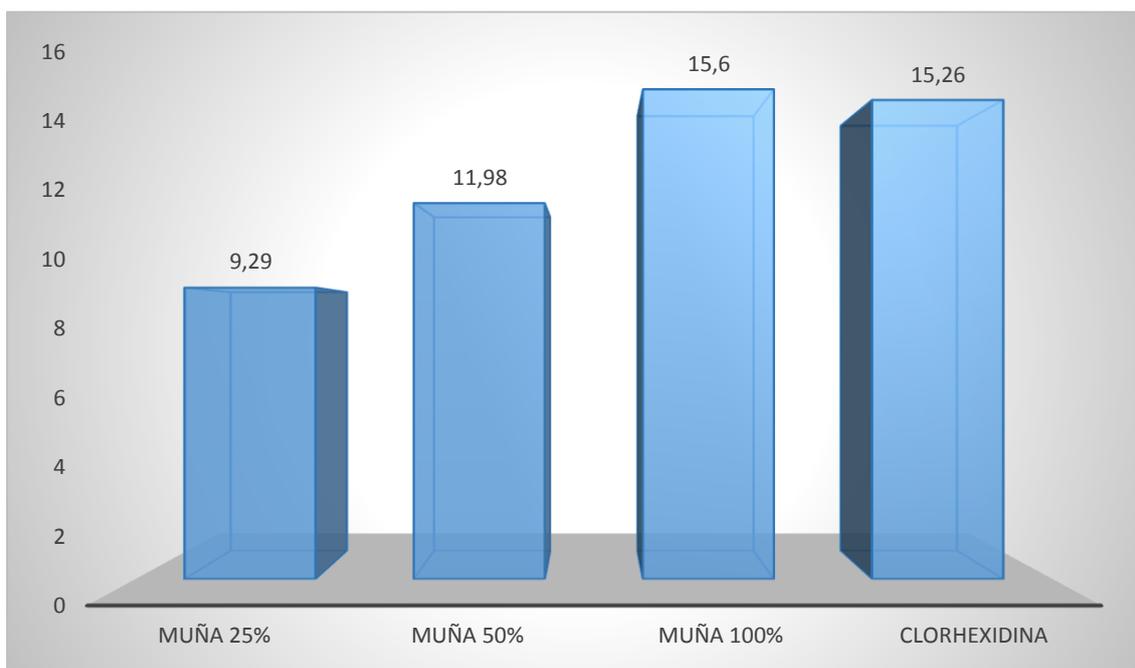


TABLA N° 6

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 48 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA

Medición	Grupo de Estudio			
	Muña 25%	Muña 50%	Muña 100%	Clorhexidina
48 horas				
Media Aritmética	5.87	7.98	14.96	16.00
Desviación Estándar	3.41	1.58	4.93	1.30
Halo Inhibitorio Mínimo	0.00	6.70	8.51	14.79
Halo Inhibitorio Máximo	8.87	10.37	19.30	17.88
Total	5	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

INTERPRETACIÓN:

En la tabla que se muestra en la presente página, presentamos información respecto a la eficacia antimicótica del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña), en sus diferentes concentraciones evaluadas, y la clorhexidina a las 48 horas luego de ser aplicadas sobre la *Candida albicans*.

De acuerdo a los resultados a los que se ha arribado luego de la experimentación, se aprecia que en este momento, fue el aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en su concentración del 25% la que tenía el menor halo de inhibición evidenciado (5.87 mm), en segundo lugar se aprecia al grupo del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en concentración del 50% (7.98 mm), luego se observa al aceite esencial de Muña en concentración del 100 % (14.96 mm), en tanto, el grupo de la clorhexidina es la que mostró el mayor halo de inhibición en este momento (16.00 mm).

GRÁFICO N° 6

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 48 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA

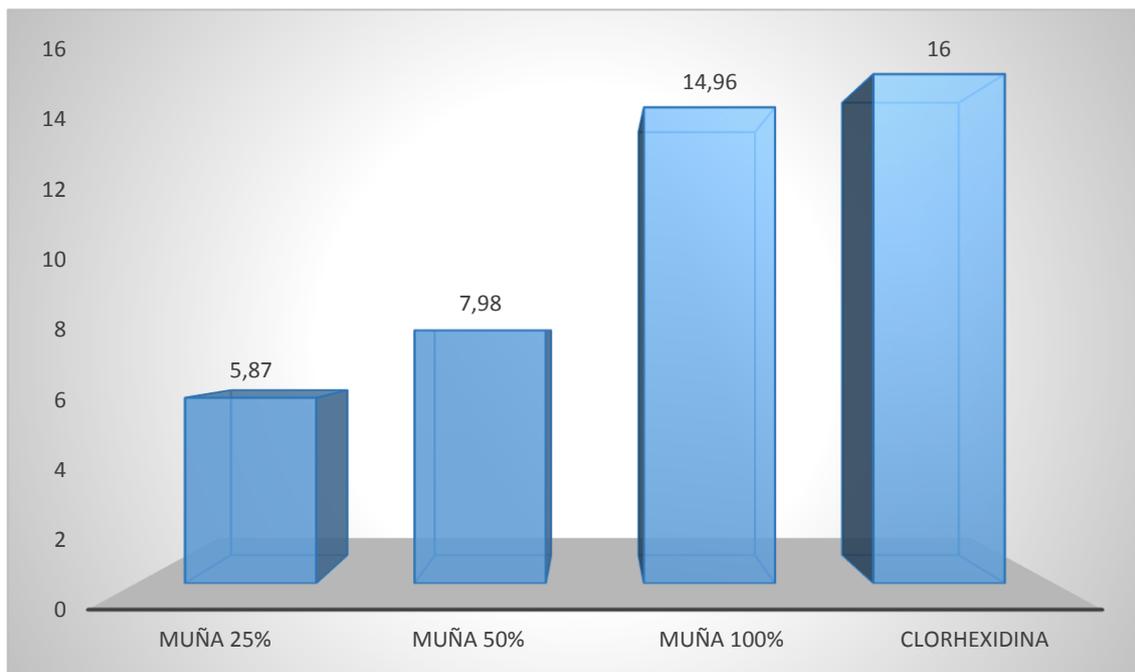


TABLA N° 7**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 72 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA**

Medición	Grupo de Estudio			
	Muña 25%	Muña 50%	Muña 100%	Clorhexidina
72 horas				
Media Aritmética	4.29	6.14	14.00L	15.91
Desviación Estándar	3.99	3.55	4.60	1.39
Halo Inhibitorio Mínimo	0.00	0.00	8.50	14.21
Halo Inhibitorio Máximo	8.41	9.24	19.08	17.83
Total	5	5	5	5

Fuente: Matriz de datos

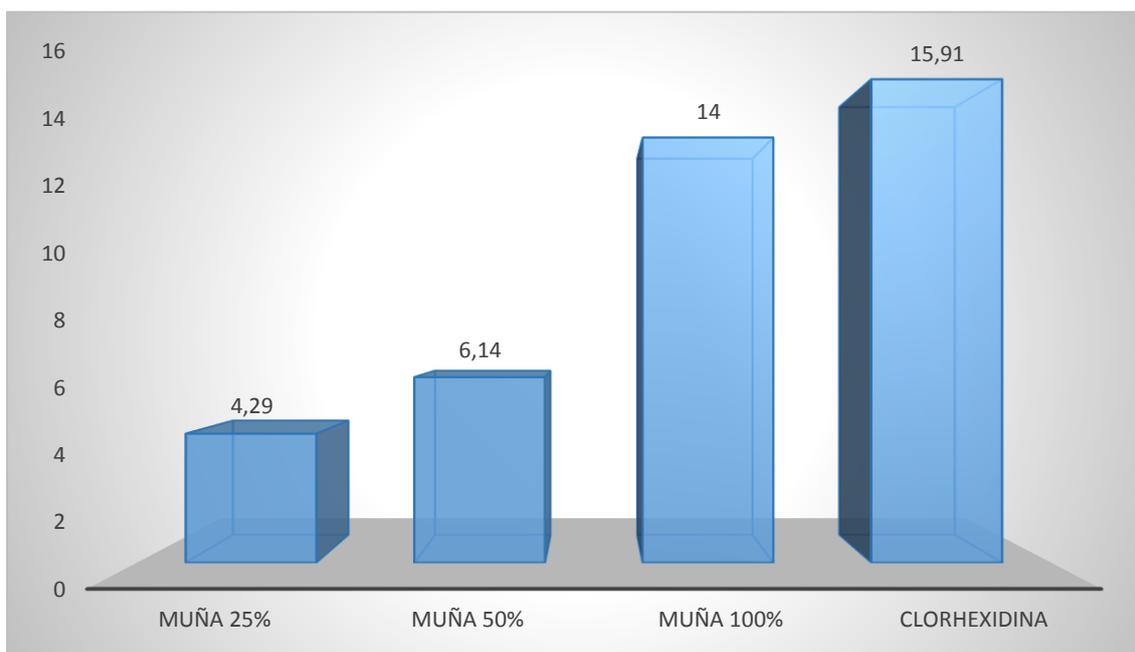
INTERPRETACIÓN:

La tabla N° 7 nos presenta información respecto a la capacidad antimicótica observada en el aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña), en sus diferentes concentraciones, y la clorhexidina a las 72 horas de iniciada su acción sobre cepas de *Candida albicans*.

