



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* COMPARADO CON EL FLUCONAZOL SOBRE *Candida albicans* ATCC

10231

Línea de investigación: Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR:

Huamaní Bendezú, Kevin Fernando

ASESORA:

Dra. Vilchez Reynaga, Luzmila

JURADO:

Dr. Mendoza Murillo, Paul Orestes

Mg. Manrique Guzmán, Jorge Adalberto

Mg. Chuna Espinoza, Jorge Dante

Lima – Perú

2021

Agradecimientos

A mi asesora, Dra. Luzmila Vilchez Reynaga, quien me orientó y ayudó a consolidar este trabajo de investigación.

A mis profesores de la Facultad de Odontología, de los que obtuve una excelente formación académica y que en todo momento estuvieron brindándome su apoyo.

Dedicatoria

A mi mamá Lilia Sonia Bendezú Quispe, a mi papá Pablo Fernando Huamaní Morales, a mi hermano Bryan Huamaní Bendezú y a mis abuelos Esperanza Quispe Condori, Anastasio Bendezú Janampa, Sofía Morales Mendoza, Manuel Huamaní Alca que siempre me apoyaron y alentaron durante este proceso.

A mi familia y amigos que también me acompañaron en mi formación profesional.

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
I. Introducción	8
1.1 Descripción y formulación del problema	10
1.2 Antecedentes	10
1.3 Objetivos	13
- Objetivo General	13
- Objetivos Específicos	13
1.4 Justificación	14
1.5 Hipótesis	15
II. Marco Teórico	16
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	16
III. Método	27
3.1. Tipo de investigación	27
3.2. Ámbito temporal y espacial	27
3.3. Variables	27
3.4. Población y muestra	28
3.5. Instrumentos	29
3.6. Procedimientos	29
3.7. Análisis de datos	33

IV. Resultados	34
V. Discusión de resultados	41
VI. Conclusiones	43
VII. Recomendaciones	44
VIII. Referencias	45
IX. Anexos	53

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en comparación al fluconazol sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Se recolectaron 10 Kg. de la especie de *Minthostachys mollis* en la provincia de Tarma del departamento Junín durante el mes de octubre. A partir de las hojas secas del espécimen se elaboró el aceite esencial por el método de arrastre por vapor y se mantuvo a una temperatura de 4° C. Para el análisis de eficacia antifúngica se utilizó cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231 en los cuales se realizó 12 lecturas de halos de inhibición por cada grupo de evaluación y estos fueron registrados a las 24, 48 y 72 horas. Los grupos evaluados fueron el aceite esencial en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; se utilizó como grupo control positivo al fluconazol y el grupo control negativo fue el agua destilada. Los resultados encontrados fueron, a las 24 horas se encontró halos de inhibición promedios de 9.08 mm; 12.33 mm; 14.75 mm; 18.91 mm; 27.91 mm y 0 mm respectivamente. A las 48 horas, 8.33 mm; 12.08 mm; 14.41 mm; 18.16 mm; 27.58 mm y 0 mm respectivamente. Y a las 72 horas 7.33 mm; 9.83 mm; 12.41 mm; 17.00 mm; 23.67 mm y 0 mm respectivamente. Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene actividad antifúngica sobre los cultivos de *Candida albicans*.

Palabras clave: aceite esencial, antifúngico, fluconazol, *Candida albicans*.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the antifungal activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* compared to fluconazole on *Candida albicans* ATCC 10231. 10 kg of the *Minthostachys mollis* species were collected in the Tarma province of the Junín department during the month of October. From the dry leaves of the specimen, the essential oil was elaborated by the steam drag method and it was kept at a temperature of 4° C. For the antifungal efficacy analysis, *Candida albicans* ATCC 10231 cultures were used in which 12 Inhibition halo readings for each evaluation group and these were recorded at 24, 48 and 72 hours. The groups evaluated were essential oil in concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%; Fluconazole was used as a positive control group and distilled water was the negative control group. The results found were, at 24 hours, average inhibition halos of 9.08 mm were found; 12.33 mm; 14.75 mm; 18.91 mm; 27.91 mm and 0 mm respectively. At 48 hours, 8.33 mm; 12.08 mm; 14.41 mm; 18.16 mm; 27.58 mm and 0 mm respectively. And at 72 hours 7.33 mm; 9.83 mm; 12.41 mm; 17.00 mm; 23.67 mm and 0 mm respectively. It was concluded that the essential oil of *Minthostachys mollis* has antifungal activity on *Candida albicans* cultures.

Key words: essential oil, antifungal, fluconazol, *Candida albicans*.

I. Introducción

En los últimos años las infecciones fúngicas han aumentado en frecuencia e importancia, y muchas veces van relacionadas a una alta mortalidad y generalmente están ocasionadas por infecciones del torrente sanguíneo que en su mayoría son causadas por especies del género *Candida* (Lortholary, Renaudat, Sitbon, Madec y Denoeud, 2014).

A nivel mundial se han reportado prevalencias de candidiasis oral de 32.5 %, 83% y 88% que afectan a pacientes con daño cerebral, portadores de prótesis dentales, niños portadores del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) respectivamente (Gaitán, Sánchez y Castillo, 2015; Ibáñez, Robles y Lecona, 2017; Odgaard y Kothari, 2017).

Además, los pocos fármacos disponibles actualmente tienen una toxicidad importante que puede empeorar la situación sistémica de un paciente. Sumado a que en los últimos años se evidencian reportes de una resistencia antifúngica, por lo cual resulta importante conocer alternativas terapéuticas como la fitoterapia (Gómez, 2010; Tobar, Silva, Olivares, Gaete y Luppi, 2011).

Debido a que en la actualidad la tendencia de los pacientes se inclina hacia el consumo de fitoterapéuticos, libres de síntesis y aditivos químicos, recomendados de manera empírica y no basada en evidencia científica, resulta necesario demostrar los efectos terapéuticos de estos fitoterapéuticos para el uso con moderación por el bienestar y seguridad del paciente (Torrenegra *et al.*, 2016).

La Muña o científicamente conocido como *Minthostachys mollis* es un arbusto aromático restringido a América del Sur, de gran interés farmacológico, debido a sus aceites esenciales. En los andes, su uso no solo se limita como condimento o té, sino que es una de las plantas más importantes en la medicina popular de la zona; es por esto que recibe una atención creciente de la farmacología y la medicina moderna (Schmindt-Lebuhn, 2008).

Sin embargo, existe poca evidencia científica sobre la actividad antifúngica de *Minthostachys mollis*, por lo cual el presente estudio pretende demostrar la efectividad antifúngica del frente *Minthostachys mollis* comparado con el fluconazol sobre la *Candida Albicans* ATCC 10231.

1.1 Descripción y formulación del problema

La candidiasis oral es una enfermedad fúngica común causada generalmente por un crecimiento excesivo de *Candida albicans* en la boca. Dentro de los tratamientos recomendados se incluyen la higiene oral adecuada, el uso de agentes tópicos y medicamentos sistémicos (Millsop y Fazel, 2016).

El uso masivo de antifúngicos tanto en forma preventiva como terapéutica, ha originado la aparición de resistencias secundarias y probablemente el desplazamiento de cepas sensibles por otras más resistentes. En el estudio de vigilancia de resistencia ARTEMIS (1997-2005), que incluyó aislados provenientes de la región del Pacífico/Asia, Latinoamérica, Europa, Oriente Medio/África y Norteamérica, por un periodo de 8,5 años, se observó el incremento de resistencia de *Candida albicans* al fluconazol (Tobar *et al.*, 2011).

Nuestro país al tener una abundante diversidad vegetal cuenta con plantas medicinales que han demostrado sus capacidades antibacterianas y antifúngicas, una de estas plantas con potencial antifúngico es la *Minthostachys mollis* “Muña” (Aranibar, 2019; Hernández, 2018).

Es por eso que este estudio tiene como objetivo evaluar la actividad de esta *Minthostachys mollis* “Muña” como alternativa al uso del fluconazol, por lo cual nos planteamos la siguiente problemática:

¿Cuál será la actividad antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* comparado con el fluconazol sobre *Candida albicans* ATCC 10231?

