



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

EFEECTO ANTIMICOTICO DEL CHAMPÙ ELABORADO A
BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE
Schinus molle (molle) **FRENTE A** *Candida albicans*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUIMICO FARMACEUTICO

AUTOR

JARA MORALES, JAKELINE THALIA
ORCID: 0000-0002-3023-6896

ASESOR

ZEBALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA
ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2019

TITULO

**EFFECTO ANTIMICOTICO DEL CHAMPÙ ELABORADO A
BASE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE
Schinus molle (molle) FRENTE A *Candida albicans***

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Jara Morales, Thalia Jakeline

ORCID: 0000-0002-3023-6896

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La
Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

DÍAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMÍREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

VÁSQUEZ CORALES, ÈDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR Y ASESOR DE TESIS

Dr. Díaz Ortega, Jorge Luis
ORCID: 0000-0002-6154-8913
Presidente

Mgtr. Ramírez Romero, Teodoro Walter
ORCID: 0000-0002-2809-709X
Miembro

Mgtr. Vásquez Corales, Édison
ORCID: 0000-0001-9059-6394
Miembro

Mgtr. Zevallos Escobar, Liz Elva
ORCID: 0000-0003-2547-9831
Asesor

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Nuestro Creador ser todo poderoso por bendecirme, darme fuerza y fe para creer lo que me parecía imposible terminar.

Dedico esta tesis a mis padres Segundo Cosme Jara Y Carrión Y Zenaida Dora Morales Huaylla que siempre me apoyaron incondicionalmente en la parte moral y económica para poder llegar a ser un profesional.

A mis hermanos Anderson y Yuleysi a mi tío Jorge Morales Huaylla que es como mi segundo padre, por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera Universitaria.

Agradezco a mi pareja Ivan Osorio Bravo por entenderme en todo, gracias a él porque en todo momento fue un apoyo incondicional en mi vida, fue el ingrediente perfecto para poder lograr alcanzar esta dichosa y muy merecida victoria en mi vida.

Agradezco también a mi asesora de tesis Q.F Liz Zevallos Escobar por haberme brindado sus conocimientos científicos, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

DEDICATORIA

A mi mamita Maria Huaylla, por ser una mujer excepcional, por ser como mi segunda madre, por cuidarme, mimarme y darme tanto amor con ella aprendí a compartir lo que tengo.

A mi esposo por sus palabras y confianza por su amor y brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente, estuviste a mi lado inclusive en los momentos difíciles.

A mis padres, hermanos, sobrina, tío porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo continuo e incondicional.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto antimicótico de un champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* frente a *Candida albicans*. La metodología que se siguió fue pozos en agar cultivadas con Sabouraud, se formó 3 grupos de 5 placas, el grupo control positivo (Nistatina) el grupo negativo (suero fisiológico) y el grupo experimental 1 (champú al 10 %) grupo experimental 2 (champú al 2 %). Se realizó el excavado en placa, posteriormente se revivió la cepa con un inóculo de *Cándida albicans* equivalente al 0,5 de la escala de McFarland (1.5×10^8 ufc/ml). Posteriormente se sembró la cepa por la técnica de hisopado, luego se agregó 0,05 ml (ug/ml) de cada uno de los 3 grupos repetidamente en cada hoyos de las placas, midiendo luego el halo de inhibición a las 24 y 48 horas de incubación de las placas. Se obtuvo como resultados que el champú a la concentración de 20 % (10000ug/ml) tiene mejor capacidad de inhibición con un halo de 13 mm y una sensibilidad intermedia para las cepas de *Cándida albicans*, en contraste de la concentración al 10 % (5000ug/ml) del champú que solo obtuvo un 11 mm con una sensibilidad igual, en comparación al patrón, con un halo de 15 mm demostrando así el efecto antimicótico del champú. El champú elaborado base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

Palabras clave: antimicótico, *Candida albicans*, champú

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the antifungal effect of a shampoo made from the ethanolic extract of the leaves of *Schinus molle* against *Candida albicans*. The methodology followed was wells in agar cultivated with Sabouraud, 3 groups of 5 plates were formed, the positive control group (Nystatin) the negative group (physiological saline) and the experimental group 1 (10% shampoo) experimental group 2 (2% shampoo). The plate was excavated, the strain was later revived with an inoculum of *Candida albicans* equivalent to 0.5 of the McFarland scale (1.5×10^8 cfu / ml). The strain was then seeded by the swab technique, then 0.05 ml (ug / ml) of each of the 3 groups was added repeatedly in each hole of the plates, then measuring the inhibition halo at 24 and 48 hours of incubation of the plates. It was obtained as results that the shampoo at the concentration of 20% (10000ug/ml) has better capacity of inhibition with a halo of 13 mm and an intermediate sensitivity for the strains of *Candida albicans*, in contrast to the concentration at 10% (5000ug / ml) of the shampoo that only obtained an 11 mm with an equal sensitivity, in comparison to the standard, with a halo of 15 mm demonstrating the antimicotic effect of the shampoo. The base shampoo of the ethanol extract of *Schinus molle* leaves has an antifungal effect against *Candida albicans*.