Si apreciamos la tabla con los resultados obtenidos, evidenciamos que el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) en una concentración al 25% es la que obtuvo el menor diámetro del halo de inhibición respecto a los demás (4.29 mm), luego se ubica el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) a una concentración del 50% (6.14 mm), siguiendo en orden está el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) en su concentración al 100% (14.00 mm) y, finalmente, fue la clorhexidina la que alcanzó el mayor halo de inhibición (15.91 mm).

GRÁFICO N° 7

COMPARACIÓN DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA A LAS 72 HORAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA



5.2. ANÁLISIS INFERENCIAL:

TABLA N° 8

PRUEBA DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EVALUAR EL COMPORTAMIENTO DE LA EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA CLORHEXIDINA SOBRE CANDIDA ALBICANS

EFICACIA ANTIMICÓTICA	Valor Estadístico	Grados de Libertad	Significancia P
Muña 25%	4.998	12	0.038 (P < 0.05) S.S.
Muña 50%	5.622	12	0.019 (P < 0.05) S.S.
Muña 100%	0.188	12	0.831 (P ≥ 0.05) N.S.
Clorhexidina	0.396	12	0.681 (P ≥ 0.05) N.S.

En la evaluación del comportamiento de la eficacia antimicótica, tanto el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) en sus diferentes concentraciones, como de la clorhexidina (Tablas N° 1, 2, 3 y 4) sobre las cepas de *Candida albicans*, se aplicó la prueba estadística de análisis de varianza (ANOVA), la cual nos permite establecer si la actividad antimicótica mejora, o en su defecto no, a través del tiempo en los grupos motivo de estudio.

Como se aprecia, según la prueba estadística aplicada, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en los grupos de aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) a las concentraciones del 25% y 50%, es decir, el efecto antimicótico disminuye con el transcurrir del tiempo, desde las 24 horas, que se hizo la primera medición, hasta las 72 horas donde se realizó la última. En lo que respecta el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) al 100% y la clorhexidina, no se han encontrado diferencias significativas en las mediciones, es decir, la actividad antimicótica en estos dos grupos se mantuvo estable desde las 24 horas y hasta las 72 horas.

TABLA N° 9

**PRUEBA ANÁLISIS DE VARIANZA PARA COMPARAR LA EFICACIA
ANTIMICÓTICA ENTRE EL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS
MOLLIS (MUÑA), EN SUS DIFERENTES CONCENTRACIONES, Y LA
CLORHEXIDINA SOBRE CEPAS DE CANDIDA ALBICANS A LAS 24, 48 Y
72 HORAS**

MUÑA 25% MUÑA 50% MUÑA 100% CLORHEXIDINA	Valor Estadístico	Grados de Libertad	Significancia P
24 horas	9.428	16	0.001 (P < 0.05)
48 horas	12.581	16	0.000 (P < 0.05)
72 horas	12.680	16	0.000 (P < 0.05)

En la comparación llevada a cabo de la eficacia antimicótica entre el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña), en sus diferentes concentraciones, y la clorhexidina, se evaluó los diámetros de los halos de inhibición formados a las 24, 48 y 72 horas (Tablas N° 5, 6 y 7) sobre las cepas de *Candida albicans*. Para llevar a cabo este análisis se aplicó la prueba estadística Análisis de Varianza, la cual nos permite establecer si existen diferencias respecto a los halos formados entre estos cuatro grupos de estudio.

Como se aprecia, según la prueba estadística desarrollada, hemos encontrado que las diferencias encontradas entre los cuatro grupos fueron significativas en los tres momentos estudiados (24, 48 y 72 horas), es decir, a las 24 horas el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) al 100% y la Clorhexidina tuvieron igual eficacia antimicótica y esta estuvo por encima del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) al 50% y 25%; a las 48 horas, se aprecia el mismo comportamiento que a las 24 horas; a las 72 horas la clorhexidina fue la que tuvo el mejor efecto antimicótico, seguida por el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) al 100% y muy por debajo estuvieron al 50% y 25%.

5.3.COMPROBACIÓN DE LAS HIPÓTESIS:

HIPÓTESIS PRINCIPAL:

Es probable que el aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) presente efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

Regla de Decisión:

Si $P \geq 0.05$ No se acepta la hipótesis.

Si $P < 0.05$ Se acepta la hipótesis.

Conclusión:

Contrastando la hipótesis principal planteada con los resultados obtenidos (Tablas N° 1, 2, 3 y 4), procedemos a aceptarla, pues se ha demostrado que el aceite esencial de Muña, en las tres concentraciones evaluadas en el presente estudio (25%, 50% y 100%) demostraron tener algún efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans*.

HIPÓTESIS DERIVADAS:

Primera:

Es probable que a mayor concentración del aceite esencial de *minthostachys mollis* (Muña) tenga mejor efectividad antimicótica sobre las cepas de *Candida albicans*.

Regla de Decisión:

Si $P \geq 0.05$ No se acepta la hipótesis.

Si $P < 0.05$ Se acepta la hipótesis.

Conclusión:

Contrastando la hipótesis con los resultados obtenidos (Tablas N° 5, 6 y 7), procedemos a aceptar la primera hipótesis derivada, pues se ha evidenciado que el aceite esencial de Muña al 100% tuvo el mayor efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans* en los tres tiempos evaluados (24, 48 y 72 horas).

Segunda:

Es probable que el aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) a una concentración del 100% tenga el mismo efecto antimicótico que la clorhexidina.

Regla de Decisión:

Si $P \geq 0.05$ No se acepta la hipótesis.

Si $P < 0.05$ Se acepta la hipótesis.

Conclusión:

De acuerdo con lo observado en la Tabla N° 9, procedemos a aceptar parcialmente la segunda hipótesis derivada, puesto que el aceite esencial de Muña al 100% fue igual de efectivo que la Clorhexidina a las 24 y 48 horas de aplicados, mientras que a las 72 horas fue la Clorhexidina quien obtuvo la mejor eficacia antimicótica sobre las cepas de *Candida albicans*.

5.4 DISCUSIÓN:

A pesar de los avances en la industria farmacéutica, la candidiasis oral es una patología inevitable que puede ocasionar fuertes problemas en boca.

Es de mucha importancia que el odontólogo este informado de los diversos tratamientos naturales contra la candidiasis, tales como el uso de aceites esenciales, para así evitar la prescripción de medicamentos químicos que ocasionan resistencia fúngica.

En cuanto al efecto antimicótico del aceite esencial de *minthostachys molli*, en el presente estudio se evidencio que el aceite esencial de muña al 100 % presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*, de similar forma se observó en los resultados realizados por Castillo Andamayo Diana Esmeralda. Evaluación de la actividad antifúngica del gel de satureja *brevicalyx epling* “inca muña” frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis año 2017; en el cual se concluyó que la especie *Satureja brevicalyx Epling* “inca muña” tiene efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondi* y *Candida non albicans*.

El efecto antimicótico del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) al 100% sobre *Candida albicans*, es efectivo contra está a las 24 y 48 horas, de forma similar los resultados realizado por Chamba Pascal. Alternativas terapéuticas a base de vegetales medicinales contra infecciones ocasionadas por “*Candida albicans*” en cavidad oral año 2015; en el cual se evaluaron los aceites esenciales de orégano y hierba luisa, donde se evidencio que a mayor concentración tanto del aceite esencial de Hierba Luisa como del orégano presentan mayor acción inhibitoria frente a cepas de *Candida albicans*.

El aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) evidencio un efecto antimicótico frente a *Candida albicans* en sus tres concentraciones, de manera similar sucedió en el estudio realizado por flores: Evaluación del perfil biológico antimicrobiano in vitro de aceites esenciales de especies vegetales aromáticas; En el cual se encontró inhibición del crecimiento del

hongo saprófito *Neurospora crassa* y de *Staphylococcus aureus* a concentraciones de 1mg/ml El aceite esencial, también se evidencio que el aceite esencial de *C. paradisi* al 1,0 mg/mL no demostró actividad antifúngica contra *Cándida albicans*.

En el trabajo de investigación: Actividad antifúngica del extracto de toronja sobre el crecimiento de *Candida albicans*. Se observó que el extracto de toronja al 33 % ejerce una potente actividad antifúngica sobre cepas de hongos levaduriformes y tiene una baja actividad sobre dermatofitos y mohos, mientras que en el trabajo realizado se observó que el aceite de muña al 100% tiene un potente efecto antimicótico.

En el presente estudio, el aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) al 100% presento un halo de inhibición en sus tres tiempos de exposición, demostrando así su eficacia antimicótica frente a *Candida albicans*, se observó en los resultados obtenidos por Soares M. Et Al. Portugal Acción antimicótica del aceite esencial de la hierba luisa contra levaduras y hongos filamentosos 2013; se utilizó discos de difusión y se concluyó que esta planta tiene una potente acción sobre hongos, especialmente sobre *Candida albicans*.

El aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) demostró tener eficacia antimicótica frente a *Candida albicans* teniendo como medicamento control a la clorhexidina, el aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) al 100% presento una eficacia antimicótica similar a la de la clorhexidina, de manera similar se observó en los resultados obtenidos por Chamba Pascal. (Ecuador). Alternativas terapéuticas a base de vegetales medicinales contra infecciones ocasionadas por "*Candida albicans*" en cavidad oral 2015; en el cual se observó que a mayor concentración tanto del aceite esencial de Hierba Luisa como del orégano presentaron mayor acción inhibitoria que el medicamento control nistatina, frente a cepas de *Candida albicans*.