1.2 Antecedentes

Aranibar (2019) en Perú realizó una investigación titulada “Eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Candida albicans* aisladas, Arequipa 2018” con el objetivo de determinar la eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Cándida albicans* aisladas. Fue un estudio

experimental, longitudinal, prospectivo y comparativo. La muestra estuvo conformada por 20 halos de inhibición distribuidas en 4 grupos. El primer grupo con aceite esencial de muña al 25%, el segundo al 50%, el tercero al 100% y un control positivo con clorhexidina al 2%. Las cepas *Candida albicans* ATCC 10231 fueron sembradas en un medio Saboraud y esterilizado en autoclave. La actividad antifúngica fue evaluada a las 24, 48 y 72 horas. Como resultados se obtuvieron que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presentó halos de inhibición mayores que la clorhexidina a las 24 y 48 horas; mientras que a las 72 horas la clorhexidina fue la que presentaba más halos de inhibición. Llegando a la conclusión de que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene actividad antifúngica.

Hernández (2018) en Perú realizó una investigación titulada “Efecto antifúngico del aceite esencial del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre las cepas de *Cándida albicans* ATCC 10231. Estudio *in vitro*” con el objetivo de determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en las concentraciones del 75% y 100% sobre las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 a las 24 y 72 horas de incubación. Fue un estudio *in vitro*, experimental y comparativo, en donde se realizó una comparación entre 160 muestras distribuidas en 4 segmentos en 40 placas Petri. Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 fueron sembradas en placas con agar Dextrosa Sabouraud a 37° C durante 24 y 72 horas. La actividad antifúngica fue evaluada con cuatro grupos; el primero era aceite esencial en la concentración de 100% y el segundo al 75%, el tercero era un control positivo con clorhexidina y el cuarto un control negativo con agua destilada. Los resultados a las 24 horas fueron halos de inhibición de 12.98 mm, 11.10 mm, 18.08 mm y 0 mm respectivamente; mientras que a las 72 horas los resultados fueron 12.93 mm, 10.85 mm, 18.55 mm y 0 mm respectivamente. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene actividad antifúngica sobre la *Cándida albicans* ATCC 10231.

Neyra y Armas (2018) en Perú realizaron una investigación titulada “Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica y fungiestática del extracto metanólico de la *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 10231” con el objetivo de evaluar *in vitro* la actividad fungiestática y fungicida del extracto metanólico de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Candida albicans*. La muestra establecida fue de 25 pocillos por grupo. La actividad fungiestática fue evaluada por medio de la técnica difusión en agar. Los resultados que se obtuvieron para los extractos de hojas, tallos y raíces fueron halos de inhibición de 47.72 ± 6.67 mm, 46.58 ± 6.42 mm y 26.18 ± 7.03 mm respectivamente; y para el grupo control (clotrimazol) se observó un halo de 52 mm. Concluyendo que el extracto de *Minthostachys mollis* presenta actividad antifúngica, aunque el clotrimazol tiene mayor eficacia antifúngica.

Alcalá, Alvarado, Alejandro y Huayané (2011) en Perú realizaron una investigación titulada “Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*” con el objetivo de demostrar el efecto antimicótico del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. El estudio fue experimental y el efecto antimicótico se estudió midiendo 80 halos de inhibición distribuidos en 5 grupos mediante el método Kirby-Bauer. Se utilizó una cepa clínica de *Candida albicans*, estos grupos fueron tres grupos con el aceite esencial de muña al 25%, 50% y 100%, un grupo control positivo con fluconazol y otro grupo control negativo con aceite mineral. Como resultado se obtuvo medianas de los halos de inhibición para el aceite esencial de muña entre 32 mm y 46,8 mm, del grupo fluconazol se obtuvo un halo de inhibición de 39 mm y del control negativo no se obtuvo halos de inhibición. Llegando a la conclusión de que el aceite esencial de muña tuvo mayor efecto contra la *Candida albicans* que el fluconazol.

Cano, Bonilla, Roque y Ruiz (2006) en Perú realizaron una investigación titulada “Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña)” con el objetivo de demostrar la actividad antimicótica *in vitro* y la elucidación de algunos de los metabolitos del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). La determinación de la actividad antifúngica se realizó mediante el método de difusión en agar saboraud. Los resultados encontrados fueron un halo de inhibición de 30 mm con el aceite esencial de muña al 100% y de 35 mm al 50%, en el grupo control con alcohol no se observó halo de inhibición. Concluyendo que el aceite esencial de muña tiene actividad antifúngica.

1.3 Objetivos

- Objetivo General

Evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* comparado con el fluconazol sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

- Objetivos Específicos

- Determinar los valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 24h.
- Determinar los valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 48h.

- Determinar los valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 72h.
- Comparar los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 24 horas.
- Comparar los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 48 horas.
- Comparar los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 72 horas.

1.4 Justificación

Debido a que existen pocos estudios que se han enfocado en la efectividad antimicrobiana de un aceite esencial de *Minthostachys mollis*, los resultados del presente trabajo de investigación permitieron aumentar la evidencia científica sobre la efectividad antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* como alternativa al uso del Fluconazol frente a *Candida albicans*. Ya que un producto farmacéutico de origen natural posee menor toxicidad sistémica. Esta alternativa es de importancia en el tratamiento de pacientes cuyo sistema inmunológico está comprometido ya sea por trasplantes de órganos, patologías infecciosas y otras enfermedades que los vuelven propensos a enfermedades oportunistas como la candidiasis. Los cuales han sido tratados con una medicación antifúngica profiláctica, generado con el pasar de los años una resistencia antifúngica. Obligando así a una búsqueda y uso de medicinas alternativas para su tratamiento.

1.5 Hipótesis

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta mayor efectividad antifúngica que el fluconazol, sobre *Candida Albicans* ATCC 10231.

II. Marco Teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Muña.

La Muña pertenece al género *Minthostachys*, género de 17 especies de arbustos aromáticos restringidos a América del Sur, de gran interés etnobotánico, farmacológico y comercial debido a sus aceites esenciales. En los andes, su uso no solo se limita como condimento o té, sino que es una de las plantas más importantes en la medicina popular de la zona; es por esto que recibe una atención creciente de la farmacología y la medicina moderna (Schmindt-Lebuhn, 2008).

En Argentina y Perú el aceite esencial se extrae a escala comercial. Desafortunadamente, el género es taxonómicamente complicado y exhibe una alta variabilidad morfológica que ha obstaculizado severamente la comprensión de su diversidad. El tratamiento taxonómico pasado más completo fue el de Epling en 1936 que reconoció 12 especies, pero el mismo investigador en el año 1963 luego cambió su opinión y sugirió tratar a *Minthostachys* como monotípico. En consecuencia, en muchos casos, todas las especies de *Minthostachys* se incluyen bajo el nombre general de *Minthostachys mollis*, independientemente de su procedencia (Schmindt-Lebuhn, 2008).

2.1.1.1 Clasificación de *Minthostachys mollis* (muña).

Condori y Vilca (1995) describen su clasificación taxonómica de la siguiente forma:

Dominio: Eukarya

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Tubiflorae

Familia: Lamiaceae

Género: *Minthostachys*

Especie: *Minthostachys mollis*

Nombre vulgar: “Muña”, “Chancua”.

2.1.1.2 Características botánicas y distribución geográfica.

La muña es una planta leñosa, aromática, hemicriptofita y arbustiva, puede medir entre 0,80 a 1,20 metros. Presenta tallos semileñosos, de aspecto prismático y cuadrilátero, glauco y pubescente. Las hojas que presenta son tupidas, de aspecto aovado, agudo, de borde aserrado cubierto por pilosidades y un color verde pálido (Condori y Vilca, 1995).

Sus flores están ubicadas en la zona superior de las ramas reunidas por verticilos, estas son pequeñas y de color blanco, irregular o zigomorfo que se encuentran unidas en seudo verticilos axilares, y forman cuatro cimas pequeñas, con pedúnculos cortos (Cano, 2007).

Su crecimiento natural se da en un plano altitudinal entre los 2500 y 3900 msnm. En el Perú se han reconocido 6 especies desde Cajamarca hasta Cuzco, cuyas especies son:

- *Minthostachys glabrescens*
- *Minthostachys salicifolia*
- *Minthostachys cetosa*
- *Minthostachys spicata*
- *Minthostachys tomentosa*
- *Minthostachys mollis* (HKB) Griseb

Existiendo un total de 12 especies distribuidos en los países de Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador, Perú, Bolivia y Argentina (Azaña, 2010).

2.1.1.3 Composición.

El aceite esencial de la muña tiene en su composición 89.9% de una fracción terpenica y el resto de 10.2% de una fracción no terpenica. Los monoterpenos principales son la pulegona, mentona y carvona; también presenta el limoneno, isomentona, α -pineno, β -pineno, ácido piperínico, mentol y eucaliptol. Los compuestos volátiles presentes en proporciones significativas son el carvacrol, acetato de carvacrilo y trans- β -cariofileno (Cano, 2007).