Keywords: antifungal, *Candida albicans*, shampoo

ÍNDICE

JURADO EVALUADOR Y ASESOR DE TESIS.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
SUMMARY.....	viii
INDICE DE GRAFICOS Y TABLAS.....	x
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISION DE LITERATURA.....	6
2.1 Antecedentes.....	6
2.2 Marco teórico.....	9
III. HIPÓTESIS.....	12
IV. METODOLOGIA.....	13
4.1 Diseño de la investigación.....	13
4.2 Población y muestra.....	17
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	18
4.4 Técnicas e instrumentos.....	18
4.5 Plan de análisis.....	19
4.6 Matriz de consistencia.....	20
4.7 Principios éticos.....	21
V. RESULTADOS.....	22
5.1 Resultados.....	22
5.2 Análisis de resultados.....	24
VI. CONCLUSIONES.....	26
6.1 Conclusiones.....	22
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	29
ANEXOS.....	34

INDICE DE TABLAS

Tabla 01 Determinación del control de calidad del champú a base del extracto etanolico de las hojas de <i>Shinus molle</i> .	30
Tabla 02 Promedio del halo de inhibición del champú a la concentración del 10% a las 24 y 48 horas frente frente a <i>Candida albicans</i> .	31
Tabla 03 Promedio del halo de inhibición del champú a la concentración del 20% a las 24 y 48 horas frente frente a <i>Candida albicans</i> .	32
Tabla 04 Evaluación del nivel de sensibilidad del efecto antimicótico in vitro del champú en concentraciones al 10 % y 20 % del extracto etanolico de las hojas frente a cepas de <i>Candida albicans</i> .	33

I. INTRODUCCION

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un uso racional de plantas terapéuticas, para generar de manera confiable un incentivo útil por las variedades de sus beneficios, para lograr ofrecer a la medicina convencional nuevas fuentes de principios con actividad farmacológica a partir de estas especies. ¹

El estudio de las plantas con dominio medicinal depende hoy en día de los datos científicos y avances que concentren cada tipo de planta pues luego del estudio de la misma en forma de extracto puede incluirse en presentaciones mejoradas como vía de administración más favorable. ²

La flora peruana cuenta con especies de plantas de reconocimiento mundial y las instituciones nacionales han fortalecido el impacto en la salud de la población, por ello contamos con hierbas, malezas, frutos, árboles que aportan sustancias ricas en propiedades que generan salud, el potencial terapéutico se dispersa poderosamente en lugares cercanos como jardines, humedales, campos y en los múltiples climas. ³

Los problemas infecciosos aparecen tras la colonización de algún patógeno sin distinguir la vía o el área, la edad, o el sexo, por motivos de una mala higiene, campo de trabajo o zona húmeda entre estos microbios se encuentran los hongos potentes injuriantes de lesiones dérmicas superficiales como oportunistas. ⁴

Las características de un hongo son ser filamentosos o no filamentosos, como los son las levaduras y mohos, estos pueden crear una alteración donde se anidan produciendo entre sus síntomas más prominentes picazón, e enrojecimiento. ⁵

La micosis es una afección causada por hongos, cumple su ciclo de vida sobre el cuerpo humano o animal con rasgos clínicos como el prurito generando inflamación en las áreas con extensión puede irritar zonas sensibles como genitales o mucosas por ellos se tiene en cuenta su patogenia y sus factores. ⁶

El árbol ornamental *Schinus molle* es un oriundo del Perú como muchos otros géneros de la familia *Anacardiaceae* abundan en las regiones, crece espontáneamente, su talla y grosor varía, es de poca copiosidad, sus ramas son numerosas, quebradas y delgadas, sus estudios fitoquímicos indican que contiene taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, terpenos y aceites esenciales; se comprobó que por medio de extracto hidroalcolico de sus hojas, se puede causar un deterioro del desarrollo de crecimiento del hongo *Cándida albicans*, también han mostrado ser un efectivo repelente de insectos. ⁷

Una infección por *Candida albicans*, puede convertirse en fastidiosa hasta peligrosa, si no se tiene métodos de control, pues puede producir efectos graves en la gestación, causar un aborto o complicar el embarazo, por tanto, se tiene en el mercado productos que ayuden con detener su multiplicación o prevenir su incidencia, con ello se instauró tratamientos a base de cremas, jabones, champús, y medicamentos orales. ⁸

Una de las causas de esta infección micótica es una higiene mal adecuada, con ello las condiciones de prevención y recuperación de la salud, se recomienda hacer uso de productos antisépticos naturales y de aseo que no generen más daño. ⁹

Un Champú antimicótico para el bienestar del paciente debe de tener el cuidado para no irritar la zona invadida, contar con un Ph promedio, como olor agradable, como a la misma vez no dejar multiplicar enfermedades si no se tiene conciencia de ese riesgo, la convivencia con ellos no dejara llevar una vida tranquila y de calidad. ¹⁰

En tanto los nuevos productos en la recuperación de la salud últimamente tratan de contener efectos que ayuden a complementar tratamientos a ese nivel como el antifúngico, que cumpla con una acción higiénico-medicinal, es importante por ello ir incluyendo con el tiempo sustancias activas de las plantas y se logre dar un valor en la comunidad. ¹¹

La candidiasis es una de las infecciones sexuales de pareja que comúnmente habitan en la región vaginal como parte del desarrollo de la microbiota propia pero a una medida concentración fisiológica sin ser patológica, pero puede ser alterada cuando se dan ciertos malos hábitos como poca higiene, antes, durante o luego del acto sexual, cambio del ph por otras infecciones, uso de ropa tipo sintética, usada muy ajustada. ¹²

Ante ello resulta ser un riesgo la ausente limpieza de los genitales femeninos pues la enfermedad conocida candidiasis siempre esta amenazante en las mujeres y teniendo la vía sexual como medio de contagio más vulnerable, debe tenerse cuidado de las consecuencias de una infección por *Candida albicans*, pues puede convertirse en fastidiosa hasta peligrosa, si no se tiene métodos de higiene y control. ¹³

Se está buscando un equilibrio con el uso del Champú antimicótico para el bienestar del paciente con el cuidado perenne de su sexualidad e higiene pues esto puede evitar un sin de patógenos que pueden multiplicar enfermedades sino se tiene conciencia de ese riesgo. ¹⁴

En este sentido, el aporte de esta formulación conteniendo extracto etanólico nos dará respuesta a la pregunta ¿Tendrá efecto antimicótico el champú elaborado a base del extracto etanólico de las hojas de *Shinus molle* (molle) frente a *Cándida albicans*?