En trabajo de investigación Efecto inhibitorio del aceite esencial "muña" *minthostachys mollis* sobre el género proteus, causantes de infecciones del tracto urinario. Realizado por Baca Melo, Cynthia Madeleine (2017 Puno).

Se concluyó que el aceite esencial de muña presente un mayor efecto antibacteriano frente a *Proteus Vulgaris* casi de 59.5%, mientras que el antibiótico positivo control vancomicina mostro un efecto al 100%. En nuestro trabajo de investigación se observó de manera contraria, se evidencia que el aceite esencial de muña presente un efecto antimicótico similar a la de clorhexidina al 2%.

En siguiente trabajo de investigación. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *minthostachys mollis* (muña).realizado por Cano Carlos, Bonilla Pablo, Roque Mirtha, Ruiz Julio (2007) Lima. Se concluyó que el aceite de muña evidencio un efecto antifúngico frente a *Candida albicans* probablemente por la acción de los monoterpenos encontrados. En nuestro trabajo de investigación sucedió de similar manera, ya que el aceite de muña presente un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

En la investigación realizada por Alaba Castañeda Wesley Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *enterococcus faecalis atcc 29212*. (2015 Cajamarca) Se concluyó que el aceite esencial de muña presente un efecto antibacteriano en su concentración al 100% mostro un efecto antibacteriano a las 24, 48 y 72 horas, en nuestro trabajo de investigación se similar manera se observó que el aceite de muña presente un efecto antimicótico frente a *Candida albicans* a las 24,48 y 72 horas de su exposición.

CONCLUSIONES

- PRIMERA** : El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña), demostró tener eficacia antimicótica frente a cepas de *Candida albicans*.
- SEGUNDA** : El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña), en las tres concentraciones evaluadas en el presente estudio (25%, 50% y 100%) demostró tener efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans*. El aceite esencial de Muña al 100% tuvo el mayor efecto antimicótico sobre cepas de *Candida albicans* en los tres momentos de evaluación (24, 48 y 72 horas).
- TERCERA** : La clorhexidina al 2%, la cual es prueba control, mostró tener eficacia antimicótica sobre las cepas de *Candida albicans* durante el tiempo que duró la investigación (24, 48 y 72 horas)
- CUARTA** : El aceite esencial de Muña al 100% fue igual de efectivo que la Clorhexidina a las 24 y 48 horas de aplicados, mientras que a las 72 horas fue la Clorhexidina quien obtuvo la mejor eficacia antimicótica sobre las cepas de *Candida albicans*; el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50% presentó una eficacia antimicótica disminuida en comparación a la concentración de 100% , de similar manera sucedió con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 25%, en el cual el halo de inhibición fue de menor tamaño, las tres concentraciones del aceite esencial de muña presentaron eficacia antimicótica, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100% presentó mayor efecto antimicótico contra *Candida albicans*.

RECOMENDACIONES

- PRIMERA** : Se recomienda el uso del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), como tratamiento frente a *Candida albicans*.
- SEGUNDA** : Se recomienda usar el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) a una concentración del 100%, como tratamiento eficaz en infecciones por *Candida albicans*.
- TERCERA** : Se sugiere a los cirujanos dentistas que recomienden el uso de antimicóticos naturales, como el uso de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) para el tratamiento de candidiasis oral, con el seguimiento respectivo y control en su aplicación.
- CUARTA** : Se recomienda el uso del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, de preferencia usarlo cada 24 o 48 horas, paralelamente, disminuir la prescripción de fármacos.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Castillo Andamayo, Diana Esmeralda. Evaluación de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” frente a *Candida* spp. de pacientes portadores de prótesis. Tesis Doctor en Estomatología, Facultad de Odontología-UNMSM-2017.
2. De Almeida L, Cavalcanti Y., De Castro R, Lima E. Actividade antifúngica e alteracoes morfológica induzida pelo óleo essencial de *Cinnamomum cassia* frente a cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes VIH positivos Clin Integr Joao Pessoa. 2012; 12(3): 393-98
3. Bakhshi M, Taheri J, Basir S, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash on denture stomatitis. Gerodontol. 2012; 29: 680-84
4. Flores E, Velasco P, Figueroa N, Gimenez A. Aceites esenciales con propiedades antimicrobianas. Biofarbo. 1999; 7(7): 5-8.
5. Krajewska-Kutak E, Lukaszuk C, Niczyporuk W. Effects of 33 % grapefruit extract on the growth of the yeast-like fungi, dermatophytes and moulds. Parazytol. 2001; 47(4): 845-849.
6. Soares M. Efecto in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* y citral, sobre hongos filamentosos no dermatofilos y levaduras, Clin Inect Dis [Internet] Portugal, 2013(citado Diciembre 2016) 12(2) 1-9
7. Almeida RBA; Akisue G; Cardoso LML; Junqueira JC; Jorge AO, actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Cymbopogon citratus* en cepas de *Staphylococcus* spp., *Streptococcus mutans* y *Candida* spp. Open aire, Brasil 2013(citado Diciembre 2016). Disponible en: <https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=doajarticles::05b46f31eb3bef2c4708d3d4abc729d4>
8. Chamba P, Lanas T., Guillermo A., Lupe M. Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *Candida albicans* en comparación con la nistatina

- estudio invitro (tesis para optar el título de odontología) Universidad Central del Ecuador. 2015 (citado Diciembre 2016). Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3538>
9. Baca Melo, Cynhia Madeleine. Efecto inhibitorio del aceite esencial “muña” *minthostachys mollis* sobre el género *proteus*, causantes de infecciones del tracto urinario. Título profesional de: licenciado en biología. Universidad nacional del altiplano facultad de ciencias biológicas 2017. Disponible en http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4777/Baca_Melo_Cynhia_Madeleine.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 10. CANO, Carlos; BONILLA, Pablo; ROQUE, Mirtha y RUIZ, Julio. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). *Rev. Perú. med. exp. salud publica* [online]. 2008, vol.25, n.3, pp.298-301. ISSN 1726-4634. Disponible en http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342008000300008&script=sci_abstract
 11. Alaba Castañeda Wesley. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Rev. Simiykita*. 2015 Ene-Jun.
 12. Thompson W. Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. 1ª Edición. Barcelona: Editorial Blume; 1981: 119.
 13. Duraffourd C, D' hervicourt L, La praz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1ª edición. París: editorial Masson SA; 1983
 14. Diccionario de botánica” Editorial labor S.A. Barcelona – España. 1979.
 15. Look de Ugaz, O “Investigación fotoquímica”. Métodos en el estudio de productos naturales PUCP Fondo editorial 1988.
 16. Strasburger E, Noll E, Schenk H. Tratado de Botánica. 7ª edición: ediciones Marín Barcelona - España 1978.

17. Augusto W. Fraccionamiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva. Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1975.
18. Morales A. Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena). Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1973.
19. Marques AMC. Estudo comparativo da actividade antimicrobiana de soluções irrigadoras à base de Clorexidina em diferentes concentrações sobre microorganismos frequentemente encontrados no canal radicular. Estudo in vitro. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia Salvador; 1997.
20. Agapito T. y Sung I. Fito Medicina 110 Plantas Medicinales. 1° edición. Lima: Editorial Isabel IRL; 2003.
21. Goldsmith J. Thorpe's Dictionary of applied Chemistry. 10° Edición. Londres: Editorial Sir Ian Heilbron; 1967(8): 658.
22. Miller E. Fisiología Vegetal. 1° Edición. México D.F.: Editorial Centro Regional de Ayuda Técnica; 1967: 111-114.
23. Meyer L. Introducción a la Fisiología Vegetal. 3° Edición. Buenos Aires: Editorial EUDEBA; 1970: 272.
24. Guenter M. The essential Oils. 1° Edición. New York: Editorial D. Van Nostrand Company; 1960.
25. Ricse C. Contribución al estudio de la esencia de *Minthostachys setosa* epl. Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNMSM; 1962.
26. Chobanu L. Variability of the composition of terpenoids for *Mentha longifolia* sp. Caucasic Brig. In ontogénesis. Mater RespKon. Fiziol Bokhim 1976: 262-271.

27. Cano C. actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Tesis de Maestría para Magister en recursos vegetales y terapéuticos, Lima- UNMSM, 2007.
28. Kakrani K, Nai V. Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the seeds of *Aglaiaodoratissima*. *Fitoterapia* 1982; 53: 107-109
29. Motle P. Proyecto de factibilidad para la instalación de una planta de extracción de aceite esencial de Menta. Tesis de bachiller. Lima: UNI; 1977.
30. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina UNMSM* 2001; 62 (2): 156 – 161.
31. Bardales A, Yarlequé M, Rueda L. Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". I Congreso Internacional de Biología - XIII Congreso Nacional de Biología- VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Perú; 1999.
32. Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de la. región Arequipa. 1ª edición. Arequipa: Editorial Akuarella; 2000: 99-100.
33. Inga A y Guerra B. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico. Lima: UNMSM; 2000.
34. Weberbauer M. El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1ª edición. Lima: Editorial Lumen S.A.; 1945.
35. Oviedo F. Ensayos toxicológicos preliminares con aceite esencial de 'muña'. Tesis de bachiller. Cuzco: UNSAAC; 1979
36. Jaroslav S. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana. 1ª edición. Lima: Editorial Salesiana; 1970.