Torrenegra-Alarcón *et al.* (2016) identifica los siguientes componentes mayoritarios destacados en el Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*, identificados con espectro de masas: 1.73% de α -pineno, 0.56 % de Limoneno, 21.24% de Carvacrol, 10.04% de Eucaliptol, 13.11% de Timol, 9.84% de Pulegona, 11.85% de Germacreno-D, 1.83% de Biciclogermacreno, 1.83% de Acetato de cariofileno, 1.77% de Longifolol, 11.32% de Acetato de α -Eudesmol, 10.94% de Acetato de (-)-Isolongifolol y 3.94% de Acetato de exo-Norbornanol.

Carvacrol, es un componente dominante, también se encuentra en varias hierbas conocidos como el orégano (*Origanium vulgare*), la ajedrea de jardín (*Satureja hortensis*) o tomillo del monte serpolio (*Thymus serpyflum*). Y el 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* (Mora, 2009).

2.1.1.4 Mecanismo de acción.

No se conoce cómo actúa el aceite esencial de muña, pero se sabe que el monoterpeno carvacrol, el componente principal de los aceites de orégano y tomillo, ejerce una potente actividad antifúngica contra la levadura patógena *Candida albicans*. Este monoterpeno ha sido objeto de numerosas investigaciones que descubrieron amplias propiedades

farmacológicas, incluidos los efectos antifúngicos y antibacterianos. Imágenes de células vivas de fluorescencia confocal revelaron que el carvacrol afecta la morfología y la integridad del retículo endoplásmico (Chaillot *et al.*, 2015).

2.1.1.5 Propiedades y usos.

El uso de la muña antiguamente debe haber sido descubierta fácilmente por la gente de los Andes debido a sus propiedades aromáticas. Los etnobotánicos han documentado una sorprendente variedad de usos tradicionales para las plantas *Minthostachys*, estos incluyen el uso como carminativo, digestivo, antiespasmódico, con fines antimicóticos y antiparasitarios, como vermífugo o sedante y contra la diarrea, los cólicos y las enfermedades respiratorias (específicamente la bronquitis y el asma). También se describe el uso de esta planta para condimentar las comidas, infusiones, conservación de las papas almacenadas de las plagas, contra infestaciones de pulgas, excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas y soroche (Mora, 2009; Schmindt-Lebuhn, 2008).

2.1.2 Antifúngicos.

Los agentes antifúngicos o antimicóticos son sustancias que producen alteraciones en las estructuras de las células fúngicas de tal manera que consiguen una inhibición de su desarrollo, que altera su capacidad de sobrevivencia directa o indirectamente, facilitando al funcionamiento del sistema de defensa del huésped (Gregorí, 2005).

2.1.2.1 Clasificación de los antifúngicos.

Los antifúngicos están compuestos por una variedad de sustancias químicas y mecanismos de acción. Por ello, se realiza una clasificación siguiendo las estructuras de estos, de acuerdo al origen natural o por síntesis química. Tenemos a los polienos que incluyen a la nistatina,

natamicina, anfotericina B; a los azoles como imidazol (miconazol y clotrimazol), triazoles (fluconazol e itraconazol), ketoconazol y triazoles de segunda generación (voriconazol, ravuconazol y posaconazol); a las alilaminas como la terbinafina y naftifina; a los lipopéptidos como papulacandinas, triterpenos glicosilados y equinocandinas (caspofungina, anidulofungina y micafungina); a las pirimidinas fluoradas como la flucitosina; y entre otros como el yoduro de potasio, ciclopirox, tolnaftato y griseofulvin (Gregorí, 2005).

El otro tipo de clasificación es de acuerdo al sitio de acción o blanco del fármaco, siendo los lipopéptidos que actúan en la pared celular, los polienos, azoles y alilaminas en la membrana celular, y las pirimidinas fluoradas en el núcleo (Gregorí, 2005).

2.1.2.2 Mecanismo de acción de los azoles.

Estos fármacos inactivan la enzima C-14- α -dimetilasa, creando de esta manera la inhibición del citocromo P-450-3-A de la célula fúngica e interrumpiendo la síntesis del ergosterol en la membrana celular. La ausencia del ergosterol genera la acumulación de esteroides tóxicos intermedios, y se incrementa la permeabilidad de la membrana interrumpiendo así el crecimiento del hongo (Gregorí, 2005).

2.1.2.3 Fluconazol.

Es un derivado bis-triazol con actividad demostrada in vitro sobre *Candida*, *Cryptococcus*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *dermatofitos* e *Histoplasma*. Tiene una excelente actividad contra *Candida spp.*, aunque *C. glabrata* es solo parcialmente susceptible y *C. krusei* es resistente al fluconazol. Se absorbe muy bien por vía oral incluso si hay alimentos. Se distribuye fácilmente alcanzando concentraciones similares a las plasmáticas en el líquido cefalorraquídeo, saliva, esputo y vagina, lo que se debe a su escasa unión a

proteínas plasmáticas. En el cuerpo vítreo ocular alcanza concentraciones en torno a un 40% de las plasmáticas (Flórez, Armijo y Mediavilla, 2014).

Su eliminación es por vía renal, recuperándose aproximadamente el 70% del fármaco sin modificar en la orina. La semivida de eliminación es de 30 horas; aumenta en la insuficiencia renal, por lo que se requiere reducir la dosis. El fármaco puede ser eliminado por hemodiálisis, diálisis peritoneal y hemofiltración continua. Comparado con otros miembros del grupo, el escaso metabolismo hepático del fluconazol explica el menor número de interacciones, de interés clínico, que este fármaco produce. La incidencia de efectos adversos es escasa, siendo los más frecuentes las náuseas, cefaleas, exantema cutáneo, dolor abdominal, vómitos y diarrea. También se ha descrito, con una incidencia mucho más baja, el aumento de transaminasas; las alteraciones hepáticas y la aparición de exantema cutáneo requieren la vigilancia del paciente y, en caso necesario, la suspensión del tratamiento (Flórez *et al.*, 2014).

2.1.2.4 Indicaciones terapéuticas del fluconazol.

- **Candidiasis:** se han descrito disminución en la sensibilidad al fluconazol, sobre todo en *C. albicans*. Otras especies de *Candida* (*glabrata krusei*, etc.) resistentes al fluconazol pueden presentar resistencia cruzada a otros azoles. A pesar de esto, el fluconazol continúa siendo de elección en los siguientes tipos de candidiasis si la respuesta es favorable. Del cual se indica lo siguiente:

En caso de candidiasis orofaríngea: dosis de 50-100 mg/día vía oral durante 7-14 días. Se puede utilizar una dosis de carga el primer día de 200 mg. En los pacientes inmunodeprimidos, en los que esta infección es más frecuente, se debe prolongar el tratamiento durante 2 semanas. Si la candidiasis es esofágica, se indica 400 mg el primer

día y posteriormente 100 – 400 mg/día durante 14 a 21 días. La duración del tratamiento será de 2 semanas tras la desaparición de los síntomas (Flórez *et al.*, 2014).

En candidiasis vulvovaginal se indica una dosis única de 150 mg, y en casos recurrentes 150 mg/semana durante 6 meses. En inmunosuprimidos o en casos de inflamación grave, 150 mg/72h, dos o tres dosis. Si la candidiasis es urinaria la dosis recomendada es 200 mg durante 14-21 días (Flórez *et al.*, 2014).

En casos de candidiasis sistémica la clínica demuestra que el fluconazol es eficaz, por vía intravenosa u oral, en el tratamiento de la candidiasis sistémica, constituyendo una alternativa a la anfotericina B. En pacientes no graves sin focos metastásicos, si la *Candida* es sensible al fluconazol, este es de primera elección. Está especialmente indicado en los pacientes en que la nefrotoxicidad de la anfotericina contraindique su utilización. La dosis recomendada en este caso es de 800mg/12h el primer día, seguidos de 400 mg/día, vía intravenosa u oral, durante dos semanas o, al menos, 2 semanas después de la resolución de los síntomas o del primer hemocultivo negativo (Flórez *et al.*, 2014).

- Criptococosis: el fluconazol a dosis de 400 mg/día es de elección si el paciente es inmunocompetente, no está grave y la infección no es meníngea. En caso contrario, el tratamiento de elección es anfotericina B asociada a flucitosina, al menos en las 2 primeras semanas, completando el tratamiento con fluconazol 400-800 mg/día hasta completar 6-10 semanas, y si existe inmunodepresión, se debe mantener el tratamiento mientras esta persista (Flórez *et al.*, 2014).
- Profilaxis de infección fúngica: en pacientes inmunosuprimidos de alto riesgo, durante la enfermedad injerto contra huésped asociada al trasplante de médula ósea y durante la neutropenia asociada a terapia mielosupresora (Flórez *et al.*, 2014).