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto antimicótico del champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* (molle) frente a *Candida albicans*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el control de calidad del champú antimicótico elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* (molle).
- Determinar el promedio del halo de inhibición del champú antimicótico elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* (molle)
- Evaluar el grado de sensibilidad del champú antimicótico a base del extracto etanolico de las hojas de *shimus molle* (molle) frente a *Candida albicans*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Huamani y Ruiz ¹⁴ investigaron el año 2005 la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanolicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas entre ellas *Schinus molle L*, mostrando en este estudio que dicha planta tiene acción frente a *Candida albicans* mediante una concentración mínima inhibitoria de 500µg/mL.

En su estudio Llanos ¹⁵ el año 2012 realizo la extracción de aceite esencial de hojas del *Schinus molle L*; probando la actividad antimicótica ante *Penicillium italicum*, mediante las pruebas realizadas se demostró su actividad antimicótica indicando que los aceites esenciales inhiben el desarrollo del hongo *Penicillium italicum*.

Para Saravia ¹⁶ el año 2015, determino la actividad antifúngica del extracto de hojas etanol *Schinus molle* y fluconazol sobre *Candida albicans*, mostrando que el extracto de etanol de *Schinus molle* tiene actividad antifúngica con solo 25µg/ml, con un halo de inhibición ≥ 20 mm, frente a cepas clínicas de *Candida albicans*.

Evaluaron Barragán J, et al.¹⁷ La actividad antifúngica in vitro del extracto etanolic de hojas de *Shinus molle* sobre los hongos filamentosos y *Candida albicans*, demostró con respecto al crecimiento de *C. albicans* fueron concentraciones a 4050µgmL-1, 1567 a 5016µgmL-1, presentado la mayor sensibilidad.

La investigación en curso por Zegarra ¹⁸ demostró el impacto antimicótico in vitro del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* L, contra las cepas de *Candida albicans*. La extracción del aceite de hojas de *Schinus molle* L, fue adquirida por hidrodestilación. La investigación constó de 4 grupos de (5 placas para cada uno): grupo de control con 5% de dimetilsulfóxido (DMS), grupo estándar con fluconazol a 25 µg / ml y dos grupos de prueba con aceite básico al 10% y un 20% de fijaciones debilitadas en DMS. Utilizando la técnica de Kirby-Bauer, se evaluó la acción contra *Candida albicans*, observando los puntos medios y la desviación estándar para las zonas de 18.4 mm ± 0.094 para el 10% y 19.4 mm ± 0.282 para el 20%.

Requejo ¹⁹ investigo las opciones de acción antibacteriana in vitro de *Schinus molle* (Molle) contra *Staphylococcus aureus*. El aceite básico se retiró de las hojas nuevas utilizando la estrategia de hidrodestilación, para la recopilación de información en 5 placas: negativo, estándar farmacológico, Experimental No. 1 (medio aceite fundamental de *S. molle*), Experimental No. 2 (75% de aceite fundamental de *S. molle*). Se observó los halos de impedimento para el experimental n. ° 1, se consideraron todas las cosas 31.0 ± 3.07 mm y Experimental n. ° 2 fue de 25.1 ± 0.98 mm considerando todos los aspectos que si se infiere el crecimiento con el aceite de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle).

Viton ²⁰ examinó la impotencia de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* en el concentrado etanólico de las hojas de *Schinus molle*. Se trabajó con 3 cepas de *Staphylococcus aureus* y 3 cepas de *Streptococcus* β -hemolítico (*S. pyogenes*) y 5 convergencias únicas del concentrado etanólico de las hojas de molle (125) mg / ml, 250 mg / ml, 500 mg / ml, 750 mg / ml, 1000 mg / ml). La prueba de impotencia de las cepas examinadas contra el concentrado etanólico de *Schinus molle* L. se completó con métodos para la estrategia de dispersión en disco (Kirby-Bauer). Por lo tanto, cada una de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* β -hemolytic (*S. pyogenes*) que se examinaron no tenía poder para el concentrado etanólico de las hojas de *Schinus molle* L., con halos de restricción entre 5.3-14.6mm;7,3 -17,0 mm por separado. La concentración inhibitoria mínima con un grupo de bases de 7.81 mg / mL.

2.2. MARCO TEÓRICO

Taxonomía *Schinus molle*

Familia: Anacardiaceae

Género: Schinus

Especie: molle

Nombre Científico: *Schinus molle*

Empleo: Hojas ²¹

Descripción y habitat

Es un árbol muy extendido en Perú crece desde el nivel del mar hasta 3.500msnm. , también lo hace en regiones de bosque de pino encino, matorral xerófilo y selva baja y parte sur de Sudamérica, Brasil, Uruguay, Paraguay, Chile, norte de Argentina y Sur de Méjico, pertenece a la familia *Anacardiaceae* cuenta con más de 70 géneros y 600 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales en todo el mundo, sus especies se usan como plantas comestibles, ornamentales, forestales, industriales y en medicina se estudia los beneficios del el *Schinus molle*, crece espontáneamente, su talla y grosor varía, es de poca copiosidad, sus ramas son numerosas, quebradas y delgadas.²²

Composición química

Contienen flavonoides como quercetina, rutina, quercitrina e isoquercitrina, pigmentos antocianídicos, triterpenos, β -sitosterol, taninos, ácido gálico, ácido protocatéquico, glucosa, fructosa y aceite esencia, mono terpenos: limoneno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno, y α -felandreno.²³

Propiedades medicinales

Se comprobó que por medio de extracto hidroalcolico de sus hojas, se puede causar un deterioro del desarrollo de crecimiento del hongo *Cándida albicans*, también han mostrado ser un efectivo repelente de insectos, atesora actividad antifúngica y antimicrobiana principalmente por sus hojas, como con acción, antiinflamatorio y antioxidante.²⁴