37. Gibaja S. Investigaciones químicas de la muña *Minthostachys mollis*. Tesis de bachiller para el título de Químico. Lima: UNMSM; 1960.
38. Chica N, Sánchez J, Carascal K, Melgarejo M, antimicrobial activity of *Minthostachys mollis* (Lamiaceae) essential oil, APS Caribbean Division 2007; 97(7) (Suppl).
39. Oblitas E. Plantas medicinales en Bolivia: farmacopea Callaway. 2ª Edición. La Paz: Editorial los amigos del libro; 1998. p. 8.
40. Agencia de cooperación técnica del Perú (ACT) del Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA). Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: Perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari (curso regional). Ayacucho (Perú): 1999. p: 237 – 246.
41. Negroni M. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 1ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1999. p: 203 – 215
42. Mora F. et al. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil *Minthostachys mollis* from Venezuela Andes. Natural Product Communications, Mora F. et al, 2009; 4(7): 997-1000.
43. Ney Alberto Paredes Sampen, Efectividad antibacteriana IN VITRO de una infusión a base de *Camellia sinensis* y *Minthostachys mollis* sobre flora salival mixta. Tesis de bachiller para Cirujano Dentista, Facultad de Odontología-UNMSM 2009.
44. Rodríguez Ortega Judy, Miranda Tarragó Josefa, Morejón Lugones Haydée, Santana Garay Julio C. Candidiasis de la mucosa bucal: Revisión bibliográfica. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2002 Ago [citado 2016 Jun 22];39(2):187-233.
Disponibile en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007&lng=es.

45. Rossoni RD, Barbosa JO, Vilela SFG, Jorge AOC, Junqueira JC. Comparison of the hemolytic activity between *C. albicans* and non-*albicans Candida* species. Brazilian oral research [internet]. 2013 Dic [citado 2016 Jun 8]; 27(6):484-489. Disponible en: https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=fr&user=uQdDWu0AAAJ&citation_for_view=uQdDWu0AAAJ:_FxGoFyzp5QC
46. Mosca Christian Oscar, Moragues María Dolores, Brena Sonia, Rosa Alcira Cristina, Pontón José. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en un adolescente con estomatitis protésica. Med. Oral patol. Oral cir. Bucal (Ed.impr.) [Internet]. 2005 Feb [citado 2016 Jun 23]; 10(1): 25-31. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472005000100005&lng=es.
47. Neppelenbroek KH, Campanha NH, Spolidrio DMP, Spolidorio LC, Se RS, Pavarina AC. Molecular fingerprinting methods for the discrimination between *C. albicans* and *C. dubliniensis*. Oral Dis [internet] 2006 [citado 2016 Jun 28]; 12(3):242-253. Disponible en: http://www.jle.com/fr/revues/abc/edocs/candida_dubliniensis_une_nouvelle_espece_emergente_272580/article.phtml?tab=references Especies de *Candida*-Estomatitis Subprotésica
48. Otero Rey E., Peñamaría Mallón M., Rodríguez Piñón M., Martín Biedma B., Blanco Carrión A. Candidiasis oral en el paciente mayor. Av Odontoestomatol [Internet]. 2015 Jun [citado 2016 Jun 23]; 31(3): 135-148. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0213-12852015000300004&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S021312852015000300004>.
49. Matos Paraguassú Gardênia, Andrade Pimentel Poliana, Rode Santos Aline, Araújo Silva Gurgel Clarissa, Almeida Sarmento Viviane. Prevalência de lesões bucais associadas ao uso de próteses dentárias removíveis em um serviço de estomatologia. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2011 Sep [citado 2016 Jun 22]; 48(3): 268-276. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072011000300008&lng=es.

50. Pouloupoulos A, Belazi M, Epivatianos A, Velegraki A, Antoniadis D. The role of candida in inflammatory papillary hyperplasia of the palate. *J Oral Rehabil* [internet] 2007 Sep. [Citado 2016 Mayo 29]; 34(9):685-692. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/6124291_The_role_of_Candida_in_inflammatory_papillary_hyperplasia_of_palate
51. Vasconcelos Laís César de, Vasconcelos Laurylene César de Souza, Ghersel Eloisa Lorenzo de Azevedo, Veloso Dejanildo Jorge, Cunha Paula Angela Souto Montenegro de Almeida. Denture hygiene: importance in denture stomatitis control. *RGO, Rev. gaúch. odontol.* (Online) [Periódico na Internet]. 2013 Jun [citado 2016 Jun 22]; 61(2): 255-261. Disponible en: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-86372013000200013&lng=pt.
52. Khatri I, Moger G, Kumar NA. Evaluation of effect of topical ozone therapy on salivary Candidal carriage in oral candidiasis. *Indian Journal of Dental Research* [internet] 2015 Abril [citado 2016 Mayo 28]; 26(2):158. Disponible en: <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2015;volume=26;issue=2;spage=158;epage=162;aulast=Khatri>
53. Gaitán-Cepeda Luis Alberto, Sánchez-Vargas Luis Octavio, Pavia-Ruz Noris, MuñozHernández Rocío, Villegas-Ham Julio, Caballos-Salobreña Alejandro. Candida bucal en niños mexicanos con VIH/sida, desnutrición o marginación social. *Rev Panam Salud Pública* [Internet]. 2012 Jan [cited 2016 June 23]; 31(1):48-53. http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892012000100007&lng=en. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892012000100007>.
54. Guilarte C, Pardi G. Pruebas para identificar especies de Candida en cavidad bucal. *Acta Odontológica Venezolana* [internet] 2009 [citado 2016

jun23];47(3):201-205. Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/3/art26.asp>

55. Palacios Vaccaro. Plantas Nativas Medicinales. 18 ed. Lima: Concytec. 1997.

56. Azaña I. Efectividad Antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista] Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima-Perú; 2010.

ANEXOS

ANEXO N° 1

FICHA DE OBSERVACIÓN LABORATORIAL

TIEMPO DE EXPOSICIÓN	NUMERO DE PLACA PETRI	DIAMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
		ACEITE DE MUÑA			C+		
		25%	50%	100%	CLORHEXIDINA 2 %	C-	CC+
24 HORA	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	PROMEDIO						
48 HORAS	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	PROMEDIO						
72 HORAS	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	PROMEDIO						
CONTROL DE ESTERILIDAD							
CONTROL DE CRECIMIENTO							

C+: clorhexidina 2% *C-:* control de esterilidad del medio *CC+:* Control de crecimiento.

ANEXO N ° 02:

MATRIZ DE DATOS

ENSAYO ANTIMICROBIANO CON ACEITE DE MUÑA										
TIEMPO DE TOMA DE DATOS	REPETICIÓN	DIÁMETRO DE HALO DE INHIBICIÓN (mm)						C-	CC+	
		CONCENTRACIONES DEL ACEITE								
		25%		50%		100%				C+
24 HORAS	1	10.73		16.83		19.60		17.90	-	+
	2	7.88		10.28		15.70		15.45	-	+
	3	9.31		11.60		15.41		14.54	-	+
	4	9.70		11.99		14.85		14.78	-	+
	5	8.85		9.20		12.48		13.63	-	+
	PROMEDIO	9.29 ± 1.05	11.98 ± 2.93	15.61 ± 2.57	15.26 ± 1.61					
48 HORAS	1	8.87		10.37		19.30		17.88	-	+
	2	7.28		8.84		18.40		16.81	-	+
	3	6.92		7.26		10.83		15.14	-	+
	4	6.30		6.76		17.80		15.39	-	+
	5	NH		6.70		8.51		14.79	-	+
	PROMEDIO	7.34 ± 1.10	7.99 ± 1.59	14.97 ± 4.93	16.00 ± 1.30					
72 HORAS	1	8.41		9.24		19.08		17.83	-	+
	2	6.41		7.35		17.18		16.57	-	+
	3	NH		7.32		9.91		15.05	-	+
	4	6.65		6.81		15.34		15.91	-	+
	5	NH		NH		8.50		14.21	-	+
	PROMEDIO	7.16 ± 1.09	7.68 ± 1.07	14.00 ± 4.60	15.91 ± 1.39					

C+	DISCO CON CLORHEXIDINA 2%
C-	CONTROL DE ESTERILIDAD
CC+	CONTROL DE CRECIMIENTO
NH	NO HAY HALO

ANEXO N° 03:

DOCUMENTACIÓN SUSTENTATORIA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO DE RECURSOS GENÉTICOS Y GENÉTICA MOLECULAR
LABORATORIO DE GENÉTICA
DIVISIÓN: ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

AV. ALCIDES CARRIÓN S/N INTERIOR ESCUELA DE BIOLOGÍA AREA 60.2-302 ☎ +51 997433281 📠 054 212309

LA COORDINADORA DEL CENTRO DE RECURSOS GENÉTICOS Y GENÉTICA MOLECULAR
QUE SUSCRIBE DEJA

CONSTANCIA

Que el bachiller Vicente Anthony Aranibar Quiroz, ha realizado en nuestros establecimientos bajo el asesoramiento de nuestro equipo, el desarrollo de la parte laboratorial, correspondiente a la prueba antimicótica invitro, de la tesis titulada: "EFICACIA ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESCENCIAL DE *Minthostachys mollis* (MUÑA) SOBRE CEPAS DE *Candida albicans* AISLADAS, AREQUIPA 2018".

Se expide la presente para los fines que estime el interesado.