2.1.2.5 Resistencia antifúngica.

La resistencia microbiológica se refiere a la no susceptibilidad de un hongo a un agente antifúngico mediante pruebas de susceptibilidad *in vitro*, en las que la concentración inhibitoria mínima (MIC) del fármaco excede el punto de ruptura de susceptibilidad para ese organismo. La resistencia microbiológica puede ser primaria (intrínseca), donde los hongos son resistentes a un medicamento antes de la exposición y secundaria (adquirida), que se desarrolla en respuesta a la exposición a un agente antimicrobiano (Pai, Ganavalli y Kikkeri, 2018).

Los factores fúngicos, los factores del huésped y el factor farmacológico desempeñan un papel en la resistencia a los hongos aisladamente o en asociación con otros. El mecanismo molecular fúngico puede resultar de la amplificación génica, la transferencia génica, la delección génica, las mutaciones puntuales, la pérdida de elementos reguladores de acción *cis* y *trans*, y la activación transcripcional. Todos estos efectos podrían estar en genes directamente involucrados en el combate contra los compuestos citotóxicos y / o podrían estar en genes involucrados en su regulación o procesamiento (Martinez, Peres y Rossi, 2008).

Los mecanismos de resistencia no se intercambian entre *Candida*; por lo tanto, la resistencia adquirida emerge en respuesta a una presión de selección antimicótica en el paciente individual o, más raramente, ocurre debido a la transmisión horizontal de cepas resistentes entre pacientes. Aunque resistencia a múltiples fármacos es poco frecuente, se han producido informes crecientes de resistencia a múltiples fármacos a los azoles, equinocandinas y polienos en varias especies de *Candida*, especialmente *Candida glabrata* y más recientemente *Candida Auris* (Arendrup y Patterson, 2017).

Dentro del arsenal antimicótico limitado, los antifúngicos azólicos son la clase más frecuente utilizada para tratar las infecciones por *Candida*. Los antifúngicos azólicos, como el fluconazol, a menudo son el tratamiento preferido para muchas infecciones por *Candida*, ya que son económicos, exhiben una toxicidad limitada y están disponibles para administración oral. Sin embargo, existe una extensa documentación de resistencia intrínseca y desarrollada a los antifúngicos azólicos entre varias especies de *Candida*. A medida que aumenta la frecuencia de los aislados de *Candida* resistentes a los azoles en el entorno clínico, es esencial dilucidar los mecanismos de dicha resistencia. para preservar y mejorar la clase de antifúngicos azólicos para el tratamiento de infecciones por *Candida* (Whaley *et al.*, 2017).

Los productos naturales microbianos, fuente de antifúngicos, tienen su mecanismo antifúngico bien descrito en la literatura: interacción con ergosterol (polienos), inhibición de la 1,3- β -d-glucano sintasa (equinocandinas), inhibición de la síntesis de componentes de la pared celular (quitina y manoproteínas), inhibición de la síntesis de esfingolípidos (serina palmitoiltransferasa, ceramida sintasa, inositol fosfoceramida sintasa) e inhibición de la síntesis de proteínas (sordarinas). Los productos naturales de las plantas ejercen principalmente sus efectos antifúngicos mediante un mecanismo activo de membrana (Zida, Bamba, Yacouba, Quedraogo y Guiguemdé, 2017).

2.1.3 *Candida albicans*.

Candida albicans se identificó en el siglo XIX, pero más investigaciones sobre su biología se hicieron a partir de la segunda mitad del siglo XX. La infección en humanos fue descrita por primera vez como la candidiasis oral por Hipócrates en el siglo V antes de Cristo. En 1853, Charles Robin observó microscópicamente células y filamentos en los raspados epiteliales, y lo llamó *Oidium albicans*. Posteriormente, más de 160 sinónimos se utilizaron

antes de que *Candida albicans* se convirtiera en el nombre aceptado para esta especie (Barnett, 2008).

Es el principal hongo patógeno de los seres humanos el cual, causa enfermedades en huéspedes comprometidos con procesos patológicos locales o sistémicos. Es un hongo comensal y que con frecuencia pertenece a la flora benigna de la piel y mucosas (Sudbery, 2011; Vyas, Barrasa y Fink, 2015).

Candida albicans es el agente causal más común en infecciones intrahospitalarias, ya que el 40% de los pacientes se han contaminado con cepas de *Candida* a través de catéteres produciendo fungemia con alta mortalidad siendo el responsable de aproximadamente el 60% de los casos de candidemia. En los últimos 30 años se ha visto un notable incremento en la incidencia de candidiasis invasiva. Aunque globalmente *C. albicans* sigue siendo la especie más importante (Cornistein, Mora, Orellana, Capparelli y Del Castillo, 2013; Merino, Cedillo, Silva, Muñoz y Castañeda, 2014).

Puede causar dos tipos principales de las infecciones en los seres humanos: infecciones superficiales, como la candidiasis oral o vaginal e infecciones sistémicas potencialmente mortales (Mayer, Wilson y Hube, 2013).

2.1.3.1 Patogenia.

La habilidad de *C. albicans* para crecer sobre superficies y formar biopelículas está asociada con su virulencia, porque es un comensal de mucosas y de la superficie intestinal que puede servir como fuente para infecciones invasivas. *Candida albicans* en su fase de comensal se presenta como levadura; pero en su fase patógena se divide por gemación produciendo pseudohifas y micelio verdadero (Kim y Sudbery, 2011).

El equilibrio entre la infección, la colonización y la eliminación depende de la capacidad de las cepas de *Candida* para modular la expresión de factores de virulencia en la respuesta a

los cambios del medio ambiente, combinado con la competencia del sistema inmune del huésped. Para permitir la invasión a los tejidos del huésped, las cepas de *Candida* poseen constitutivamente enzimas hidrolíticas que destruyen o alteran los constituyentes de las membranas. Las enzimas secretadas por *C. albicans*, reflejan su grado de patogenicidad, siendo las principales enzimas las proteasas y fosfolipasas (Canton, García, Martín, Pemán y Guinea, 2014).

2.1.3.2 Diagnóstico y tratamiento.

El diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Candida albicans* fundamentalmente se basa en el cultivo microbiológico. Sin embargo, se han desarrollado técnicas alternativas como la detección de biomarcadores circulantes o ADN fúngico. El diagnóstico temprano permite realizar un tratamiento empírico adecuado en etapas tempranas de la enfermedad y esto genera una mayor posibilidad de afectar la alta mortalidad de esta patología. Para el tratamiento farmacológico de la candidiasis existen tres grandes grupos de agentes antimicóticos: polienos (nistatina y anfotericina), imidazoles (clotrimazol, miconazol y ketoconazol) y triazoles (fluconazol) (Casnati *et al.*, 2011).

Los fármacos sintéticos presentan muchas ventajas, sin embargo, se debe tener en cuenta que en oportunidades puede ser perjudicial para la salud al interactuar con otras sustancias químicas (Pemberton, Oliver y Theaker, 2004).

III. Método

3.1 Tipo de investigación

El estudio fue de tipo experimental in vitro, longitudinal, comparativo y prospectivo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se realizaron en el Centro de Control Analítico (CCA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en el año 2019.

3.3 Variables

Variable dependiente.

- Efecto antifúngico

Variable independiente.

- *Minthostachys mollis*
- Fluconazol

Variables	Definición	Indicador	Escala	Valores
Efecto antifúngico	Capacidad que presenta una sustancia o fármaco para inhibir o producir la muerte en un hongo	Halo de inhibición en cultivos de <i>Candida Albicans</i> ATCC 10231	Razón	0-X mm
Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Sustancia experimental de origen natural.	Concentración	Nominal	25% 50% 75% 100%
Fluconazol	Sustancia experimental de origen sintético.	Concentración	Nominal	100mg/50mL

3.4 Población y muestra

El tamaño muestral se calculó a partir de una fórmula de comparación de medias, en donde se consideró un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80%. Los parámetros de media y desviación estándar fueron tomados de un estudio previo (Alcalá *et al.*, 2011). Por lo cual se determinó 12 lecturas por grupo de prueba. Como se evaluaron seis grupos, obtenemos como resultado un total de 72 lecturas.

3.5 Instrumentos

El instrumento de recolección de datos para el estudio consta de una ficha para registrar los datos obtenidos de manera visual

- Ficha de recolección de datos (Anexo 01)
- Vernier digital Stainless Hardened

3.6 Procedimientos

3.6.1 Recolección del espécimen.

Se recolectó 10 Kg de la planta de Muña en la ciudad de Tarma en el Departamento de Junín durante el mes de octubre del 2019.