Hongo

Se clasifica a un hongo como un organismo cualquiera microscópico unicelular con importantes porque descompone el azúcar, por su capacidad de produciendo sustancias desde principios antibacterianos como toxinas. Se han descrito de los hongos que existen más de cien mil especies, ellos cuentan con un ciclo vital y una morfología especial.²⁵

Candida albicans

Este es un a levadura tipo de hongo dismórfico con estructura larga hifas y blastoconidias recrean y maduran azúcares, son unicelulares, redondas u ovaes, con un divisor refractivo grueso situadas hacia el final de las hifas, pseudohifas o laterales en blastoconidios ovalados.²⁶

Candidiasis

Es una enfermedad de la piel y las capas mucosas causada por el hongo *Candida albicans* de enorme importancia en la patología humana, no solo como resultado de su recurrencia y surtido de indicaciones clínicas, sino también por la forma en que estar fuera de una micosis superficial.²⁷

Antimicóticos

Este tipo de fármacos pueden incidir sobre la manera de reproducirse el microorganismo o su formación de defensa como sus capas que envuelven su estructura por ellos estos inciden sobre enzimas que forjan esas barreras con ello se aniquilan y disminuyen su proliferación.²⁸

Nistatina

El mecanismo de acción es el de inhibición de la síntesis del ergosterol, al inhibir la conversión de lanosterol a ergosterol, produciendo cambios en la composición lipídica de la membrana celular del hongo. Este cambio estructural altera la permeabilidad celular y finalmente resulta en disrupción osmótica o inhibición del crecimiento de la célula fúngica.²⁹

Champú

El champú es un producto para el cuidado del cabello u vello usado para limpiarlo de suciedad, la grasa formada por las glándulas sebáceas, escamas de la piel y en general partículas contaminantes que gradualmente se acumulan en el cabello como de patógenos que dañen la zona genital. Este puede estar compuesto de sustancias tensioactivas como de aceites, texapon, euperlam, sal, extractos y esencias.³⁰

III. HIPOTESIS.

El champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Schinus molle* tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

IV. METODOLOGIA

4.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación corresponde a un diseño experimental de nivel explicativo con un enfoque cualitativo.

4.1.1. Obtención del extracto

El estudio se realizó con la parte de las hojas de la planta, en óptimo estado de desarrollo vegetal y calidad fitosanitaria. Estas fueron secadas a temperatura de $(45 \pm 2^\circ\text{C})$ por 4 horas. Luego molidas se depositó 100 mg en un recipiente donde se agregó 100 ml de la solución de alcohol al 80 % y se dejó macerar por 7 días para luego filtrar y conservar a 8°C .³¹

4.1.2. Elaboración del champú

a) Materiales

Ingredientes	Peso
Texapon	60gr
Metil parabeno	0.02gr
Propil parabeno	0.01gr
Glicerina	10ml
Ácido citrico	0.1gr
Extracto de molle	15ml
Agua destilada	19.87 ml

4.1.3. Preparación del champú

Colocamos en un vaso de precipitación 60 gr de Texapon y lo mezclamos con 10 ml de glicerina, ligeramente 10 minutos hasta dar el aspecto cremoso y este bien diluido, incorporamos 0.02 gr de metil parabeno, 0.01 gr de propil parabeno, 15ml del extracto de molle, 0.1 gr de Ácido Cítrico, añadimos 19.87 ml de agua destilada, y todo junto movemos suavemente para no provocar espuma, envasamos el shampoo en recipiente de plástico de 100 ml adecuados para cosméticos.³²

4.1.4. Control de calidad. (Tomado de Farmacopea americana) ³³

4.1.4.1. Determinación Organoléptica del Champú:

Color: Tomamos un tubo de ensayo limpio y seco, llenamos hasta las $\frac{3}{4}$ partes con la muestra de ensayo y se observamos.

Olor: Determinamos del olor del champú con una tira de papel secante se introdujo en un extremo en la muestra de ensayo y se apercibió y se determinó la característica de olor que presento el producto.

4.1.4.2. Determinación de la uniformidad

Se realizó una extensión del champú sobre una placa y se situó encima de una superficie negra, procediendo a su visualización mediante una lupa.

4.1.4.3. Extensibilidad

Se puso sobre un portaobjetos 2 ml de champú sobre un papel milimetrado; sobre dicho portaobjetos, se colocó otro suavemente y de peso conocido, se esperó 1 minuto y se anotó el radio del círculo formado.

4.1.4.4. Determinación de PH

Medimos el pH mediante el uso de las tiras de pH, introduciéndolos, sobre el recipiente.

4.1.5. Modelo Experimental de la actividad. (Instituto clínico y Laboratorio de estándares) 34

4.15.1. Material farmacológico

El material farmacológico empelado para el grupo control positivo se usó Nistatina 100.000 UI/ml solución oral de Marca (Ninestacin) con registro sanitario: N22953, distribuido en el Perú por Laboratorios Roxfarma.

4.1.5.2. Preparación del medio de cultivo

Pesamos 26 gramos de medio de cultivo Agar Sabouraud (Merck), luego se disolvió en 400 ml de agua destilada. Se llevó a calor hasta la formación de la solución trasparente. Posteriormente se midió el pH del preparado hasta un pH óptimo 5.6, se esterilizo en autoclave Marca (Kossodo) por 15 minutos a 121° centígrados.

Por siguiente se agregó la solución a placas Petri en una proporción de 20 ml, deajo solidificar y se hicieron hoyos con un sacabocado y tapo.