Dra. Maria Valderrama Valencia
Coordinadora de CERGEM




CERGEN
CENTRO DE RECURSOS GENÉTICOS Y
GENÉTICA MOLECULAR

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



UNSA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

LABORATORIO DE GENÉTICA
DIVISIÓN: ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

AV. ALCIDES CARRIÓN S/N INTERIOR ESCUELA DE BIOLOGÍA AREA 60.2-302 ☎ +51 997433281 📠 054 212309

INFORME DE ENSAYO
N°: ANMIC1810.16.1

Nombre de Cliente	: Vicente Anthony Aranibar Quiroz
Dirección de Cliente	: -
RUC	: -
Condición de Muestreo	: Por el cliente
Descripción de Muestra	: Aceite de Muña 100%
Tamaño de Muestra	: 10 mL
Fecha de Recepción	: 09/10/18
Fecha de Inicio de Ensayo	: 10/10/18
Fecha de emisión de Informe	: 17/10/18
Página	: 1 de 5

I. METODOLOGÍA (*)

1. Se preparó medio Saboraud en placas Petri y esterilizado por autoclave para la posterior inoculación.
2. Se preparó el inóculo de *Candida albicans* con una OD_{600nm} de 0.8.
3. Se preparó los discos a partir de papel filtro lento (grueso) y se colocaron en frascos para esterilizar.
4. Se diluyó el aceite con DMSO, para obtener las concentraciones de 25, 50 y 100 % en frascos estériles con el uso de micro pipetas.
5. Se dispensó las diluciones de aceite en los frascos estériles con los discos de 6 mm de diámetro.
6. Se sembró densamente con cotoletes (hisopos grandes) la cepa de *Candida albicans* en toda la superficie de placas petri con medio Saboraud.
7. Se colocó los discos a las placas en 5 repeticiones, dispersos en el área de la placa.
8. La incubación se realizó a 30 °C con observaciones a los 24, 48 y 72 horas.
9. La medición de los halos se realizó con vernier de ± 0.01 mm.

(*) Incluido por pedido del Usuario

INFORME DE ENSAYO

N°: ANMIC1810.16.1

Nombre de Cliente	: Vicente Anthony Aranibar Quiroz
Dirección de Cliente	: -
RUC	: -
Condición de Muestreo	: Por el cliente
Descripción de Muestra	: Aceite de Muña 100%
Tamaño de Muestra	: 10 mL
Fecha de Recepción	: 09/10/18
Fecha de Inicio de Ensayo	: 10/10/18
Fecha de emisión de Informe	: 17/10/18
Página	: 2 de 5

II. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO Y ANTIMICÓTICO DE ACEITE DE MUÑA

TABLA 1. Resultados para la actividad antimicótica de Aceite de Muña.

Fuente: Propia

CEPA	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231		
FACTOR	HALO A 72H (mm)	INTERPRETACIÓN	
CONTROL DE CRECIMIENTO	-	Crecimiento Basto de la cepa.	
ACEITE DE MUÑA 25%	8.41	7.16 ± 1.09	Se observa un halo de inhibición claro y pequeño.
	6.41		
	NH		
	6.65		
	NH		
ACEITE DE MUÑA 50%	9.24	7.68 ± 1.07	Se observa un halo de inhibición claro y pequeño muy similar al de 25%.
	7.35		
	7.32		
	6.81		
	NH		
ACEITE DE MUÑA 100%	19.08	14.00 ± 4.06	Se observa un halo de inhibición claro y grande, corresponde al 88% del halo de clorhexidina 2%.
	17.18		
	9.91		
	15.34		
	8.50		
CONTROL CLORHEXIDINA 2%	17.83	15.91 ± 1.39	Se observa un halo de inhibición claro y grande.
	16.57		
	15.05		
	15.91		
	14.21		

NH: No presenta halo

(*) Incluido por pedido del Usuario



CERGEN
CENTRO DE RECURSOS GENÉTICOS Y
GENÉTICA MOLECULAR

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



UNSA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE ARE

LABORATORIO DE GENÉTICA
DIVISIÓN: ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

AV. ALCIDES CARRIÓN S/N INTERIOR ESCUELA DE BIOLOGÍA AREA 60.2-302 ☎ +51 997433281 📠 054 212309

INFORME DE ENSAYO

N°: ANMIC1810.16.1

Nombre de Cliente	: Vicente Anthony Aranibar Quiroz
Dirección de Cliente	: -
RUC	: -
Condición de Muestreo	: Por el cliente
Descripción de Muestra	: Aceite de Muña 100%
Tamaño de Muestra	: 10 mL
Fecha de Recepción	: 09/10/18
Fecha de Inicio de Ensayo	: 10/10/18
Fecha de emisión de Informe	: 17/10/18
Página	: 3 de 5

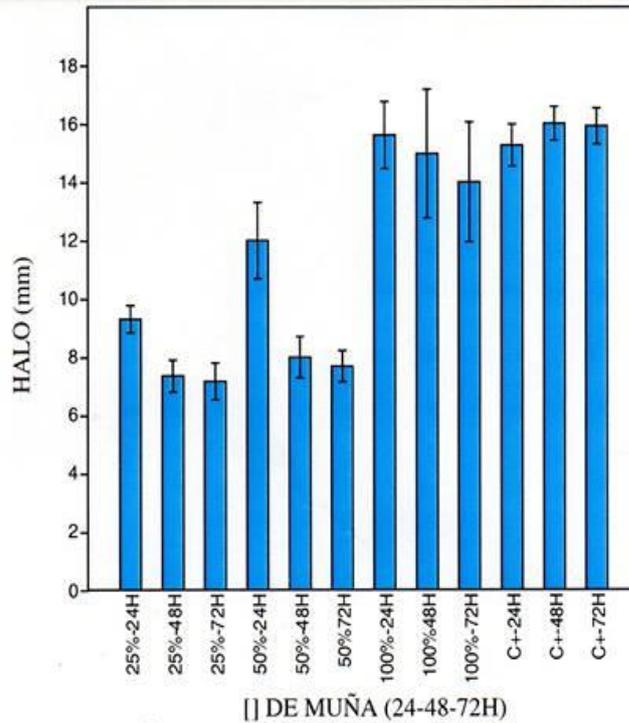


GRAFICO N°1. Halos de inhibición de las concentraciones de muña al 25, 50, 100% y Clorhexidina al 2% (Control +)

(*) Includido por pedido del Usuario



INFORME DE ENSAYO

N°: ANMIC1810.16.1

Nombre de Cliente	: Vicente Anthony Aranibar Quiroz
Dirección de Cliente	: -
RUC	: -
Condición de Muestreo	: Por el cliente
Descripción de Muestra	: Aceite de Muña 100%
Tamaño de Muestra	: 10 mL
Fecha de Recepción	: 09/10/18
Fecha de Inicio de Ensayo	: 10/10/18
Fecha de emisión de Informe	: 17/10/18
Página	: 4 de 5

III. INTERPRETACIÓN

La referencia bibliográfica de resistencia y sensibilidad, muestra que cepas como *Staphylococcus aureus*, como Microorganismo (MO) de referencia, tiene un halo de inhibición de crecimiento de 10.26 mm; en la cepa estudiada *Candida albicans* ATCC 10231, se encontró valores de inhibición de hasta 15.91 mm, lo que nos ayudará a establecer valores de sensibilidad.

Las muestras proporcionadas para determinar su capacidad antimicótica frente *Candida albicans*, presentan resultados de los que podemos concluir, que las concentraciones del aceite de Muña al 25 y 50%, tienen halos con tamaños mucho menores que el referente de 10.26 mm, por lo que las cepas muestran una baja sensibilidad al aceite en estas concentraciones.

Mientras tanto el aceite de muña en la concentración más pura (100%) muestra halos de 14 mm acercándose al 88% del total de inhibición del control Clorheximida 2%, lo que lo hace un buen candidato para el tratamiento contra esta levadura, después de pruebas invivo.

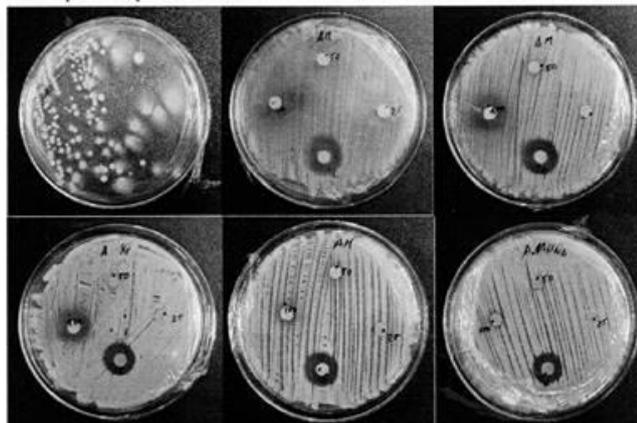


FIGURA N°1. De izquierda a derecha, placas de Control de crecimiento, 5 repeticiones de los discos impregnados con las concentraciones de 25, 50, 100 % de aceite y Clorhexidina al 2%.