3.6.2 Preparación del aceite esencial.

A partir de 10 Kg de especímenes de planta, estas se desecaron bajo sombra a temperatura ambiente (21°C), en los ambientes de la Unidad de Procesos físico-químicos del CCA de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por siete días, hasta obtener la muestra seca y fueron conservadas en bolsas de papel kraft hasta su utilización. Luego se seleccionaron las hojas secas que luego fueron sometidas a destilación por el método de arrastre a vapor de agua en un sistema de destilación que consta de una caldera de 8 litros de capacidad, una tolva, un refrigerante y las mangueras de conexión; después de 3 horas de destilación, se obtuvo agua más aceite. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, utilizando un embudo de decantación de vidrio. Finalmente se obtuvo 10 mL de aceite esencial de *Minthostachys mollis* y se guardó en un frasco de vidrio color ámbar manteniéndolo en refrigeración a una temperatura de 4°C (Alzamora, Morales, Armas y Fernández, 2001). (Anexo 02)

3.6.3 Análisis antimicrobiano.

3.6.3.1 Fase preanalítica: preparación de materiales.

Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas. De la misma manera las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos.

3.6.3.2 Fase preanalítica: preparación de los medios cultivo.

Se preparó 10mL de caldo Sabouraud según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en un tubo de ensayo y se esterilizó en autoclave.

Se preparó 50mL de agar Sabouraud para la fase de activación según las instrucciones del fabricante (52 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.

Se preparó 900 mL de agar Mueller Hinton para la fase analítica en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a Baño María a 45 - 50°C. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25- 30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición se pudo realizar sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

Se preparó 10mL de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10mL, se esterilizó en autoclave.

3.6.3.3 Fase preanalítica: activación de la cepa.

La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con agar Sabouraud. Se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo con caldo Sabouraud estéril y se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas. La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo Sabouraud a placas con agar Sabouraud. Se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas.

3.6.3.4 Fase preanalítica: preparación de las muestras.

El aceite se trabajó a 4 concentraciones: 100%, 75%, 50% y 25%
Para realizar las diluciones a partir del aceite se usó dimetilsulfóxido y dichas diluciones se realizaron de la siguiente forma:

100%: se colocó 2mL del aceite en un vial de vidrio.

75%: se colocó 1.5mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 0.5 mL de DMSO.

50%: se colocó 1mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 1 mL de DMSO.

25%: se colocó 0.5mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 1.5mL de DMSO

3.6.3.5 Fase analítica: preparación del inóculo.

A partir de colonias puras del microorganismo *Candida albicans* ATCC 10231 se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la solución resultante tuvo una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración

aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/mL.

Luego, a partir de estas, la última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados fueron estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de 1×10^8 ufc/mL.

3.6.3.6 Fase analítica: inoculación de las placas.

Se agregó 100 μ L del inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a 24 placas con agar Mueller Hinton y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se esparció el inóculo por todas las placas de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más.

Con mucho cuidado se sembró las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la realización de las lecturas. Y se dejó secar 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

3.6.3.7 Fase analítica: formación de pocillos.

Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hizo los pocillos, se hizo tres por cada placa. Los pocillos deben estar a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

3.6.3.8 Fase analítica: sembrado de las muestras y controles.

Cada concentración, control positivo y blanco se sembró 12 veces añadiendo aproximadamente 40 μ L en cada pocillo. Como control negativo o muestra blanco se usó

dimetilsulfóxido. Como control positivo se usó fluconazol 2mg/mL.

3.6.3.9 Fase analítica: incubación.

Las 24 placas de las muestras y los controles se llevaron a una incubadora a 35°C durante 24, 48 y 72 horas.

3.6.3.10 Fase postanalítica.

Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, cada placa fue examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la zona de inhibición completa se midieron en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

3.7 Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo de los datos, presentando medidas de resumen (media, desviación estándar, mediana, mínimo y máximo) para cada grupo de trabajo y se elaboró gráficas de barras con sus respectivas barras de utilizando la media como medida adecuada.

Se evaluó la normalidad de los datos por cada grupo. Y se analizó con un nivel de significancia para cada prueba de 0.05.

Se comparó los grupos a través de la técnica de análisis de varianza y la prueba F ya que se determinó que existía una distribución normal.

IV. Resultados

Tabla 1

Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 24h

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Fluconazol	12	27.917	0.515	28	27	29
Aceite 25%	12	9.083	0.515	9	8	10
Aceite 50%	12	12.333	0.651	12	11	13
Aceite 75%	12	14.750	0.452	15	14	15
Aceite 100%	12	18.917	0.669	19	18	20
Agua destilada	12	0.000	0.000	0	0	0

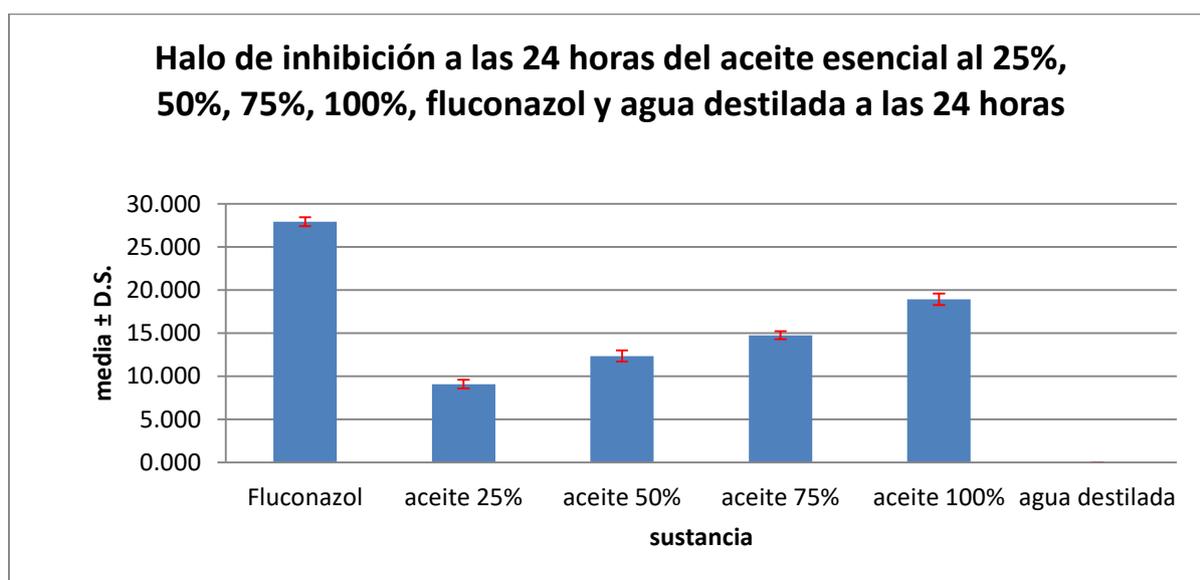


Figura 1. Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 24h

Después de 24 horas se observó la formación del halo inhibitorio en milímetros sobre *Candida albicans* ATCC 1023, para el aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol. Se encontró que el más efectivo fue el fluconazol, encontrándose un promedio de 27.917 mm y una desviación estándar de 0.515 mm; en segundo lugar el aceite al 100% mostro un halo promedio de 18.917 mm y una desviación estándar de 0.669 mm; en último lugar se encuentra el aceite al 25% con un promedio de 9.083 mm y una desviación estándar de 0.515 mm y el agua destilada que no muestra formación del halo.

Tabla 2.

Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del Minthostachys mollis al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 48h

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Fluconazol	12	27.583	0.515	28	27	28
aceite 25%	12	8.333	0.492	8	8	9
aceite 50%	12	12.083	0.515	12	11	13
aceite 75%	12	14.417	0.515	14	14	15
aceite 100%	12	18.167	0.718	18	17	19
agua destilada	12	0.000	0.000	0	0	0

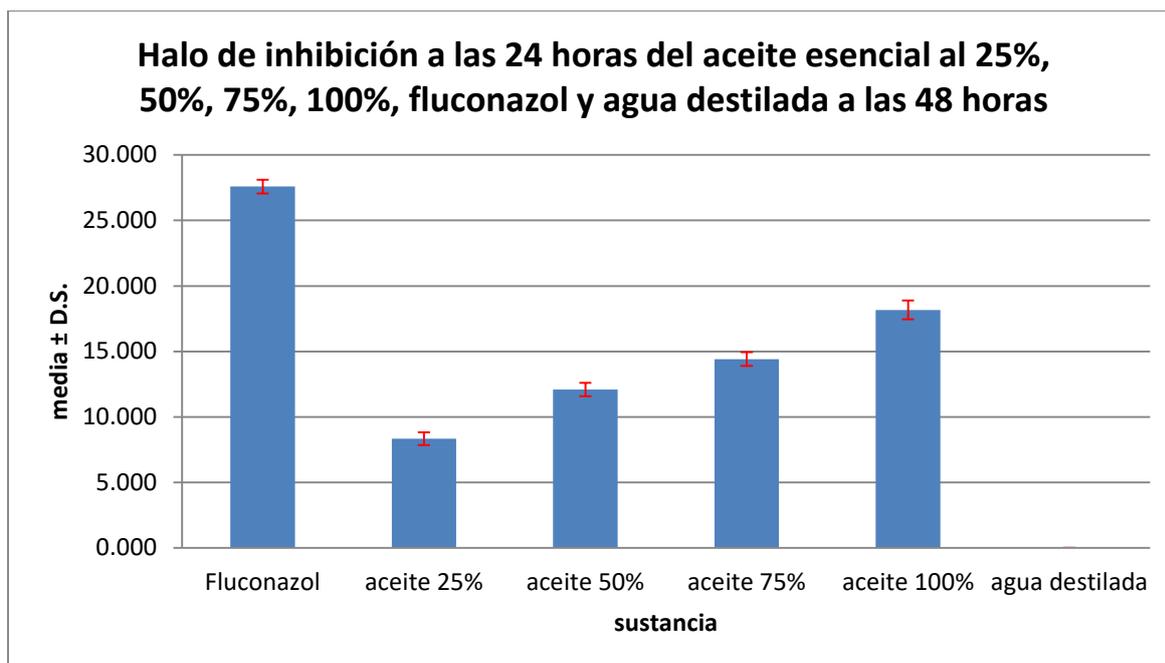


Figura 2. Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 48h

A las 48 horas se observa que al igual que a las 24 horas, los que mostraron un mayor promedio del halo inhibitorio fueron el fluconazol y el aceite al 100%, manteniéndose la diferencia de 5 mm entre uno y otro. También se observa que, a menor concentración del aceite, menor promedio del halo inhibitorio.

Tabla 3.

Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 72h

Variable	N°	Media	D.S.	Mediana	Mínimo	Máximo
Fluconazol	12	23.667	0.651	24	23	25
aceite 25%	12	7.333	0.492	7	7	8
aceite 50%	12	9.833	0.389	10	9	10
aceite 75%	12	12.417	0.669	12.5	11	13
aceite 100%	12	17.000	0.426	17	16	18
agua destilada	12	0.000	0.000	0	0	0

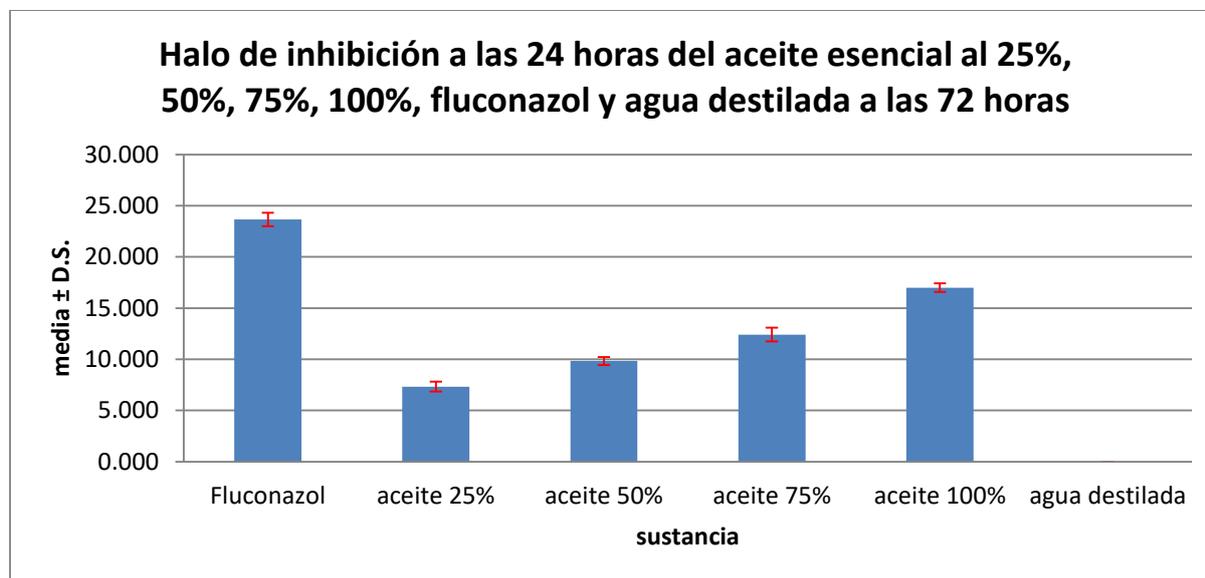


Figura 3. Valores del halo inhibitorio en mm del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 72h

A las 72 horas se observa que, si bien el promedio del halo inhibitorio del fluconazol disminuye a 23.667 mm con una desviación estándar de 0.651, continúa siendo el mejor; seguido por el aceite al 100% que no varía mucho el promedio con respecto a las 24 y 48 horas, mostrando un promedio de 17 mm y una desviación estándar de 0.426 mm. Además, se observa que el aceite al 75%, 50% y 25 % disminuyen su potencial inhibitorio con respecto a las 24 y 48 horas.

Tabla 4

*Comparación de los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 24h*

Grupo	N°	Media	D.S.	F	P
Fluconazol	12	27.917	0.515		
aceite 25%	12	9.083	0.515	3955.77	0.000
aceite 50%	12	12.333	0.651		
aceite 75%	12	14.750	0.452		
aceite 100%	12	18.917	0.669		
agua destilada	12	0.000	0.000		

Al evaluar las diferencias entre la efectividad antifúngica a las 24 horas del fluconazol, agua destilada y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, se encontró que estas fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Tabla 5

*Comparación de los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 48h*

Grupo	N°	Media	D.S.	F	P
Fluconazol	12	27.583	0.515	4004.48	0.000
aceite 25%	12	8.333	0.492		
aceite 50%	12	12.083	0.515		
aceite 75%	12	14.417	0.515		
aceite 100%	12	18.167	0.718		
agua destilada	12	0.000	0.000		

Al evaluar la efectividad antifúngica a las 48 horas del fluconazol, agua destilada y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, se encontró que las diferencias entre el promedio de los halos de inhibición fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Tabla 6.

*Comparación de los promedios del halo inhibitorio entre el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, el agua destilada y el fluconazol durante el periodo de 72h*

Grupo	N°	Media	D.S.	F	P
Fluconazol	12	23.667	0.651	3296.51	0.000
aceite 25%	12	7.333	0.492		
aceite 50%	12	9.833	0.389		
aceite 75%	12	12.417	0.669		
aceite 100%	12	17.000	0.426		
agua destilada	12	0.000	0.000		

A las 72 horas el fluconazol, el agua destilada y el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25%, 50%, 75%, 100%, se encuentra que las diferencias en la actividad antifúngica son significativas, siendo el fluconazol el más efectivo tanto a las 24, 48 y 72 horas ($p < 0.05$).

V. Discusión de resultados

Aranibar (2019) evaluó la actividad antifúngica sobre *Candida albicans* y obtuvo que el aceite esencial de muña presentó halos de inhibición mayores que la clorhexidina, estos resultados discrepan con el presente estudio ya que en esta la presente investigación se usó el fluconazol como control positivo y este presentó mayor halo de inhibición que el aceite esencial de muña. Se utilizó el fluconazol ya que actualmente es el antifúngico de preferencia para tratar las infecciones fúngicas.

Hernández (2018) también evaluó la actividad antifúngica de la muña sobre *Candida albicans*, encontrando que el aceite esencial de muña presenta actividad antifúngica pero no mayor al grupo control positivo, estos resultados coinciden con los encontrados en la presente investigación y esto puede deberse a que la recolección de las plantas coincide en la misma estación del año y a una altura sobre el nivel del mar similar.

Alcalá, Alvarado, Alejandro y Huayané (2011) utilizaron una cepa clínica de *Candida albicans* en grupos fueron tres grupos con el aceite esencial de muña al 25%, 50% y 100%, un grupo control positivo con fluconazol y otro grupo control negativo con aceite mineral. Como resultados obtuvo halos de inhibición de 46.8 mm para el aceite esencial de muña y 39 mm para el fluconazol. Los resultados discrepan con los nuestros porque en este estudio tomaron en cuenta una cepa recolectada clínicamente, esto verifica que en nuestro medio existe una resistencia a los medicamentos antifúngicos y que el fluconazol ya no es tan efectivo.