4.1.5.3. Preparación de la cepa a la escala del Nefelómetro de McFarland

Se prepararon tubos a una escala de 0,5 de Nefelómetro de McFarland, que corresponde a 1.5×10^8 UFC/ ml. Para ello se midió 9.9 ml de ácido sulfúrico y cloruro de bario 0.01 gr y se mesclo en tubo formando así la referencia del quinto tubo de la escala de McFarland.

Luego se tomaron primero el tubo con la cepa ATCC® 10231 de *Cándida albicans* reconstituida, un asa bacteriológico esterilizada y un tubo con suero fisiológico, se abrió el tubo y se introdujo el asa dentro del tubo con la cepa se raspo se flameo el tubo y cerro, luego se pasó por medio del asa al tubo con suero, se depositó y removió, se flameo también el tubo y cerro. Se agregó suero fisiológico hasta encontrar la misma turbidez del tubo con la cepa y el tubo número 5 de McFarland.

4.1.5.4. Determinación de la prueba de susceptibilidad

Para la siembra del hongo se utilizó el método del hisopado en placa cultivada mediante un hisopo estéril se humedeció el hisopo con el inoculo a 10 cm de distancia de un mechero encendido para esterilizar el espacio, se rastrillo con movimientos uniformemente por toda la placa en una frecuencia de 10 repeticiones, en cada una de las placas. Luego de la siembra de la cepa se aplicó 0.5 ml que consistió en depositar en el champú diluido en cada hoyo de cada placa de cada grupo:

- **Control negativo:** Aplicar 0,5 ml de suero fisiológico en cada pozo de la placa
- **Control positivo:** Aplicar 0,5 ml de Nistatina solución en cada pozo de la placa
- **Experimental 1:** Aplicar 0,5 ml de Champú al 10 % en cada pozo de la placa
- **Experimental 2:** Aplicar 0,5 ml de Champú al 20 % solución.

Luego se llevó a la Incubadora marca (Mettmert) a 37°C, observándose a las 24 horas y 48 horas el crecimiento del hongo como los halos inhibición del crecimiento.

Transcurrido el tiempo de cada incubación se midieron los halos de inhibición con la regla microbiológica (calibrador Microbial Sensitivity data).

4.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.

a) **Población vegetal:** fueron adquiridas en la provincia de Santa del departamento de Ancash, que se encuentra ubicada en la zona costa

b) Muestra vegetal

Se trabajó con las hojas en un total de 100 gr de peso, la extracción etanólica se realizó por maceración en alcohol.

- Criterios de exclusión:

Se excluyeron hoja con plagas y en mal estado.

- Criterios de inclusión:

Se utilizaron las hojas sin plagas.

c) Población Microbiología:

Cepa de *Cándida albicans* ATCC®: 10231

d) Muestra Microbiológica:

Se tomaron 12 placas cultivadas con la cepa diluida en suero fisiológico.

- Criterios de exclusión:

Placas con *Cándida albicans* mayor a 30 horas de exposición de haberse cultivado.

- Criterios de inclusión:

Placas con *Cándida albicans* menores a 30 horas de exposición de haberse cultivado.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
<p>Dependiente: Actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i>(molle)</p>	<p>La acción antimicótica tiene como mecanismo inhibir la enzima escualeno epóxidasa y con ello interrumpir el desarrollo del ergosterol esencial para sus capas estructurales.</p>	<p>Medir el tamaño de halo de inhibición formada en la placa usando regla microbiológica</p>	<p>halo de inhibición > 10 mm</p>
<p>Independiente : Champú elaborado a base de del extracto etanólico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i>(molle)</p>	<p>Preparación a diferentes concentraciones del champú a base del extracto etanólico de las hojas <i>Shinus molle</i> (molle) con la capacidad de impedir la supervivencia del hongo <i>Cándida albicas</i>.</p>	<p>Se utilizó dos concentraciones del champú a base de del extracto etanólico de las hojas <i>Shinus molle</i> (molle)</p>	<p>-Control negativo : (Suero fisiológico) Control positivo : (Nistatina)</p>

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Se utilizó la técnica de la observación directamente, con la medición de los halos de inhibición formados y algunas características que se encuentre en el proceso del efecto antimicótico. Los datos obtenidos fueron inscritos en fichas o anotados en tablas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis.

Para la evaluación de la formación del halo de inhibición se atraparon los datos en el Programa Excel para generar los gráficos considerando medidas de tendencia central promedio y desviación estándar.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE INVESTIGACIÓN	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA	PLAN DE ANALISIS
Efecto antimicótico el champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i> (molle) frente a <i>Candida albicans</i> ?	¿Tendrá efecto antimicótico el champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i> (molle) frente a <i>Candida albicans</i> ?	Determinar el efecto antimicótico del champú antimicótico elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de <i>Shinus molle</i> (molle) frente a <i>Candida albicans</i> .	El champú elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i> (molle) tiene efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i> .	Dependiente: Efecto antimicótico del extracto etanolico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i> (molle) Independiente: Champú a base de del extracto etanolico de las hojas de planta <i>Shinus molle</i> (molle)	Explicativo	Experimental	Población vegetal: 1kg de hojas <i>Shinus molle</i> Muestra: 100 mg de hojas molidas de <i>Shinus molle</i> Población microbiológica : Cepa de <i>Candida albicans</i> Muestra: 12 placas cultivadas con <i>Candida albicans</i>	Medidas de tendencia central

4.7. Principios éticos:

Se trabajó con microorganismo (hongos), cumpliendo debidamente las normas de bioseguridad dentro y fuera del laboratorio. Así también conservar la riqueza de los pueblos y los usos medicinales de la biodiversidad de plantas en el Perú.³⁵

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla1. Control de calidad (organoléptica, física y química)

CONTROL DE CALIDAD	
Color pH	Verde
Olor	Agradable
Ph	5
Extensibilidad	15 cm ²
Uniformidad	Sin partículas extrañas
Densidad	23.32g

Fuente: Pruebas realizadas en laboratorio de Biología de la Facultad de ciencias de la Salud-Uladech católica.