(*) Includido por pedido del Usuario



CERGEN
CENTRO DE RECURSOS GENÉTICOS Y
GENÉTICA MOLECULAR

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LABORATORIO DE GENÉTICA

DIVISIÓN: ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS



UNSA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA

AV. ALCIDES CARRIÓN S/N INTERIOR ESCUELA DE BIOLOGÍA AREA 60.2-302 ☎ +51 997433281 📠 054 212309

INFORME DE ENSAYO

N°: ANMIC1810.16.1

Nombre de Cliente	:	Vicente Anthony Aranibar Quiroz
Dirección de Cliente	:	-
RUC	:	-
Condición de Muestreo	:	Por el cliente
Descripción de Muestra	:	Aceite de Muña 100%
Tamaño de Muestra	:	10 mL
Fecha de Recepción	:	09/10/18
Fecha de Inicio de Ensayo	:	10/10/18
Fecha de emisión de Informe	:	17/10/18
Página	:	5 de 5

BIBLIOGRAFÍA

- MINISTERIO DE SALUD – GOBIERNO DE CHILE 2005. Prueba De Susceptibilidad Antimicrobiana Por Difusión En Agar.
- ARMENTA S., SERRANO D., GARCÍA C., *et al.*, 2016. Efecto Antimicrobiano de la clorhexidina en Odontología. Revista Odontológica Latinoamericana. UNAM.

(*) Incluido por pedido del Usuario

ANEXO N° 04:

CERTIFICADO DE CEPA



Product Sheet

***Candida albicans* (ATCC® 10231™)**

Please read this **FIRST**

Storage Temp.
Frozen: -80°C or colder
Freeze-Dried: 2°C to 8°C
Live Culture: See Propagation Section

Biosafety Level
1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Candida albicans* (ATCC® 10231™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor

Page 1 of 2



Description

Strain Designation: 3147 [CBS 6431, CCY 29-3-106, CIP 48.72, DSM 1386, IFO 1594, NCPF 3179, NCYC 1363, NIH 3147, VTT C-85161]
Deposited Name: *Candida albicans* (Robin) Berkhout
Antigenic Properties: Serotype A
Product Description: An ampoule containing viable cells (may include spores and mycelia) suspended in cryoprotectant.



Propagation

The information recommended in this section is to assist users in obtaining living culture(s) for their studies. The recommendation does not imply that the conditions or procedures provided below are optimum. Experienced researchers may initiate the growth of a culture in their own way.

ATCC® Medium 200: YM agar or YM broth
ATCC® Medium 28: Emmons' modification of Sabouraud's agar
ATCC® Medium 1245: YEPD

Growth Conditions

Temperature: 24°C to 26°C
Atmosphere: Typical aerobic

Recommended Procedure

For **freeze-dry (lyophilized) ampoules:**

1. Open an ampoule according to enclosed instructions.
2. From a single test tube of **sterile distilled water** (5 to 6 mL), withdraw approximately 0.5 to 1.0 mL with a sterile pipette and apply directly to the pellet. Stir to form a suspension.
3. Aseptically transfer the suspension back into the test tube of sterile distilled water.
4. Let the test tube sit at room temperature (25°C) undisturbed for **at least 2 hours**; longer (e.g., overnight) rehydration might increase viability of some fungi.
5. Mix the suspension well. Use several drops (or make dilutions if desired) to inoculate recommended solid or liquid medium. Include a control that receives no inoculum.
6. Incubate the inoculum at the propagation conditions recommended.
7. Inspect for growth of the inoculum/strain regularly. The sign of viability is noticeable typically after 1-2 days of incubation. However, the time necessary for significant growth will vary from strain to strain.

Colony and Cell Morphology: On YEPD agar after 2 days at 25°C, colonies are cream-colored, shiny, and smooth. Older colonies show filaments-like structure at the margin and may have ridges or folds. Cells are ovoid (3.0-6.0 x 4.0-8.0 µm), budding, mostly singly and rarely clustered in young culture. Cells will elongate and form chain-like branched pseudohyphae in older culture.



Notes

This strain is recommended by ATCC for use in the tests described in ASTM Standard Test Method E979-91 where only the taxon is specified; For sterility testing, not more than five passages from the ATCC culture should be used; Purified genomic DNA of this strain is available as ATCC 10231D-5™.

Additional, updated information on this product may be available on the ATCC® web site at www.atcc.org.



DNA Sequence

18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence
GGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGATTTGCTTAATTGCACCACATGTGTTTTCTTT
GAAACAACCTGCTTTGGCGGTGGGCCAGCCCTGCCGCCAGAGGTCTAAACTTACAACCAATTTTTAT
CAACTTGTCACACCAGATTACTACTAATAGTCAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGA
TGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATATGAATTGCAGATATTCTGTAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACCATTGCGCCCTCTGGTATTCCGGAGGCATGCCTGTTGAGCGTCTTTCTCCCTCAAACCGCTGG
GTTTGGTGTGAGCAATACGACTTGGGTTTGCTTGAAGACGGTAGTGGTAAGCGGGATCGCTTTGA
CAATGGCTTAGGTCTAACCAAAAACATTGCTTGGCGGGTAACGTCCACCACGTATATCTTCAAACCTT
GACCTCAAACAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCAATAA

D1D2 region of the 26S ribosomal RNA gene
ATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCTCAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAA



Product Sheet

Candida albicans (ATCC® 10231™)

AGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTCTTTGGCGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGGCCCGG
CTCTTGTCTATGTTCTTGGAAACAGGACGTACAGAGGGTGAGAAATCCCGTGCATGAGATGACCCCGG
GTCTGTGTAAAGTTCCTTCGACGAGTCGAGTTGTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATCCA
TCTAAAGCTAAATTTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAAGATGAAAAGAAC
TTTGGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGAAGGGCTTGAGATCAGACTTGGTAT
TTTGCATGCTGCTCTCTCGGGGGCGCCGCTGCGGTTTACCAGCCAGCATCGGTTTGGAGCGCCAGG
ATAATGGCGGAGGAATGTGCCACGGCTTCTGCTGTGTGTTATAGCCTCTGACGATACTGCCAGCCTAG
ACCGAGGACTGCGGTTTTAACCTAGGATGTTGGCATAATGATCTTAA

Isolation

Man with bronchomycosis

References

References and other information relating to this product are available online at www.atcc.org

Biosafety Level: 1

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

ATCC Warranty

ATCC® products are warranted for 30 days from the date of shipment, and this warranty is valid only if the product is stored and handled according to the information included on this product information sheet. If the ATCC® product is a living cell or microorganism, ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this product. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this product. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.

Disclaimers

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans. While ATCC uses reasonable efforts to include accurate and up-to-date information on this product sheet, ATCC makes no warranties or representations as to its accuracy. Citations from scientific literature and patents are provided for informational purposes only. ATCC does not warrant that such information has been confirmed to be accurate. This product is sent with the condition that you are responsible for its safe storage, handling, and use. ATCC is not liable for any damages or injuries arising from receipt and/or use of this product. While reasonable effort is made to insure authenticity and reliability of materials on deposit, ATCC is not liable for damages arising from the misidentification or misrepresentation of such materials. Please see the enclosed Material Transfer Agreement (MTA) for further details regarding the use of this product. The MTA is also available on our Web site at www.atcc.org

Additional information on this culture is available on the ATCC web site at www.atcc.org. © ATCC 2016. All rights reserved. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection. [06/17]

Please read this FIRST

Storage Temp.
Frozen: -80°C or colder
Freeze-Dried: 2°C to 8°C
Live Culture: See Propagation Section

 Biosafety Level 1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Candida albicans* (ATCC® 10231™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

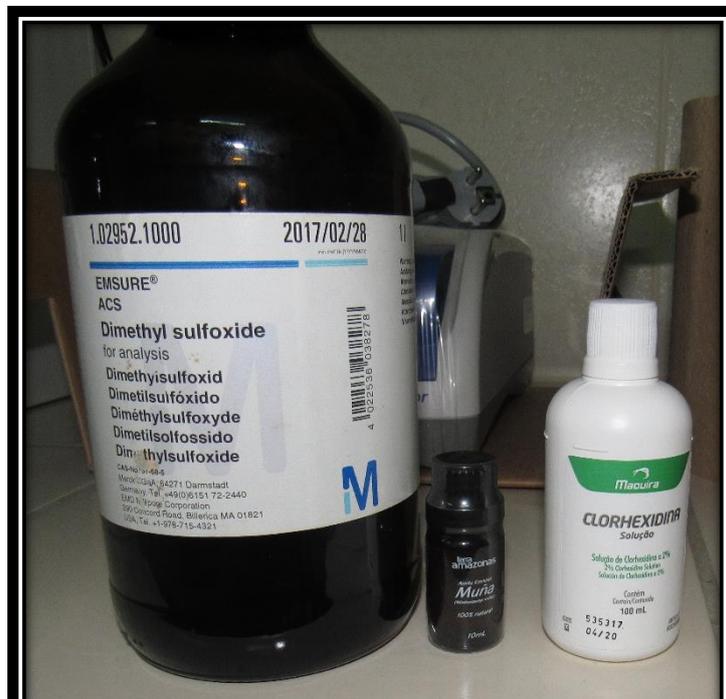
800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor

ANEXO N° 05: SECUENCIA DE FOTOGRAFÍAS



En el interior del laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, en compañía del Asistente de biólogo