Cano *et al.* (2006) al analizar la actividad antifúngica del aceite esencial de muña encontraron halos de inhibición entre 30 mm y 35 mm, mucho mayores a los reportados en nuestro estudio que fue de 18.92 mm en promedio. la diferencia de estos resultados se puede

deber a que en se utilizaron diferentes cepas certificadas, debido a que Cano menciona usar una cepa de *Candida albicans* ATCC 32148.

VI. Conclusiones

- A las 24 horas, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* en todas sus concentraciones demostraron actividad antifúngica.
- A las 48 horas, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* en todas sus concentraciones demostraron actividad antifúngica.
- A las 72 horas, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* en todas sus concentraciones demostraron actividad antifúngica.
- Al comparar los grupos se encuentra que las diferencias en la actividad antifúngica son significativas, siendo el fluconazol el más efectivo a las 24 horas, seguido por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100%.
- Al comparar los grupos se encuentra que las diferencias en la actividad antifúngica son significativas, siendo el fluconazol el más efectivo tanto a las 48 horas, seguido por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100%.
- Al comparar los grupos se encuentra que las diferencias en la actividad antifúngica son significativas, siendo el fluconazol el más efectivo tanto a las 72 horas, seguido por el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100%.

VII. Recomendaciones

- Seguir realizando estudios con plantas recolectadas en estaciones, regiones y alturas diferentes para conocer sus capacidades antifúngicas y verificar si existen diferencias.
- Realizar estudios sobre cepas recolectadas clínicamente, para conocer la realidad de la resistencia antifúngica en nuestro país.
- Realizar estudios con otras presentaciones farmacéuticas como extractos, geles, etc.
- Realizar estudios en modelos animales para conocer la eficacia antifúngica de este.

VIII. Referencias

- Aranibar, V. (2019). *Eficacia antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre cepas de *Candida albicans* aisladas, Arequipa 2018* (tesis de pregrado). Universidad Alas Peruanas, Lima, Perú.
- Aigaje, A.I. y Zurita, M.K. (2017). Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. *Dominio de las ciencias*, 3(1), 3-20. doi:10.23857/dom.cien.pocaip.2017.3.1.3-20
- Akpan, A. y Morgan, R. (2002). Oral candidiasis. *Postgraduate medical journal*, 78(922), 455-459. doi:10.1136/pmj.78.922.455
- Alcalá, K.M., Alvarado, A. G., Alejandro, L.A. y Huayané, E. (2011). Actividad antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. *Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericano*, 16(2), 83-86.
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L. y Fernández, G. (2001). Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites Esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 62(2), 156-161. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/379/37962208.pdf>
- Arendrup, M. y Patterson, T. (2017). Multidrug-Resistant *Candida*: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. *The Journal of Infectious Diseases*, 216(3), 445-451. doi:10.1093/infdis/jix131
- Aylas, R. E. (2017). *Evaluación de la efectividad antimicrobiana de un colutorio a base de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus labill* (eucalipto) y *Minthostachys sp.* (muña), frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC*

29737 y *Candida albicans* ATCC 10231 (tesis de pregrado). Universidad Wiener, Lima, Perú.

Azaña, I. (2010). *Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. Recuperado de http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/2183/Azana_ei.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Barnett, J. (2008). A history of research on yeasts 12: medical yeasts part I, *Candida albicans*. *Yeast*, 25(6), 385-417. doi:10.1002/yea.1595

Bonzani, N. y Ariza, L. (1993). Estudios anatómicos de tres especies de Lamiaceae usadas en medicina popular. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 12(3), 113–123. Recuperado de http://www.latamjpharm.org/trabajos/12/3/LAJOP_12_3_1_1_Y69E07K2PW.pdf

Cano, C., Bonilla, P., Roque, M. y Ruiz, J. (2006). Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25(3), 298-301. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3.pdf>

Canton, E., García, J., Martín, E., Pemán, J. y Guinea, J. (2014). Métodos microbiológicos para el diagnóstico manejo y estudio de la infección fúngica invasora. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(6), 375-379. doi: 10.1016/j.eimc.2013.01.008

Casnati, B., Papone, V., Cuestas, M., Lorenzo, S., Álvarez, R. y Massa F. (2011). Valoración del tratamiento local de candidosis oral. *Correlación etiológica*.

Odontostomatología, 13(18), 66-75. Recuperado de

<http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v13n18/v13n18a07.pdf>

Chaillot, J., Tebbji, F., Remmal, A., Boone, C., Brown, G. W., Bellaoui, M. y Sellam, A.

(2015). The Monoterpene Carvacrol Generates Endoplasmic Reticulum Stress in the Pathogenic Fungus *Candida albicans*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(8), 4584–4592. doi:10.1128/aac.00551-15

Condori, E. y Vilca, D. (1995). *Botánica Sistemática II: Fanerogamas*. Puno, Perú: S.E.

Cornistein, W., Mora, A., Orellana, N., Capparelli, F. y Del Castillo, M. (2013) *Candida*: epidemiología y factores de riesgo para especies no albicans. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6), 380-384. doi:10.1016/j.eimc.2012.09.011

De Feo, V. (1991). Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes.

Fitoterapia, 63(5), 417–440. Recuperado de

https://www.samorini.it/doc1/alt_aut/ad/defeo2.pdf

Epstein, J. B. (1990). Antifungal therapy in oropharyngeal mycotic infections. *Oral Surgery,*

Oral Medicine, Oral Pathology, 69(1), 32–41. doi:10.1016/0030-4220(90)90265-t

Flórez, J., Armijo, J. y Mediavilla, A. (2014). *Farmacología humana*. Barcelona, España: Elsevier.

Gaitán, L., Sánchez, O. y Castillo, N. (2014). Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy era. A literature analysis.

International Journal of STD & AIDS, 26(9), 625- 632.

doi:10.1177/0956462414548906

- Gómez, C. (2010). Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. *Infection*, 14(2), 172-180. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14s2/v14s2a09.pdf>
- Gregorí, V. (2005). Estructura y actividad de los antifúngicos. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(2), 1-15. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200012
- Hernández, M. E. (2018). *Efecto antifúngico del aceite esencial de Minthostachys Mollis (Muña) sobre las cepas de Cándida Albicans ATCC10231. Estudio in vitro* (tesis de pregrado). Universidad Central de Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16711/1/T-UCE-0015-ODO-056.pdf>
- Ibáñez, N., Robles, C. y Lecona, J. (2017). Frecuencia de candidiasis oral asociada al uso de prótesis dentales en pacientes de la Clínica Odontológica de la Universidad Anáhuac Norte. *Revista ADM*, 74(2), 74-78. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2017/od172e.pdf>
- Inga, B. y Guerra, M. (2000). *Efecto del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la Salud* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Instituto Nacional de Salud. (2002). *Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el Método de Disco Difusión*. Recuperado de <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
- Kim, J. y Sudbery, P. (2011). *Candida albicans*: a major human fungal pathogen. *The Journal of Microbiology*, 49(2), 171-177. doi: 10.1007/s12275-011-1064-7

Lortholary, O., Renaudat, C., Sitbon, K., Madec, Y., Denoeud-Ndam, L. y Wolff, M. (2014).

Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units

(Paris area, 2002–2010). *Intensive Care Medicine*, 40(9), 1303-1312. doi:

10.1007/s00134-014-3408-3.

Martinez-Rossi, N., Peres, N. y Rossi, A. (2008). Antifungal Resistance Mechanisms in

Dermatophytes. *Mycopathologia*, 166(6), 369–383. doi: 10.1007/s11046-008-9110-

7

Mayer, F., Wilson, D. y Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms.

Virulence, 4(2), 119-128. doi: 10.4161/viru.22913

McCullough, M. J., Ross, B. C. y Reade, P. C. (1996). *Candida albicans*: a review of its

history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain

differentiation. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 25, 136-144.

doi: 10.1016/S0901-5027(96)80060-9

Merino, G., Cedillo, L., Silva, F., Muñoz, A. y Castañeda, E. (2014). Análisis morfológico de

biopelículas de *Candida albicans* producidas en diferentes condiciones de pH y

temperatura analizadas por microscopía óptica y de fuerza atómica. *Revista*

mexicana de micología, 33, 1-8. Recuperado de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-

31802011000100002

Millsop, J. W. y Fazel, N. (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology*, 34(4), 487- 494.

doi: 10.1016/j.clindermatol.2016.02.022

Montes, E. Z. (2014). *Actividad antimicótica del aceite esencial y del extracto*

hidroalcohólico de Satureja brevicalyx Epl. "wayra muña" sobre una cepa de

- Candida albicans* ATCC 10231, Ayacucho 2013 (tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.
- Mora, F. (2009). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil *Minthostachys mollis* from Venezuela Andes. *Natural Product Communications*, 4(7), 997-1000, Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/26790726_Chemical_Composition_and_in_Vitro_Antibacterial_Activity_of_the_Essential_Oil_of_Minthostachys_Mollis_Kunth_Griseb_Vaught_from_the_Venezuelan_Andes/link/54d47ee20cf25013d0298d66/download
- Morales, A. (1973). *Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de Minthostachys mollis y de S. Sagittata (hierba buena)* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Neyra, L. C. y Armas, N. M. (2018). *Evaluación in vitro de la actividad fungicida y fungistática del extracto metanólico de la Minthostachys mollis (muña) sobre cepa de Candida albicans ATCC®1023* (tesis de pregrado). Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Perú.
- Odgaard, L. y Kothari, M. (2017). Prevalence and association of oral candidiasis with dysphagia in individuals with acquired brain injury. *Brain Injury*, 32(2), 247–251. doi: 10.1080/02699052.2017.1407960
- Oviedo, F. (1979) *Ensayos toxicológicos preliminares con aceite esencial de 'muña'*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cuzco, Cuzco, Perú.
- Pai, V., Ganavalli, A. y Kikkeri, N. (2018). Antifungal Resistance in Dermatology. *Indian journal of dermatology*, 63(5), 361–368. doi:10.4103/ijd.IJD_131_17

- Paz, E., De León, D. y Ramírez, R. (2008). Resistencia bacteriana en cuidados intensivos y tendencia actual: Departamento de Cuidados Críticos, Servicio de Cuidados Intensivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Essalud, Lima, Perú, 2004-2006. *Acta Médica Peruana*, 25(3), 140-147. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172008000300004&lng=es&nrm=iso
- Pemberton, M., Oliver, R. y Theaker, E. (2004). Miconazol oral gel and drug interactions. *British Dental Journal*, 196 (9), 529-31. doi: 10.1038/sj.bdj.4811224
- Radnai, M., Whiley, R., Friel, T. y Wright, P. (2010). Effect of antifungal gels incorporated into tissue conditioning material on the growth of *Candida albicans*. *Gerodontology*, 27(4), 292-96. doi: 10.1111/j.1741-2358.2009.00337.x
- Salas, A. M. (2015). Efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Cándida albicans*. Puno - 2015. *Revista de Investigaciones de la Escuela de Posgrado UNA*, 6(2),162-168. Recuperado de <http://revistas.unap.edu.pe/epg/index.php/investigaciones/article/view/31>
- Schmindt-Lebuhn, A. (2008). Ethnobotany, biochemistry and pharmacology of *Minthostachys* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3), 343-53. doi:10.1016/j.jep.2008.05.030
- Sharon, V. y Fazel, N. (2010). Oral candidiasis and angular cheilitis. *Dermatologic therapy*, 23(3), 230-242. doi:10.1111/j.1529-8019.2010.01320.x
- Sotta, N. (2000). Plantas aromáticas y medicinales de la región Arequipa. Arequipa: Editorial Akuarella.
- Surbery, P. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews*, 9(10), 737-748. doi: 10.1038/nrmicro2636

- Tobar, E., Silva, F., Olivares, R., Gaete, P. y Luppi, M. (2011). Candidiasis invasoras en el paciente crítico adulto. *Revista chilena de infectología*, 28(1), 41-49. doi: 10.4067/S0716-10182011000100008.
- Torrenegra, M., Granados, C., Durán, M., León, G., Yáñez, X., Martínez, C. y Pájaro, N. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*, 20(1), 69-74. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092016000100008&lng=en.
- Vyas, V., Barrasa, M. y Fink, G. (2015). A *Candida albicans* CRISPR system permits genetic engineering of essential genes and gene families. *Science Advances*, 1(3), 1-6. doi: 10.1126/sciadv.1500248
- Whaley, S. G., Berkow, E. L., Rybak, J. M., Nishimoto, A. T., Barker, K. S. y Rogers, P. D. (2017). Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans Candida* Species. *Frontiers in microbiology*, 7, 2173. doi: 10.3389/fmicb.2016.02173
- Zida, A., Bamba, S., Yacouba, A., Ouedraogo-Traore, R. y Guiguemdé, R. T. (2017). Anti-*Candida albicans* natural products, sources of new antifungal drugs: A review. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(1), 1–19. doi:10.1016/j.mycmed.2016.10.002

IX. Anexos

Anexo 01

Ficha de recolección de datos

Muestra	Tiempo	Longitud del halo de inhibición											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Aceite de Muña al 25 %	24 h												
	48 h												
	72 h												
Aceite de Muña al 50 %	24 h												
	48 h												
	72 h												
Aceite de Muña al 75 %	24 h												
	48 h												
	72 h												
Aceite de Muña al 100 %	24 h												
	48 h												
	72 h												
Control - Agua destilada	24 h												
	48 h												
	72 h												
Control + Fluconazol	24 h												
	48 h												
	72 h												

Anexo 02

Elaboración del aceite esencial



Lavado de la Muña



Secado a temperatura ambiente



Selección de las hojas de muña



Armado del sistema de destilación



Obtención de agua más el aceite



Separación del aceite en un embudo de decantación por diferencia de densidades



Obtención de 10 mL de aceite esencial de muña



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENTROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00485-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 005738/2019
SOLICITADO POR : KEVIN HUAMANÍ BENDEZÚ
MUESTRA : ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys*

NÚMERO DE LOTE : ---
CANTIDAD : ---
FECHA DE RECEPCIÓN : 29 de Octubre del 2019
FECHA DE FABRICACIÓN : --
FECHA DE VENCIMIENTO : --

PRUEBAS	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
ELABORACIÓN DE ACEITE ESENCIAL	---	Arrastre de vapor	Conforme

Lima, 13 de Noviembre del 2019


Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



Anexo 03

Certificación de la *Candida albicans* ATCC 10231

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: C. albicans ATCC 10231 PK/5
Lot Number: 592064

Product Number: R4601503
Expiration Date: 2020-08-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁴

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Positive Yeast

Biochemical Profile: Vitek 2C YST

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed

Sherry Mason

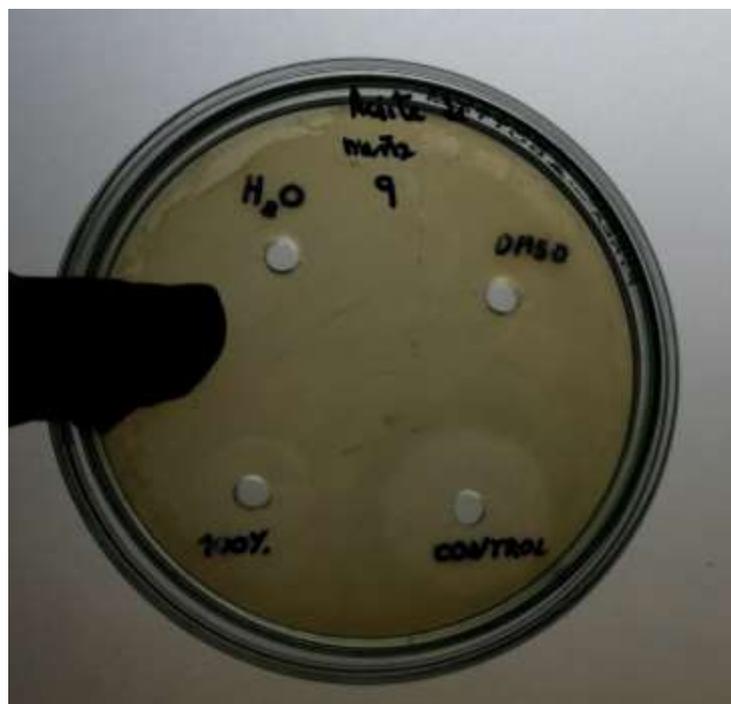
Product Performance Technologist

Anexo 04

Análisis de eficacia antimicrobiana



Halos de inhibición del aceite esencial AL 25%, 50% y 75%.



Halo de inhibición del control negativo (agua destilada), dimetilsulfóxido (DMFO), aceite esencial al 100% y el control positivo (Fluconazol).