Tab.2. Promedio del halo de inhibición del champú a la concentración del 10%

N° Muestras	Concentración 10%	Medida halo de inhibición
Placa 1	5000 ug/ml	11 mm
Placa 2	5000 ug/ml	11 mm
Placa 3	5000 ug/ml	11 mm
Placa 4	5000 ug/ml	12 mm
Placa 5	5000 ug/ml	12 mm
PROMEDIO		11,4±0.4898

Fuente: Pruebas realizadas en laboratorio de Biología de la Facultad de ciencias de la Salud-Uladech Católica.

Tab.3. Promedio del halo de inhibición del champú a la concentración del 20 %

N° Muestras	Concentración del champú (g/ml)	Medida halo de inhibición
Placa 1	10000ug/ml	13 mm
Placa 2	10000ug/ml	14 mm
Placa 3	10000ug/ml	13 mm
Placa 4	10000ug/ml	13 mm
Placa 5	10000ug/ml	13 mm
Promedio		13,2±0.3399 mm

Fuente: Pruebas realizadas en laboratorio de Biología de la Facultad de ciencias de la Salud-Uladech Católica

Tabla 04 Evaluación del nivel de sensibilidad del efecto antimicótico in vitro del champú en concentraciones al 10 % y 20 % del extracto etanólico de las hojas frente a cepas de *Candida albicans*.

Nivel de sensibilidad de <i>Candida albicans</i>		
Grupos	Halos de inhibición promedio (mm)	Sensibilidad
Control negativo	6 mm \pm 0	Nula
Control positivo	15 \pm 0.152	Sensible
Experimental 01	11 \pm 0.102	Intermedia
Experimental 02	13 \pm 0.113	Intermedia

Fuente: Pruebas realizadas en laboratorio de Biología de la Facultad de ciencias de la Salud-Uladech católica.

Leyenda: Nulo: < 10 mm, Intermedio: 10-13 mm, Sensible: > 13 mm

5.2. Análisis de Resultados:

En cuanto a las características organolépticas del champú en nuestros resultados obtenidos en los ensayos para el control de calidad nos muestran que cumple con buen olor agradable a jazmín, la extensibilidad también es buena pues se demuestra su fácil extensibilidad para mejor lavado de 15cm^2 , en la determinación de partículas extrañas es uniforme sin verse partículas extrañas que puedan irritar la piel.

En relación con el pH, se halló de 5, en nuestro champú obtuvimos ese valor, que difiere con lo encontrado por Camacho²⁴ pues en su elaboración con un champú de Sauco obtuvo un Ph de 6.6, quien hace mención también que obtuvo un olor desagradable.

En la tabla N°02 se obtuvo como promedio de los halos de inhibición observados de la concentración del champú al 10 % frente al crecimiento a *Candida albicans*, cuenta con una actividad inhibitoria sobre el desarrollo del hongo con una concentración (5000 ug/ml) aplicado un halo de inhibición de $11,4 \pm 0.4898$ mm, 100 % de las placas fueron aceptables por los halos encontrados mayores a 10 mm.

En la tabla N°03 se obtuvo como promedio de los halos de inhibición observados de la concentración del champú al 20 % frente al crecimiento a *Candida albicans*, cuenta con una actividad inhibitoria sobre el desarrollo del hongo a una concentración (10000 ug/ml) aplicado un halo de inhibición de $13,2 \pm 0.3399$ mm, con un 100 % de las placas aceptadas por los halos encontrados mayores a 10 mm.

Mientras que para Huamani M; Ruiz J.¹⁴ *Schinus molle* L, mostro acción frente a *Candida albicans* mediante una concentración de 500µg/ml a esa concentración obtuvo efecto antimicótico

Los resultados de la tabla 04 de la sensibilidad según los halos de inhibición de las concentraciones del champú frente al crecimiento a *Candida albicans*, se obtuvieron sensibilidad intermedia por halos de inhibición con diámetros de 11 y 13 mm con el champú a base del extracto de *Shinus molle*.

También observamos que la concentración Inhibitoria Mínima (CIM) (ug/ml) frente a nistatina como control positivo obtuvo un halo de inhibición de 15 mm superior al del champú al 10 %((5000ug/ml) y 20 % (10000ug/ml)

Datos diferentes a lo encontrado por Saravia¹⁶ el año 2015, determino la actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y fluconazol sobre *Candida albicans*, mostrando actividad antifúngica con solo 25µg/ml, con un halo de inhibición ≥ 20 mm.

Según Fuertes et al, detalla que el mecanismo de inhibición del crecimiento de los hongos por parte de metabolitos secundarios principalmente como los flavonoides se da por una capacidad de sus estructura al contar con grupos hidroxilos fenólicos de penetrar las membranas celulares y precipitar las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos.³⁴

Quedando así demostrado que con la formulación en champú elaborado a base del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. Puede conservarse igual la efectividad de la planta frente a *Candida albicans*, contribuyendo a nuevas formulaciones que acerquen sus propiedades de esta planta oriunda del Perú a la población para ayudar a tratarse afecciones comunes como las micosis.