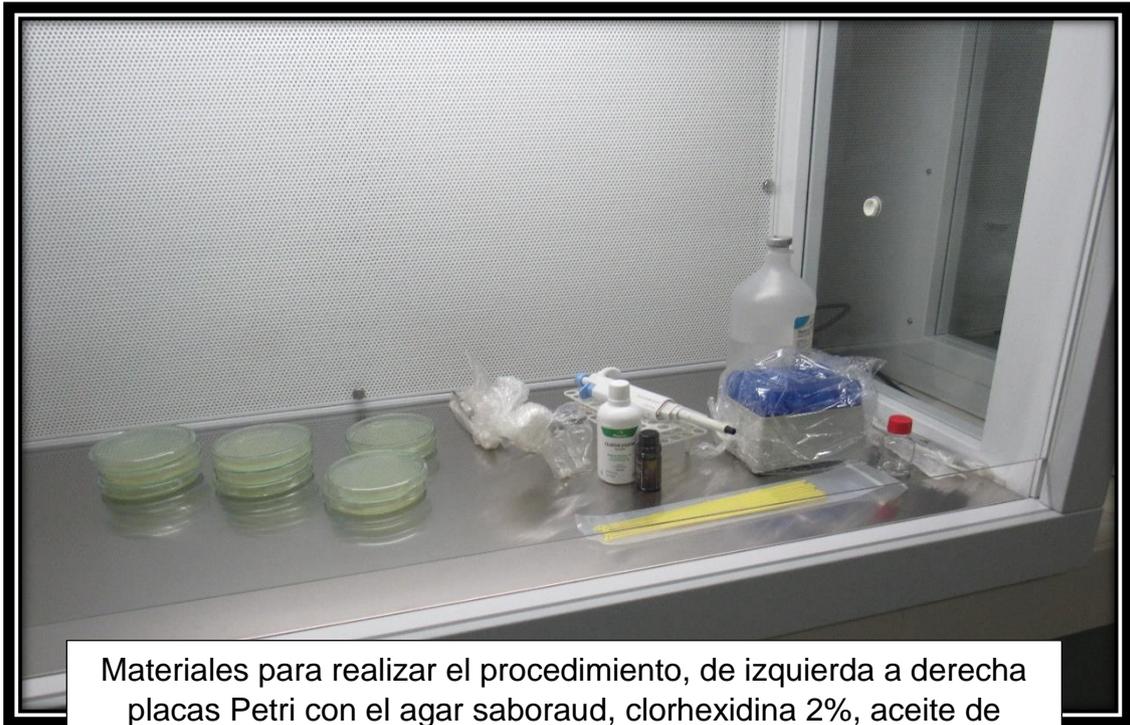
Materiales utilizados de izquierda a derecha: Dimetil Sulfoxido, Aceite esencial de Mula, Clorhexidina al 2%



Cepa de *Candida albicans* certificada, Número ATCC 10231, lista para tomar la muestra



Asas Estériles kolle para recoger la muestra de la cepa y así poder activarla.



Materiales para realizar el procedimiento, de izquierda a derecha placas Petri con el agar saboraud, clorhexidina 2%, aceite de muña, suero, todo dentro de una cámara de flujo laminar



Activación de la Cepa de Candida albicans.



Toma de la muestra de la Cepa de *Candida albicans*



Toma de la muestra de la Cepa de *Candida albicans*



Toma de la muestra de la Cepa de *Candida albicans*, eligiendo de preferencia el lugar donde se desarrollaron en mayor cantidad.



Activación de la cepa con ayuda de suero fisiológico.



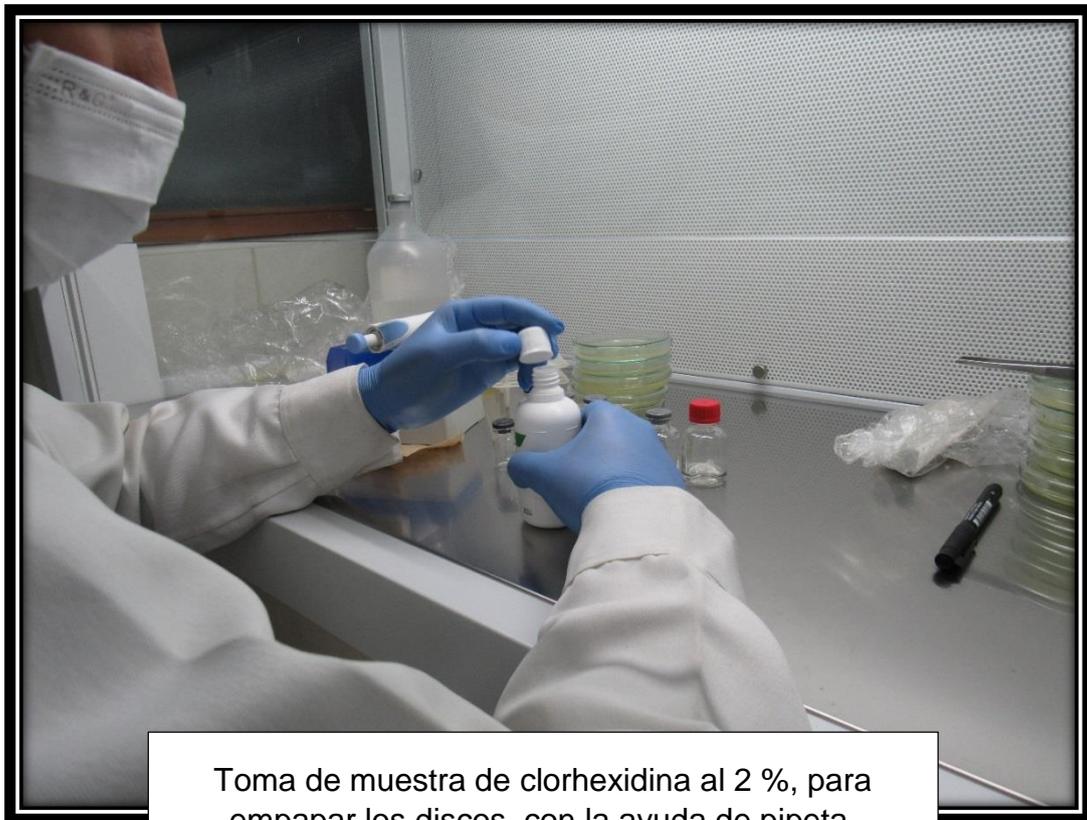
Se verificó que no presente ningún microorganismo las placas con el agar saborau



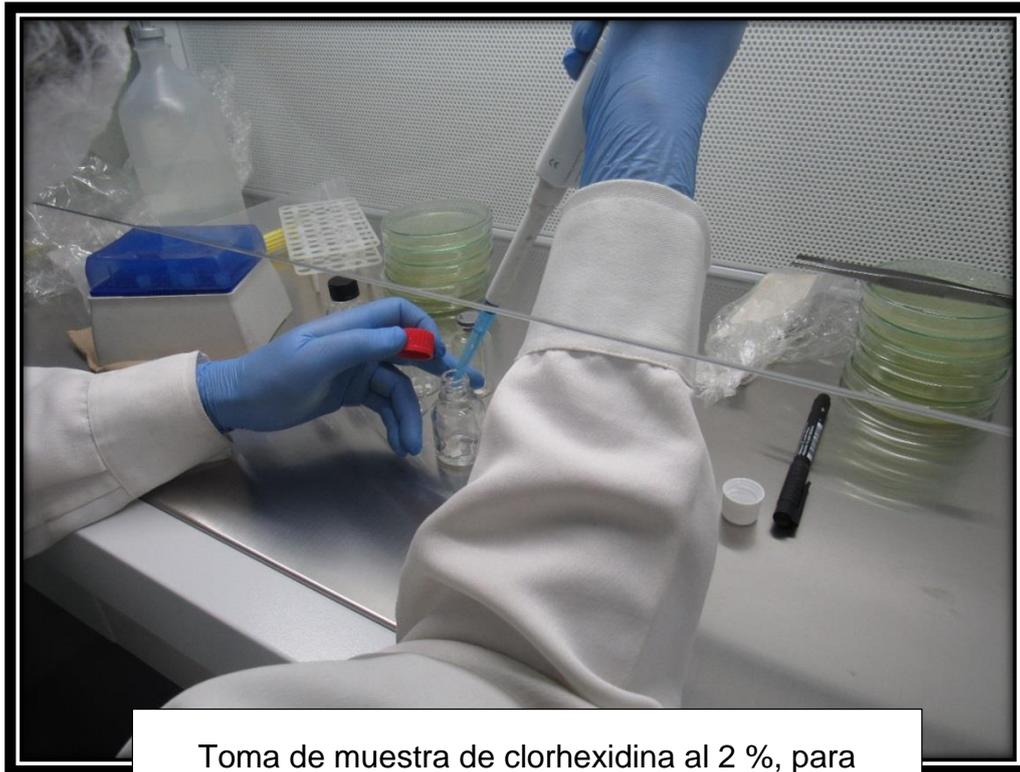
Frascos estériles para la colocación de cada disco