VI. Conclusiones

- El champú a base del extracto etanolico de las hojas de *Shinus molle* tiene efecto antimicótico frente a *Candida albicans*
- Se logró un aceptable control de calidad del champú antimicótico elaborado a base del extracto etanolico de las hojas de *Shinus molle*
- El promedio de los halos de inhibición y la mejor concentración del champú antimicótico fue al 20% (10000ug/ml) con un halo promedio de 13 mm.
- El champú a base del extracto etanolico de las hojas de *Shinus molle* tiene una intermedia sensibilidad.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Rodríguez P, et al. "Actividad antifúngica in vitro de una crema de *Plantago major* L." *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [Internet]. 1996 Oct [citado 2017 Jul 31]; 1(3) : 9-12.
2. Eidi A. "Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats." *Phytomedicine* [Internet]. 2006 Oct [citado 2017 Jul 31] ; 3(9) : 624-629.
3. World Health Organization. "Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005." [Internet]. 2002 [citado 2017 Jul 31]
4. Cermeño J, et al. "Casuística de las micosis en el Hospital Universitario "Ruiz y Páez". Ciudad Bolívar, Venezuela, 2002." *Investigacion clinica* [Internet].2005 Oct [citado 2017 Jul 31] ; 46(1) : 9-12.
5. Artal, E."Diagnóstico histopatológico de las micosis." *Rev Iberoam Micol* [Internet]. 2004 jun [citado 2017 Jul 31] ; 21(1): 1-9.
6. . Arango, A Mesa, J."Productos naturales con actividad antimicótica." *Rev Esp Quimioterap* [Internet].2004 jul [citado 2017 Jul 31] ; 17(4) : 325-331.
7. Cobos S et al. "Elementos generales para analizar sobre las zoonosis." *Correo Científico Médico* [Internet].2014 jun [citado 2017 Jul 31] ; 18(4) : 709-724.
8. Manzano P, et al. "La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México." *Gac Med Mex* [Internet]. 2008 jul [citado 2017 Jul 31] ; 1(3) : 9-12.

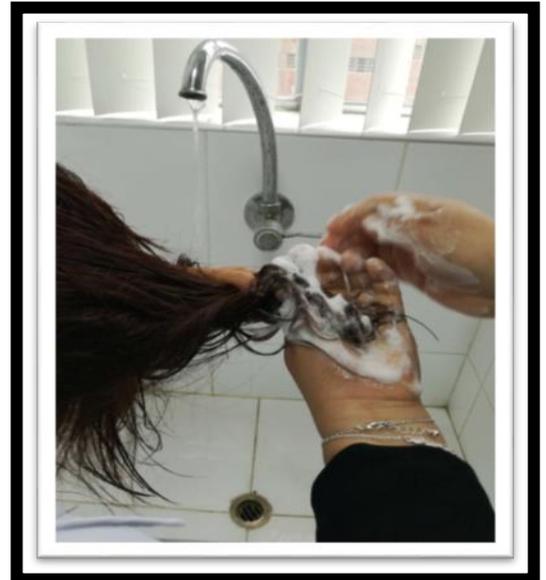
9. Cuenca M. "Antifúngicos en el tratamiento de las infecciones sistémicas: importancia del mecanismo de acción, espectro de actividad y resistencias." *Rev Esp Quimioter[Internet]*. 2008 [citado 2017-08-08], 23 (4): 169-176.
10. Béjar V et al. Epidemiología de las dermatomicosis en 30 años de estudio en el Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. *An. Fac. med.* [Internet]. 2014 jun [citado 2017-08-08], 75(2):167-172
11. Carrillo A, et al. "Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales." *Revista Iberoamericana de Micología* [Internet]. 2010 27.(2): 49-56.
12. Díaz V. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *Allium sativum* (ajo) y su efecto sobre algunas propiedades de fotografía en blanco y negro. Tesis 2010.
13. Saravia N. Actividad antifúngica del extracto de etanol *schinus molle* y el fluconazol sobre *candida albicans*. 2012. Tesis. Universidad Sam Martin de Porres.
14. Villanueva, V. "Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica." *Odontología Sanmarquina* [Internet]. 2008 jul [citado 17 de junio] 13(2): 21-25.
15. Pérez A. "Eficacia terapéutica comparativa entre la podofilina y el *allium sativum* en el condiloma acuminado." *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet]. 2010 jun [citado 17 de junio] 1 (9): 650-657.
16. Vásquez A. "Micosis en El Salvador: un problema de Salud Pública: propiedades antimicóticas In Vitro de una planta natural *Allium sativum*[Internet]. 2001 [citado 17 de junio] 1(27).
17. Cahuas, C, et al. "Efecto in vitro de diferentes concentraciones de *Allium sativum* "ajo" frente a dermatofitos y *Candida albicans*." *UCV-SCIENTIA* . [Internet].2011 jun 2.(2): 23-33.

18. , Cavallito J., and John Hays Bailey. "Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action." *Journal of the American Chemical Society* . [Internet].2011 jun 66(11): 1950-1951.
19. Sharma, G. P., and Suresh Prasad. "Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave–hot air combination." *Journal of food engineering* 50.2 (2001): 99-105.
20. Merino, J., and B. M. J. Noriega. "Piel: estructura y funciones." Universidad de Cantabria. [Internet].2011 jun , [citado 2017 Jul 27],14 (3): 2-11.
21. Tirado C, Martínez R "Cuidados de la piel del anciano." *Dermatología Peruana* , [Internet],2008 jul, [citado 2017 Jul 27], 18(2): 106-110. Disponible en : http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v18_n2/pdf/a05v18n2.pdf
22. Rodríguez E. Castell M,Campos A. "Piel y anexos." *Histología y biología celular* , [Internet],2013 agos, , [citado 2017 Jul 27],2(1):207. Disponible en : <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1995§ionid=150301510>
23. Meruane M. Desarrollo de la Piel y sus Anexos en Vertebrados. *Int. J. Morphol.* [Internet]. 2012 Dic, [citado 2017 Jul 30] ; 30(4): 1422-1433. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022012000400025&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000400025>.
24. Navarrete F. "Histología de la piel." *Revista de la Facultad de Medicina* 46.004 (2009). *Rev Fac Med UNAM*. [Internet]. 2003 sept [citado 2017 Jul 30], 46(4):.130-133. Disponible en: <file:///C:/Users/USER/Downloads/12737-12481-0-PB.pdf>
25. Camacho M, determinación de la actividad insecticida del shampoo con extracto de *Sambucus nigra* L. *Franseria artemisioides* W, y *Tagetes zipaquirensis* H en *Ctenocephalides canis*.. *Rev Cubana Med Gen Integr* [Internet]. 1997 Oct [citado 2017 Jul 31] ; 13(5): 422-428.
26. YasminV, Noraima H, Sarelie C , Clara D , Magdalena C , Oduar S. Especies de *Candida* colonizantes de cavidad oral en pacientes pediátricos oncológicos hospitalizados en el IAHULA, Mérida,Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2014; 34:22-26.