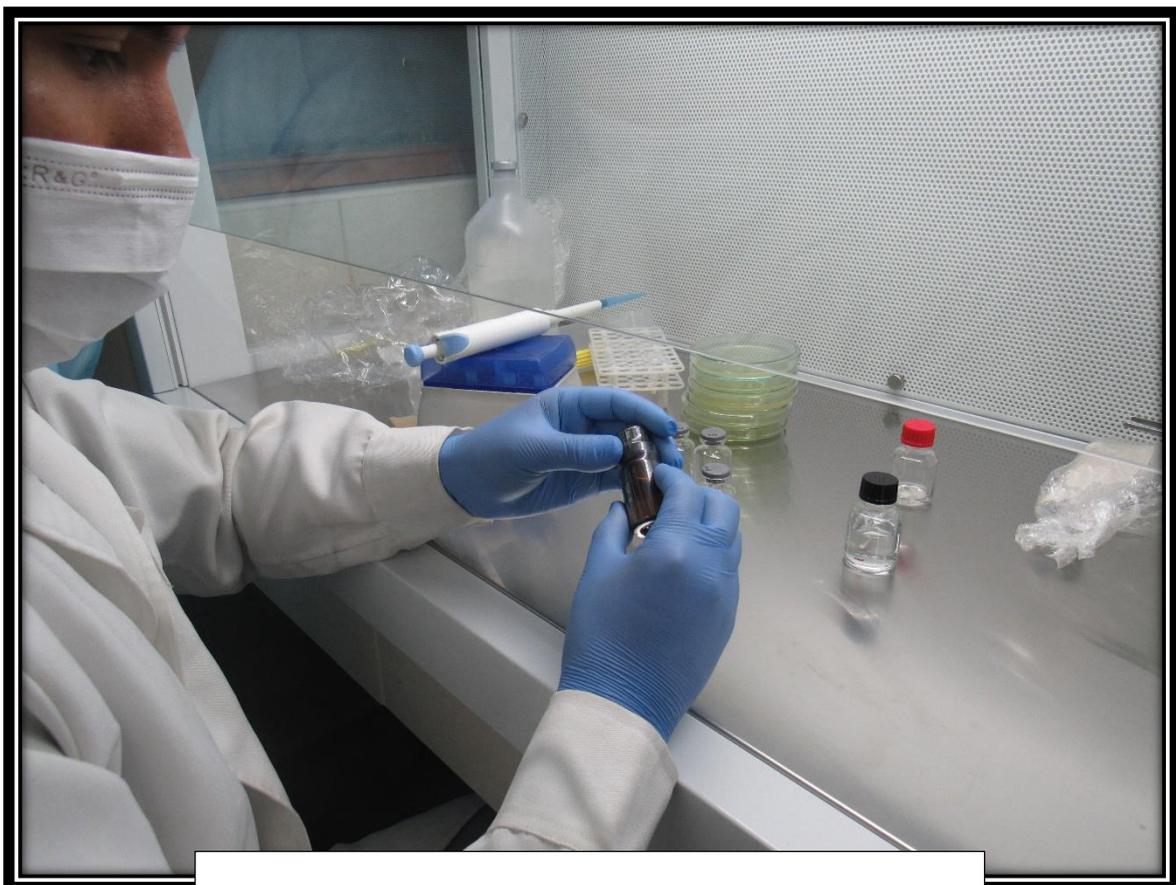
Colocación de discos en cada frasco rotulado con concentraciones diferentes



Toma de muestra de clorhexidina al 2 %, para empapar los discos, con la ayuda de pipeta.



Toma de muestra de clorhexidina al 2 %, para empapar los discos.



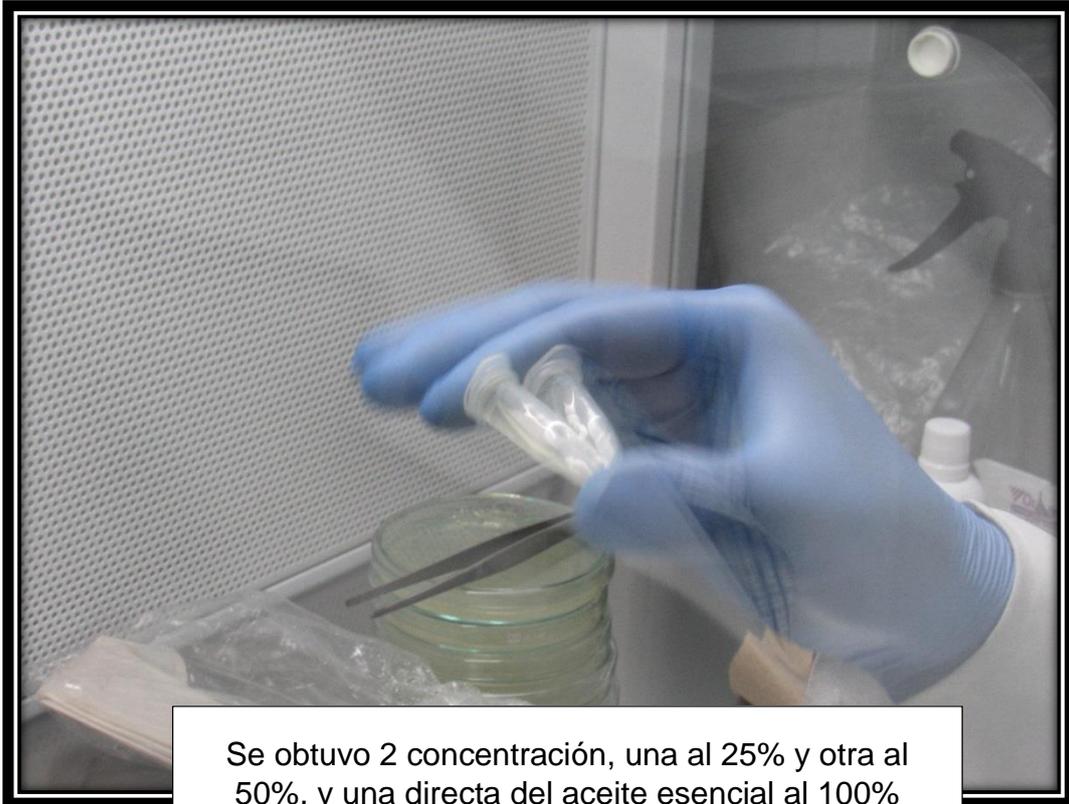
Aceite Esencial de Muña al 100%



Toma de muestra del Aceite Esencial de Muña al 100%, con la ayuda de la pipeta con puntas estériles.



Se disolvió el aceite esencial con dimetil sulfoxido, para obtenerlo a diferentes concentraciones.



Se obtuvo 2 concentración, una al 25% y otra al 50%, y una directa del aceite esencial al 100%



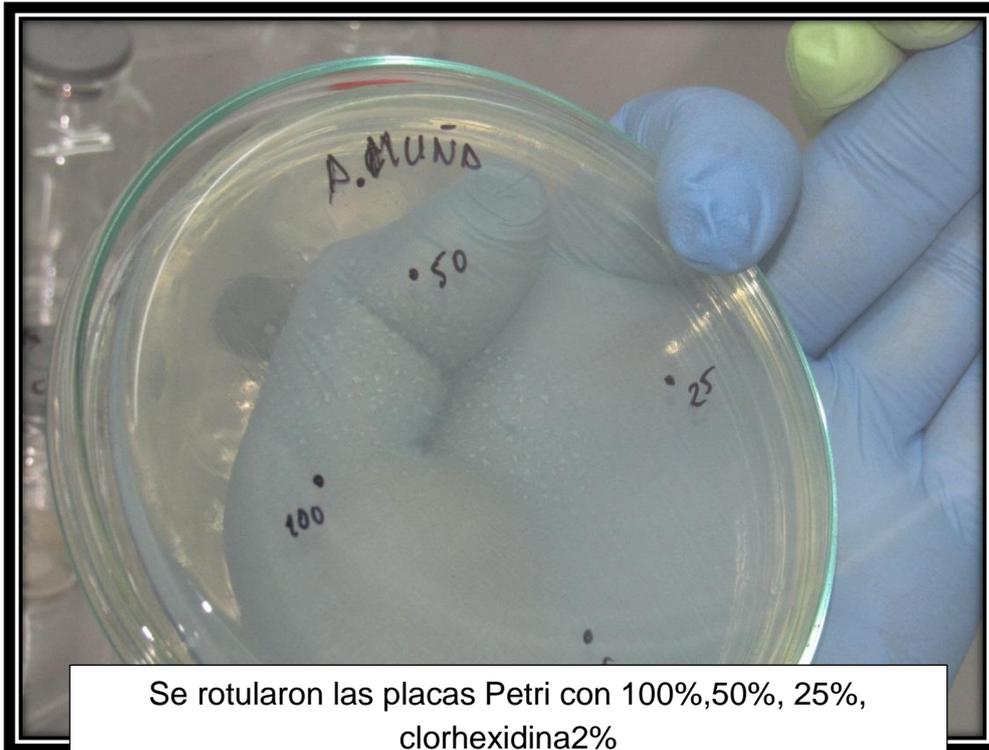
Se realizó la siembra con la ayuda de hisopos estériles



Se sembró densamente con cotoletes (hisopos grandes) la cepa de *Candida albicans* en toda la superficie de placas petri con medio Saboraud.



Se realizó la siembra en 5 placas.



Se rotularon las placas Petri con 100%,50%, 25%,
clorhexidina2%



Se colocaron los discos en sus lugares de acuerdo a lo
rotulado.



Colocación de discos con pinza estéril



Se realizó el procedimiento en 5 placas Petri .





Sellado de las placas



La incubación se realizó a 30 °C con observaciones a los 24, 48 y 72 horas.



Placa Número 01, se observó con más claridad el halo formado en el disco a concentración de 100%



Placa Número 02, se observó con más claridad el halo formado en el disco a una concentración de 100%



Placa Número 03, se observó con más claridad el halo formado en el disco a una concentración de 100%



Placa Número 03, se observó con más claridad el halo formado en el disco a una concentración de 100%



Placa Número 05, se observó con más claridad el halo formado en el disco a una concentración de 100%