27. Prieto Santa Anna Luz Marina, Díaz Suárez Luis Alberto, Illnait Zaragoz Maria Teresa, Perurena Lancha Mayda Rosa, Cantelar de Francisco Nereyda, Fernandez Andreu Carlos Manuel et al . Susceptibilidad a la nistatina de aislamientos bucales de Candida y su correlación con la respuesta al tratamiento. Rev Cubana Med Trop. 2010 Dic [citado 2016 Sep 05] ; 62(3): 237-244.
28. Llovera Suárez Vilma, Fernandez Andreu Carlos M.. Susceptibilidad in vitro de aislamientos vaginales de Candida frente a clotrimazol y nistatina. Rev Cubana Med Trop.2003 Dic [citado 2016 Sep 05] ; 55(3): 138-145.
29. Pauca, Manrique; KEY, Clarissa. Comparación de la actividad antimicótica in vitro de los extractos acuosos de tomillo" Thymus vulgaris L." y molle" Schinus molle L." sobre cepas de Candida albicans ATCC 10231 Arequipa, 2012-2013. 2013.
30. Gonzales, Jennifer Vásquez; DIAZ, Deyli. Efecto antimicótico in vitro del aceite de molle (*Schinus molle* Linneo) SOBRE Trichophyton mentagrophytes. *Enfoque Veterinario*, 2014, vol. 1, no 01.

ANEXOS

Control de calidad

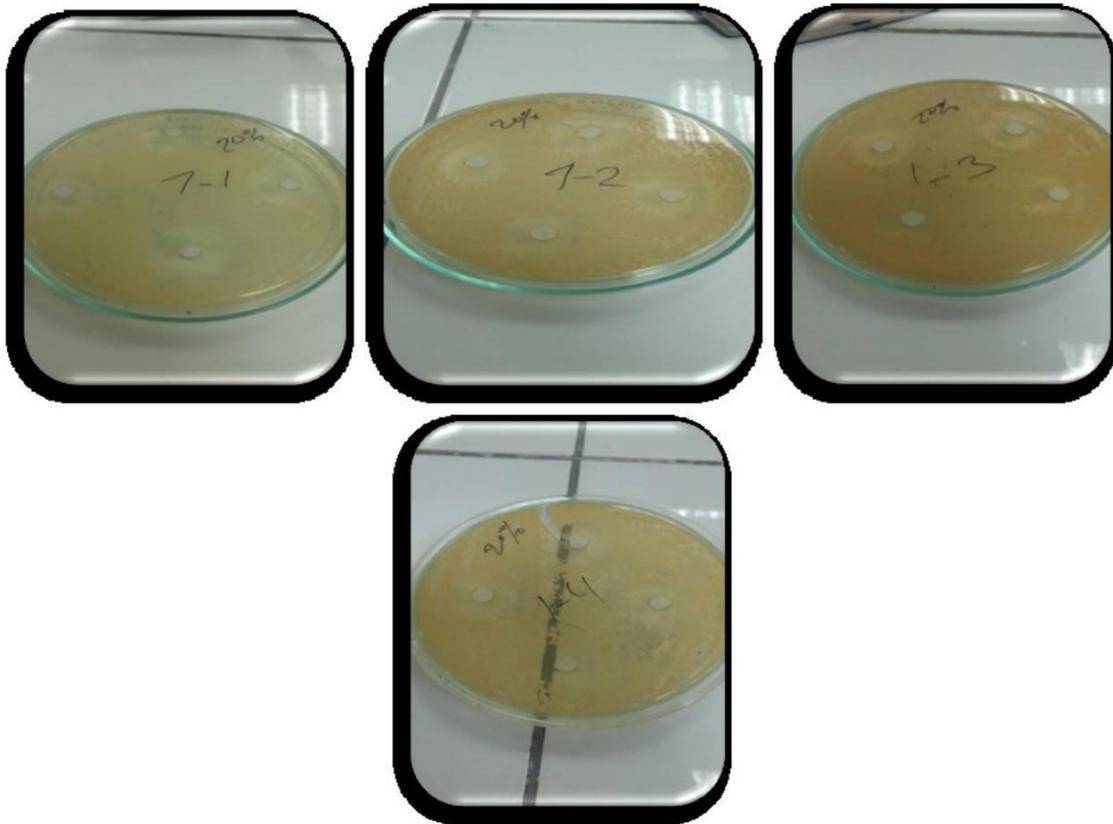


Preparación del medio de cultivo



Nistatina

Las placas con champú al 20 %



NISTATINA-control positivo

Certificado de *Schinus molle*

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Sapindales
- Familia: Anacardiaceae
- Género: ***Schinus***
- Especie: ***S. molle* L.**
- Nombre común: "molle"

Muestra alcanzada a este despacho por THALIA JAKELINE JARA MORALES, identificado con DNI: 73619760, con domicilio legal en Urb. Belén Mz. "F" Lote 12, Nuevo Chimbote. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto antimicótico del champú elaborado a base del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* "molle" frente a *Candida albicans*".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 23 de mayo del 2019



Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT