



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL COLUTORIO MIXTO A
BASE DE ACEITES ESENCIALES DE *ANNONA MURICATA*
Y *MENTHA SPICATA* SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ATCC
10231, TRUJILLO – 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

**AUTOR
BARRETO GAVELAN, MARY LINA
ORCID: 0000-0002-4687-1739**

**ASESOR
HONORES SOLANO, TAMMY MARGARITA
ORCID: 0000-0003-0723-3491**

TRUJILLO – PERÚ

2023

1. Título de la tesis

**EFFECTO ANTIFÚNGICO DEL COLUTORIO
MIXTO A BASE DE ACEITES ESENCIALES DE
ANNONA MURICATA Y *MENTHA SPICATA*
SOBRE *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231,
TRUJILLO - 2019**

2. Equipo de trabajo

AUTOR

Barreto Gavelán, Mary Lina
ORCID: 0000-0002-4687-1739
Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Trujillo, Perú

ASESOR

Honores Solano, Tammy Margarita
ORCID: 0000-0003-0723-3491
Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la
Salud, Escuela Profesional de Odontología, Trujillo, Perú

JURADO

De La Cruz Bravo, Juver Jesús
ORCID: 0000-0002-9237-918X

Chafloque Coronel, César Augusto
ORCID: 0000-0001-5996-1621

Loyola Echeverría, Marco Antonio
ORCID: 0000-0002-5873-132X

3. HOJA DE FIRMA DE JURADO Y ASESOR

Mgr. De La Cruz Bravo, Juver Jesús

Presidente

Mgr. Chafloque Coronel, César Augusto

Miembro

Mgr. Loyola Echeverría, Marco Antonio

Miembro

Mgr. Honores Solano, Tammy Margarita

Asesor

4. Agradecimiento

A Dios, por haberme dado la vida y haberme acompañado a lo largo de mi carrera, por ser mi luz en mi camino y por darme la sabiduría, fortaleza para alcanzar mis objetivos.

A mis padres, porque son el cimiento de mi desarrollo, por brindarme aportes invaluableles que servirán para toda mi vida y por apoyarme en cada paso que he dado.

Dedicatoria

A mis padres quienes han creído en mí siempre, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio; enseñándome a valorar todo lo que tengo. A todos ellos dedico el presente trabajo, porque han fomentado en mí, el deseo de superación y de triunfo en la vida. Lo que ha contribuido a la consecución de este logro. Espero contar siempre con su valioso e incondicional apoyo.

5. Resumen

Objetivo: Determinar el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 5%, 10% y 15 % sobre *Candida albicans*. **Metodología:** Fue de tipo cuantitativa, de nivel explicativo y según su diseño es experimental, transversal, prospectivo, analítico. La población estuvo conformada por placas Petri con cepas de *Candida albicans*. La muestra fue conformada por 10 repeticiones para cada grupo, distribuidas en concentraciones al 5%, 10%, 15%, Nistanina 0,02% (control positivo), Etanol 96° (control negativo). Se utilizó el método de Kirby Bauer de difusión de agar y la lectura se realizó con una regla milimetrada Vernier Digital teniendo en cuenta los parámetros de sensibilidad determinados por la escala de Duraffourd, los cuales fueron registrados en una ficha de recolección de datos. **Resultados:** El promedio de halos de inhibición del colutorio mixto al 5% fue de 5.5 mm (sensibilidad nula), al 10% fue de 12 mm (sensible), al 15% fue de 16.1 mm (muy sensible), del control positivo Nistatina 0,02% fue de 24,20 mm (sumamente sensible), del control negativo Etanol 96° fue de 6.6 mm (sensibilidad nula). **Conclusiones:** El colutorio mixto a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 15%, presentó mayor efecto antifúngico que las otras concentraciones frente a *Candida albicans* ATCC 10231, considerándose muy sensible a la escala de Duraffourd.

Palabras clave: Antifúngico, *Candida albicans*, Extracto, Guanábana, Menta

Abstract

Objective: To determine the antifungal effect of a mixed mouthwash based on essential oils from the leaves of *Annona muricata* and *Mentha spicata* at 5%, 10% and 15% on *Candida albicans*. **Methodology:** It was of a quantitative type, of an explanatory level and according to its design it is experimental, transversal, prospective, analytical. The population consisted of Petric plates with strain of *Candida albicans*. The sample was made up of 10 repetitions for each group, distributed in concentrations of 5%, 10%, 15%, 0.02% Nistanine (positive control), 96° Ethanol (negative control). The Kirby Bauer agar diffusion method was used, and the reading was performed with a Vernier Digital millimeter rule taking into account the sensitivity parameters determined by the Duraffourd scale, which were recorded on a data collection sheet. **Results:** The average inhibition halos of the mixed mouthwash at 5% was 5.5 mm (null sensitivity), at 10% it was 12 mm (sensitive), at 15% it was 16.1 mm (very sensitive), at the positive control Nystatin 0.02% was 24.20 mm (extremely sensitive), the negative control Ethanol 96° was 6.6 mm (null sensitivity). **Conclusions:** The mixed mouthwash based on essential oils from the leaves of *Annona muricata* and *Mentha spicata* at 15%, presented a greater antifungal effect than the other concentrations against *Candida albicans* ATCC 10231, being considered very sensitive to the Duraffourd scale.

Keywords: Antifungal, *Candida albicans*, Extract, Mint, Soursop.

6.- Contenido

1. Título de la tesis	ii
2. Equipo de trabajo	iii
3. Hoja de firma de jurado.....	v
4. Agradecimiento y dedicatoria.....	vi
5. Resumen y abstract	vii
6. Contenido	viii
7. Índice de gráficos, tablas y cuadros... ..	ix
I. Introducción	1
II. Revisión de literatura	3
2.1. Candidiasis.....	16
A. Epidemiología.....	17
B. Etiología.....	17
C. Factores Generales.....	17
D. Factores Locales.....	18
2.2. <i>Candida albicans</i>	18
A. Cultivos selectivos para <i>Candida albicans</i>	19
B. Antimicóticos a los que presentan sensibilidad.....	19
C. Características.....	20
D. Saliva.....	20
E. pH.....	21
F. Adherencia.....	21
G. Hifas.....	21
2.3. <i>Annona muricata</i>	22
A. Hojas.....	22

B. Flores.....	22
C. Frutos y semillas.....	23
D. Actividad antifúngica.....	23
E. Compuestos químicos.....	23
2.1.4 Menta.....	23
A. Composición fitoquímica.....	24
B. Geografía.....	25
C. Propiedades medicinales.....	25
2.1.5 Colutorio.....	26
III. Hipótesis	27
IV. Metodología	28
4.1. Diseño de la investigación	29
4.2. Población y muestra	30
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	32
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	33
4.5. Plan de análisis	40
4.6. Matriz de consistencia.	41
4.7. Principios éticos	42
V. Resultados	43
5.1 Resultados	43
5.2. Análisis de Resultados	46
VI. Conclusiones	48
Aspectos Complementarios	49
Referencias Bibliográficas	50
Anexos	57

7. Índice de tablas

Tabla 1: Efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.....43

Tabla 2: Prueba de Duncan del efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* ATCC 10231.....45

Índice de gráficos

Gráfico 1: Comparación múltiple del efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de las hojas de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	44
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

I. Introducción

Desde la antigüedad la población en todo el mundo, ha reconocido las propiedades de las plantas con el fin de curar alguna dolencia.¹ Las plantas medicinales tienen propiedades reconocidas, que pasan de generación en generación.² En la cavidad bucal encontramos una variedad de bacterias de diferentes especies y varios microorganismos, uno de ellos es *Candida albicans* un hongo, anaerobio facultativo que se encuentra en la cavidad bucal humana, que produce una enfermedad denominada candidiasis.³

El estudio de la menta y guanábana ayuda con la prevención y el tratamiento de enfermedades inflamatorias, destacando sus efectos beneficiosos sobre la candidiasis oral, así como la prevención de la gingivitis y la caries dental. Si tomamos en cuenta el efecto antiinflamatorio y antimicrobiano de la menta y guanábana en el campo odontológico, la utilidad será muy amplia y beneficiosa; no solo para los pacientes sino también para nosotros como futuros odontólogos o investigadores de la profesión.⁴

En el Sur tropical de México, el norte de América del Sur y las Antillas, Centro América, se encuentra la distribución natural de la guanábana, hoy en día crece en lugares húmedas y tropicales a nivel mundial, ya que no es exigente en cuanto al suelo.⁵

Candida albicans, es de gran importancia estomatológica, por su frecuencia y variedad clínica, estas infecciones se observan frecuentemente en personas con distintos tipos de factores predisponentes. Las formas clínicas de

Candida albicans son variables y se han usado diferentes clasificaciones, ya que la mayoría de las personas lo presenta, pero no está muy desarrollado.⁶

A nivel mundial Mgbeahuruike A, et al.⁷ (Nigeria, 2021) realizó un estudio sobre evaluación del potencial antimicrobiano de extractos de semillas de *Annona muricata* sobre patógenos bacterianos y fúngicos resistentes de importancia para la salud pública. Evidenciando que los extractos de plantas (etanol y éter etílico) mostraron efectos antimicrobianos apreciables a 400 mg / ml y, por lo tanto, podrían actuar como un fármaco potencial para la terapia antifúngica frente a *Candida albicans*⁷. Así mismo en León A, et al.⁸ (México, 2020) realizó un estudio sobre efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana, concluyendo que los extractos de pulpa de guanábana pueden ser una alternativa para el desarrollo de productos orgánicos antibacteriales, como pretratamiento para el control biológico de enfermedades y pueden ser estudiados, por su toxicidad, desde el punto de vista farmacéutico.⁸

Rustanti E, Fatmawati Z.⁹ (Indonesia, 2019) realizó un estudio sobre efecto antifúngico de la fracción clorofórmica del extracto etanólico de las hojas de guanábana (*Annona muricata*), concluyendo que la hoja de Guanábana tuvo la mayor actividad antifúngica a una concentración del 30%.⁹

A nivel local Mamani G.¹⁰ (Trujillo, 2015) concluye que el extracto de las hojas de *Annona muricata* presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.¹⁰ Por ello se planteó la siguiente pregunta ¿Existe efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231- Trujillo,

2019? Para dar respuesta a esta pregunta se estableció como objetivo general: Determinar el efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231. Como objetivos específicos: Evaluar el efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 5%, 10% y 15% sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

La investigación se justifica por la relevancia teórica, que presenta la experimentación de *Candida albicans* frente las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata*, que aún no tiene mucha frecuencia de estudios realizados. Así mismo para evidenciar si el colutorio se puede utilizar para llevar un tratamiento de medicina natural como el *Annona muricata* y *Mentha spicata*, ante una de las enfermedades más prevalentes como la Candidiasis oral.

La metodología de la investigación fue de tipo cuantitativa, de nivel explicativo y según su diseño es experimental, transversal, prospectivo, analítico. La población estuvo conformada por placas Petri con cepas de *Candida albicans*. La muestra fue conformada por 10 repeticiones para cada grupo, distribuidas en concentraciones al 5%, 10%, 15%, Nistanina 0,02% (control positivo), Etanol al 96° (control negativo). Se utilizó el método de Kirby Bauer de difusión de agar.

La investigación concluye que, el colutorio mixto a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 15%, presentó mayor efecto antifúngico que las otras concentraciones frente a

Candida albicans ATCC 10231, considerándose muy sensible a la escala de Duraffourd.

La investigación sigue las etapas del método científico, consta de seis capítulos, en el primero se formuló el enunciado del problema, el objetivo general y los objetivos específicos; la justificación, la revisión de la literatura con los antecedentes y bases teóricas, y la hipótesis. Luego se desarrolló la metodología donde se detalla el tipo, nivel y diseño de investigación, la población y muestra, la operacionalización de variables e indicadores, la técnica e instrumento de recolección de datos, el plan de análisis, matriz de consistencia y principios éticos pertinentes. Finalmente se presentó los resultados, mediante tablas y gráficos con su respectiva interpretación, el análisis o discusión de resultados, para luego elaborar las conclusiones y recomendaciones pertinentes.

II. Revisión de la Literatura

Internacionales:

Mgbeahuruike A, et al.⁷ (Nigeria, 2021) Título: Evaluación del potencial antimicrobiano de extractos de semillas de *Annona muricata* sobre patógenos bacterianos y fúngicos resistentes de importancia para la salud pública. **Objetivo:** Determinar el efecto antimicrobiano de *Annona muricata* sobre *Corynebacterium renale* resistente a múltiples fármacos aislado de aves y un patógeno fúngico *Candida albicans*. **Metodología:** Realizó un trabajo de investigación de diseño experimental. La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. El perfil de resistencia del aislado de se comparó con *Candida albicans* utilizando extractos de semillas (hexano, éter etílico y etanol) de *Annona muricata*. a diferentes concentraciones. **Resultados:** Los extractos de hexano y éter etílico mostraron una actividad casi similar en el aislado de *C. albicans* en todas las concentraciones ensayadas. El extracto de etanol mostró el mayor ZI de $17,60 \pm 1,67$ mm en *C. albicans* a 400 mg / ml y esto fue estadísticamente significativo ($P = 0,05$) en comparación con las otras concentraciones. **Conclusión:** Los extractos de plantas (etanol y éter etílico) mostraron efectos antimicrobianos apreciables a 400 mg / ml y, por lo tanto, podrían actuar como un fármaco potencial para la terapia antifúngica frente a *Candida albicans*.

León A, et al.⁸ (México, 2019) Título: Efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana.

Objetivo: Determinar el efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana. **Metodología:** Los extractos se obtuvieron mediante la técnica de hidrodestilación. El hongo que se cultivó fue *Candida albicans* en condiciones de anaerobiosis a 37°C por 48 horas, que fueron estandarizados según el inóculo bacteriano 1×10^6 UFC/ML. La población y muestra estuvieron conformadas por 18 discos de las cepas que fueron reservadas en agar PDA a 28 °C. En este estudio se evaluó la actividad antifúngica, tóxica y antioxidante de 15 extractos fraccionados, obtenidos a partir de tres fracciones (F1, F2 y F3) de cada una de las siguientes muestras: pulpa fresca, pulpa congelada almacenada durante 3, 6 y 12 meses y pulpa tratada térmicamente (70 °C, 30 min) de guanábana (*Annona muricata L.*). **Resultados:** La fracción F3 fue más efectiva como antifúngica y antioxidante; sin embargo, la fracción F3 de pulpa fresca, tuvo la mayor actividad (18 y 20 mm de halo de inhibición, respectivamente); así mismo un 59 % y 38 % de inhibición, además presentó la más alta actividad antioxidante (79 %). **Conclusión:** Los extractos de pulpa de guanábana pueden ser una alternativa para el desarrollo de productos orgánicos antibacteriales, como pre-tratamiento para el control biológico de enfermedades y pueden ser estudiados, por su toxicidad, desde el punto de vista farmacéutico.

Rustanti E, Fatmawati Z.⁹ (Indonesia, 2019) Título: Efecto antifúngico de la fracción clorofórmica del etanol extraer hojas de guanábana (*Annona muricata*, L.). **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de guanábana sobre *Candida albicans*. **Metodología:** El diseño del estudio fue experimental, el cual se llevó a cabo en una muestra de cepas de *Annona muricata*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos de infusión y decocción de las hojas de pampa orégano. Se siguió la lógica del porcentaje de inhibición (PI), un PI > 90% se consideró como muy fuerte 10 (+++); 90% > PI > 1% se consideró fuerte (+), PI. La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. Mediante el método de difusión con una variación de concentración del 10%, 20% y 30%, luego identificados por espectrofotometría UV-VIS y FTIR para determinar compuestos activos como antifúngicos. **Resultados:** La fracción clorofórmica de la hoja de Guanábana tuvo la mayor actividad antifúngica a una concentración del 30% con un diámetro inhibidor de 25,4 mm que se clasificó como fuerte. **Conclusión:** La hoja de Guanábana tuvo la mayor actividad antifúngica a una concentración del 30%.

Wahyuningsih R, Wiryoendjoyo K.¹⁰ (Indonesia, 2019) Título: Prueba de actividad antifúngica del extracto de infusión de hojas de sirsak contra *Candida albicans*. **Objetivo:** Determinar la actividad de la infusión de hojas de guanábana para inhibir o matar el crecimiento del hongo *Candida albicans*. **Metodología:** Realizó un trabajo de investigación de diseño experimental. La población y muestra estuvieron conformadas por discos en difusión de agar. El método utilizado es el método de dilución. Se observó actividad antifúngica al observar la claridad y la turbidez en un 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,79%; 0,40%; 0,20% y 0,10%. El medio utilizado fue medio SGA (Sabouraud Glucose Agar) añadido con 75 ppm de antibióticos cloranfenicol y medio SGC (Sabouraud Glucose Liquid). **Resultados:** La infusión de hojas de guanábana tiene actividad inhibidora y mata el crecimiento del hongo *Candida albicans*. La infusión de hojas de guanábana mostró mejor efecto antifúngico a una concentración del 12,5%. **Conclusión:** La hoja de Guanábana tiene actividad antifúngica frente *Candida Albicans*.

Fisabilillah M. ¹¹ (Indonesia, 2019) **Título:** Efecto del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) contra la sepa de *Candida albicans*.

Objetivo: Examinar el efecto del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) sobre el crecimiento de los hongos *Candida albicans*. **Metodología:** Se realizó el extracto de *Annona muricata* por el método de hidrodestilación y lo diluyó en dimetilsulfóxido para obtener las siguientes concentraciones; 20%, 40%, 60%, 80% y al 100%. Las cepas de *Candida albicans* se sembraron en caldo BHI y se incubó a 37°C por 48 horas para su posterior estandarización con el tubo Mc Farland 1.5x10⁸ bc.ml, luego realizó la prueba de sensibilidad antibiótica Kirby Bauer. El extracto etanólico de hoja de guanábana se obtuvo mediante el método de maceración utilizando disolvente etanol al 70%. Ensayo de actividad antifúngica mediante el método de difusión con la concentración de extracto de hoja de guanábana 20%, 40%, 60%, 80% y 100%. **Resultados:** El extracto etanólico de la hoja de guanábana no puede inhibir el crecimiento de hongos *Candida albicans*. **Conclusión:** El contenido antifúngico en el extracto de hoja de guanábana no es lo suficientemente fuerte como para inhibir el crecimiento de hongos *Candida albicans*.

Handayani P.¹² (Indonesia, 2019) Título: Investigación de extracto de hojas de sirsak (*Annona muricata*.) sobre el crecimiento de hongos *Candida albicans*. **Objetivo:** Determinar la inhibición antifúngica del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata* L.) sobre el crecimiento de *Candida albicans*. **Metodología:** Este estudio utilizó el método de difusión en placa de agar (Kirby Bauer). El extracto de hoja de guanábana se dividió en 5 tratamientos y 3 repeticiones. El tratamiento utilizado fue la concentración de 5% (P1), 15% (P2), 25% (P3), 35% (P4) y 45% (P5). **Resultados:** El extracto de hoja de guanábana tenía un poder inhibitorio contra el crecimiento del hongo *Candida albicans* a saber, a una concentración de 5% de 0,85 mm, 15% de 1,45 mm, una concentración de 25% de 1,48 mm y un control positivo de 9,83 mm. Mientras tanto, a concentraciones del 35%, 45% y control negativo, no se formó ninguna zona de inhibición en el medio SDA. **Conclusión:** El extracto de hoja de guanábana puede inhibir el crecimiento del hongo *Candida albicans*.

Mithun B, et al.¹³ (India, 2019) **Título:** Eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) sobre patógenos orales: un estudio in vitro. **Objetivo:** Evaluar la eficacia antimicrobiana del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata*) en *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* mediante el método de difusión por disco. **Metodología:** Se prepararon extractos de hojas de *Annona muricata* de concentraciones de 1%, 5%, 10%, 15% y 20%. La eficacia antimicrobiana se evaluó mediante el método de difusión en disco contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Candida albicans* en placas de agar. **Resultados:** Todas las concentraciones de extractos fueron efectivas sobre el microbiota excepto *P. Intermedia*. El extracto de Guanábana fue altamente efectivo en especies de *Candida*, con todas las concentraciones exhibiendo propiedades bactericidas y fungicidas. **Conclusión:** El extracto de guanábana cuando se usa contra el microbiota oral, tiene suficientes propiedades antimicrobianas y fungicidas.

Nacionales:

Huamán E.¹⁴ (Huancayo, 2018) Título: Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Annona muricata* frente a microorganismos patógenos - Huancayo 2018. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicrobiana de la *Annona muricata*, una especie de guanábana, frente a microorganismos patógenos durante el año 2018. **Metodología:** La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó a través de la comparación de tres muestras, en las que bajo la técnica de incorporación se depositaron las cepas bacterianas, el extracto etanólico y un marcador antibiótico que sirvió de comparación y que fueron los discos de Amikacina. **Resultados:** Se encontró que dos de las tres cepas bacterianas fueron sensibles al extracto etanólico de la *Annona muricata*, presentando en promedio 13mm de halo inhibitorio para *E. coli* y 12.6 mm para *Candida albicans*. **Conclusión:** El extracto etanólico de *Annona muricata* tiene actividad antifúngica frente *Candida albicans*.

Ruiz J. ¹⁵ (Lima, 2019) **Título:** Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú. **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanólicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas. **Metodología:** La actividad antifúngica se evaluó mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los microorganismos de prueba utilizados fueron las levaduras *Candida albicans* ATCC 10231 cepa clínica, así como, el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404. **Resultados:** De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición ≥ 18 mm (Prueba de Difusión en agar) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* ATCC 16404. **Conclusión:** El extracto de las hojas de *Annona muricata* Guanábana presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

Locales:

Mamani G.¹⁶ (Trujillo, 2019) Título: Evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* (Guanábana) por el método de difusión en placa sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. **Objetivo:** Determinar la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas *Annona muricata* Guanábana sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. **Metodología:** Realizó un trabajo de investigación de diseño experimental puro. Se estudió la actividad antifúngica utilizando el método de difusión en placa, sobre cepas de *Candida albicans*. **Resultados:** La concentración de 60mg/ml el extracto presentó una actividad antifúngica con un halo de inhibición de 14mm en promedio a las 24 horas, a la concentración de 60 mg/ml el extracto presentó una actividad antifúngica con un halo de inhibición de 17mm en promedio a las 48 horas. **Conclusión:** El extracto de las hojas de *Annona muricata* presentó actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

2.1 Marco teórico

2.1.1 Candidiasis.

Candida albicans viene del griego Candidus que significa blanco y albicare significa blanca, este es un hongo dimorfo asexual y saprófito, viene de la familia de los Sacaromicetos. Está formando células gemantes subesféricas que llegan a medir alrededor de 3-7 x 2-6 μm , estas células tienen una función muy importante en la digestión, asimilando y fermentando los azúcares. Se caracteriza por presentar crecimiento rápido, sus colonias presentan forma circular de consistencia pastosa, se caracteriza por su olor a levadura, la encontramos presente en la cavidad bucal en los tractos digestivo y respiratorio al igual que la vemos presente en la vagina.¹⁷

Candida albicans presenta levaduras que se encuentran en todos los seres humanos sanos, ésta se manifiesta como unas placas cremosas, blanquecinas, que pueden localizarse en el dorso de la lengua, velo del paladar, mucosa gingival y genital, para su crecimiento suele presentarse un desequilibrio al bajar las defensas del sistema inmunológico.¹⁷

A. Epidemiología:

La candidiasis es una enfermedad cosmopolita, y una de las micosis más importantes y de mayor frecuencia en la cavidad bucal, en casos más frecuentes afecta a ambos sexos, y cualquier edad.¹⁸

Candida es uno de los géneros más habituales en boca, sistema gastrointestinal, vagina y piel, por lo que está considerado como uno de los agentes más infecciosos endógenos. ¹⁸

B. Etiología

Candida albicans es el agente causal de la candidiasis, aunque otros hongos de la especie pueden ser también patógenos para el hombre. Este hongo se convierte en patógeno de la cavidad bucal cuando se presenta dentro de la boca, hay diferentes factores sistémicos tanto generales como locales. ¹⁸

Factores generales: ¹⁸

- Diabetes o prediabetes.
- Leucemias.
- Cánceres diseminados.
- Obesidad.

Factores locales: ¹⁸

- Prótesis removibles (estomatitis subplaca).
- Xerostomía.
- Disminución de la dimensión vertical (comisural).
- Falta de higiene

2.1.2. *Candida albicans*:

Candida albicans en la cavidad oral no es indicativo de enfermedad. En muchos individuos, *Candida albicans* es un componente menor de su flora oral, y no tienen síntomas clínicos. En ciertos sectores de la población, sin embargo, la candidiasis oral ocurre con frecuencia y requiere terapia antifúngica, las presentaciones orales de la candidiasis según sus características clínicas, varían desde las grandes placas blancas pseudomembranosa en la lengua y la mucosa bucal.¹⁹

Generalmente *Candida albicans* se encuentra presente en el 80% de todos los hongos, levaduras, de la mucosa oral.¹⁹

A. Cultivos selectivos para *Candida albicans*

En cuanto a cultivos o agares selectivos para *Candida albicans*, tenemos el agar sabouraud con glucosa. Es un medio con un pH bajo, y se utiliza mucho porque es selectivo en parcialidad para hongos y también es de elección por su grado muy elevado de glucosa, este agar sin duda es adecuado para “incubación” de hongos y la literatura refiere que se han usado muchos inhibidores bacterianos.²⁰

En el agar sabouraud son fuente de nitrógeno, las peptonas. La dextrosa o también conocida como glucosa es una fuente de energía para que estos hongos crezcan.²⁰

B. Antimicóticos a los que presenta sensibilidad

Candida albicans es una bacteria aislada en los casos de candidiasis y presenta distintos tipos de perfil fúngico o microbiano, se debe tomar consideraciones importantes para el tratamiento de esta enfermedad. ²⁰

La *Candida albicans* es sensible a fluconazol. Por lo tanto, el fluconazol sigue teniendo un papel importante en el tratamiento, para combatir la candidiasis. ²⁰

C. Características:

Candida albicans presenta diferentes manifestaciones clínicas, la formación de biopelículas en la superficie de la lengua y mucosa oral.

Candida albicans es un hongo dimórfico, es decir, crece de diferente manera en función de la T° de crecimiento, como levadura, habitualmente a 37°C en el huésped, y como hongo de presencia filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Corresponde al filo *Ascomycota* y procrea de modo asexual por gemación. ²¹

En la mayoría de los casos el medio ácido del pH favorece la colonización de la mucosa oral, para otras especies de *Candida*. De igual forma se ha visto que pacientes con presencia de placa bacteriana que usan prótesis removibles, presentan valores bajos de pH. ²²

D. Adherencia:

Candida albicans, presenta mayor adherencia a las células de la mucosa bucal y a las prótesis hechas de acrílico, favorecido por la falta de higiene, iniciando la fase exponencial de crecimiento de hongos en la cavidad oral.²³

E. Hifas:

Existe un acuerdo entre la mayoría de los investigadores con respecto a que las hifas de *Candida albicans* están asociadas con su capacidad invasiva. Se ha demostrado que existe una estrecha correlación entre la formación del tubo germinal y el incremento de la adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales bucales, por lo que se ha sugerido ser uno de los mecanismos relacionados con la virulencia por parte de las especies de *Candida albicans*.²⁴

2.1.4. Guanábana : *Annona muricata*

La guanábana pertenece a la familia *Annonaceae* y es originaria de América. Su etimología procede del arawak wanabán (Tierra Americana, 1999). El árbol frutal crece proyectándose para la industria de la farmacología, ya que son utilizadas las hojas y las semillas de la planta.²⁵

Es un árbol pequeño de aproximadamente 6 hasta 10 metros de altura. Presenta un tronco recto, corteza lisa y ramas delgadas.²⁵

A. Hojas

Las hojas presentan forma ovalada, mayormente elípticas, de aproximadamente 5 a 15 cm de largo por 2-6 cm de ancho, de color verde oscuro, mayormente cortas y poco redondeadas en su base.²⁶

B. Flores

Las flores, presentan formas de ramitas cortas pegadas al tronco.

Presentan 3 sépalos verdes y 6 pétalos de color cremoso.²⁷

C. Frutos y Semillas

La guanábana presenta el fruto más grande de su género. Mide aproximadamente de 14 a 40 cm de largo y 12 a 18 cm de ancho, es asimétrico, elipsoidal u ovoide, está protegido por una capa delgada de color verde oscuro, también presenta pequeñas espinas sobre la cáscara de 0,3 a 0,5. La fruta es considerada como tropical que es exótica, climatérica, presenta características que se utilizan como potencial de un producto fresco o transformado.²⁸

D. Composición química

Las hojas de guanábana contienen flavonoides, polifenoles y proteínas.

Asociados a sus efectos terapéuticos encontramos:

- Vitaminas

- Taninos
- Aceites esenciales
- Alcoholes

Por un lado, se debe recalcar su alto contenido de taninos (tanto de la familia de los catecoles como de los pirogaloles), en una proporción muy elevada que puede llegar a 30% en la corteza y que en las hojas alcanza a 8-15%, con una concentración similar en los frutos verdes, que pierden su tanino al madurar.²⁸

2.1.5. Menta

La Menta proveniente del cruzamiento de *Mentha aquática* y *Mentha spicata*, es una planta híbrida y estéril. El género *Mentha* pertenece a la familia *Lamiaceae* (Labiadas) y está compuesto por unas 25 especies, que se pueden hibridar con suma facilidad; además presenta morfología y genética, lo que hace, en numerosos casos, que no se pueda conocer con precisión los límites de cada especie; por todo ello existen notables discordancias entre los autores del género.²⁶

Dicha morfología y genética hace posible la existencia de múltiples "tipos" locales, posteriormente fijados, que dan lugar a numerosas variedades de cultivo. Son especies herbáceas con aceites esenciales, lo que ha hecho que hayan sido cultivadas desde hace mucho tiempo como saborizantes.²⁶

La podemos encontrar normalmente en Europa Central y del Sur, pero fue utilizada por primera vez en Inglaterra. Siendo el día de hoy EEUU el país productor de *Mentha spicata* en el mundo.²⁶

A. Composición Fitoquímica

En épocas primitivas la *Mentha spicata* fue utilizada para el tratamiento de muchas enfermedades, de las que provocaba efectos fisiológicos múltiples, debido a que la planta presenta más de un principio activo y ayudaba a que el dolor disminuyera.²⁷

El principal componente en el aceite esencial es el aceite mentol, de 45 – 70%, ya que este elemento da olor característico que se presenta en las propiedades farmacológicas.²⁸

B. Propiedades medicinales

Esta planta posee cualidades astringentes ayudando a superar la diarrea y aliviar los cuadros intestinales como la gastroenteritis, debido que al gran número de flavonoides y taninos.²⁹

La gran cantidad de flavonoides y taninos que presenta ayuda a tonificar y preservar firme la piel y no grasosa. Siendo abundante en vitaminas A, B, C y potasio otorga antioxidantes y desintoxicantes que mantiene la piel saludable.²⁹ Igualmente controla la presión arterial , colesterol en sangre, previene la diabetes y previene enfermedades degenerativas por el contenido de ácido ascórbico.²⁹

2.1. 6 Colutorios

Los colutorios son una solución líquida que se utiliza para realizar enjuagues que actúan alrededor de dientes, encías y lengua. La acción del colutorio favorece la higiene bucodental diaria, evitando la formación de placa bacteriana que se origina por la acumulación de restos de comida entre dientes y encías. Varios compuestos han sido evaluados para determinar su eficacia en la placa supragingival y la gingivitis, fenol, aceites esenciales, triclosán y extracto de hierbas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que estos productos podrían asociarse a enfermedades tales como cáncer oral y de faringe. Debido a su uso, y a su contenido de alcohol. No obstante, esta apreciación todavía no ha sido demostrada, pero sería considerable eliminar el alcohol presente en los enjuagues bucales para uso diario y realizar la búsqueda de nuevas formulaciones. ³⁰

III. Hipótesis de Investigación:

H_i: Existe efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Hipótesis Estadísticas

H₀: No existe efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

H₁: Si existe efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

IV. Metodología

4.1 Diseño de la investigación

Tipo de Investigación:

- Según el enfoque es: cuantitativo.
 - Supo J.³¹ (2014) Usa la recolección de datos, con base en la medición numérica y el análisis estadístico, para establecer patrones de comportamiento y probar teorías.
- Según la intervención del investigador es: experimental.
 - Supo J.³¹(2014) Analiza el efecto producido por una o más variables independientes sobre una o varias dependientas.
- Según la planificación de la toma de datos es: prospectivo.
 - Supo J.³¹ (2014) Los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación (primarios). Por lo que, posee control del sesgo de medición.
- Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio es: transversal.
 - Supo J.³¹ (2014) Todas las variables son medidas en una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.
- Según el número de variables de interés es: analítico.
 - Supo J.³¹ (2014) El análisis estadístico por lo menos es bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores.

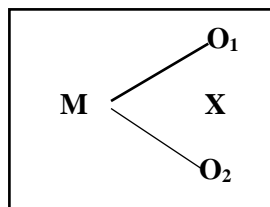
Nivel de investigación

- La presente investigación es de nivel: explicativo.
 - Supo J.³¹ (2014) Explica el comportamiento de una variable en función de otra(s); por ser estudios de causa-efecto requieren control y debe cumplir otros criterios de causalidad. El control estadístico es multivariado a fin de descartar asociaciones aleatorias, casuales o espurias entre la variable independiente y dependiente.

Diseño de investigación

- La investigación es de diseño: experimental de grupos en paralelo.
 - Supo J.³¹ (2014) Se toman grupos, luego a cada grupo se le da un estímulo diferente y se hace un post test.

➤ Esquema de investigación



M = Muestra

O₁ = Medición experimental de la variable dependiente.

X = Variable independiente

O₂ = Medición experimental de la variable independiente.

4.2 Población y muestra

4.2.1 Población:

Estuvo conformada por el conjunto de placas Petri con siembra adecuada de *Candida albicans* con diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

4.2.2 Criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión

Placa Petri inoculada con *Candida albicans* ATCC 10231 en medio de cultivo.

Placa Petri con colutorio a base de aceites esenciales.

Criterios de exclusión

Placas Petri que después del proceso de incubación, presentaron contaminación por otros microorganismos (bacterias u hongos)

4.2.3 Tamaño de Muestra

El tamaño de muestra para el presente estudio se calculó utilizando la fórmula de comparación de medias, aplicada a una población finita.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \cdot 2s^2}{(x_1 - x_2)^2}$$

$Z_{\alpha/2} = 1.96$; coeficiente de la distribución normal para un $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$; coeficiente de la distribución normal para un $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (x_1 - x_2)$ el cual es un valor asumido por no estar bien definidos los valores paramétricos en estudios similares. ²⁸

Luego Reemplazando obtenemos: **n = 10 placas**

Es decir, se necesitaron 10 placas seleccionadas aleatoriamente para cada grupo de tratamiento. En total fueron 5 grupos: 10 placas para cada concentración del 5%, 10%, del 15%, 10 placas para el control negativo y 10 placas para el control positivo.

4.2.4 Tipo de Muestreo:

No probabilístico por conveniencia

4.3 DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Dimensión	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador	Valor final
<p>Efecto antifúngico sobre <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Dependiente</p>	<p>Capacidad para detener la reproducción o reproducir la muerte de un agente bacteriano o fúngico en condiciones experimentales.¹⁹</p>	Halos de Inhibición	<p>Medición del efecto antibacteriano por medio del método de Kirby Bauer.</p>	Cualitativa	Ordinal	Diámetro de halos de inhibición	<p>-Nula (-) diámetro inferior a 8 mm.</p> <p>-Bajo (sensible +) entre 8 a 14 mm.</p> <p>-Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.</p> <p>-Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm..</p>
<p>Colutorio a base de Aceites Esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha Spicata</i>.</p> <p>Independiente</p>	<p>Son agentes quimioterapéuticos que pueden desempeñar una función principal como complemento de los métodos mecánicos para la prevención y el tratamiento de las patologías bucales.³⁰</p>	Concentración del colutorio	<p>Es una forma farmacéutica a tipo solución acuosa viscosa usada para el tratamiento tópico de afecciones bucales.</p>	Cuantitativa	Razón	Concentración del colutorio (%)	<p>5% (50mg/ml)</p> <p>10% (100mg/ml)</p> <p>15% (150mg/ml)</p>

4.4 Técnica e instrumentos

Técnica: Observación

Instrumento: Como instrumento técnico se utilizó la regla milimetrada Vernier Digital Marca Mitutoyo – Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150 umm / 0-6”, por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025. (Anexo 09).

Procedimiento:

1. Recolección de la muestra

Se recolectó 1 Kg de hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* del Jardín Botánico de la Universidad Nacional de Trujillo., del distrito de Trujillo, provincia Trujillo, Región La Libertad.

2. Identificación y determinación taxonómica de la especie

Un ejemplar completo de la planta se llevó al Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y determinación taxonómica. (Anexo 3)

Preparación de la muestra vegetal

Para este estudio se contó con la colaboración de docente encargada del laboratorio de farmacognosia quien guió en el proceso de elaboración del extracto etanólico. (Anexo 4)

Selección: Se seleccionaron las hojas que estuvieron en buenas condiciones, que no tuvieron ataque de hongos, ni estuvieron marchitadas o decoloradas.

Lavado: Se procedió a lavar la muestra vegetal con agua destilada, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente se realizó un enjuague con agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.³²

Secado: Las hojas fueron colocadas en papeles Kraft, y se llevaron a secar a una estufa de circulación de aire por convección forzada (40 °C) por 48 horas.³²

Pulverización: Las hojas una vez secadas fueron pulverizadas con ayuda de un molino.

Tamizaje: Luego las hojas pulverizadas, fueron tamizadas a través del tamiz N° 0.75.

Almacenamiento: El polvo de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* se guardó en frascos de vidrio de color ámbar de boca ancha.³²

Preparación de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata*.

Se pesaron por separado 200 g de polvo de hojas se colocaron en sus respectivos recipientes de vidrio de boca ancha color ámbar. Se añadió etanol-agua (7:3) 2 litros. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se taparon los recipientes y se maceraron por 7 días, agitándose 15 minutos, dos veces al día.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró los macerados usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico.³²

A continuación, cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. De estos, se prepararon las concentraciones de 5%(50mg/mL), 10%(100mg/mL) y 15%(150mg/mL) disueltas en etanol-agua (7:3). Finalmente, los extractos fueron filtrados con filtros Millex (Millipore) de 0,22 mm para esterilizar el extracto y fueron guardados en frascos de vidrio de color ámbar estéril en refrigeración a 4 °C.³²

Preparación de colutorios compuesto de aceite esencial de *Annona muricata* y *Mentha spicata* frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Se prepararon colutorios empleando aceite esencial de guanábana y menta, para lo cual se realizaron tres formulaciones a concentraciones de 5, 10 y 15%.

Obtención de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

Para este estudio se utilizó la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 obtenida a través de la compra en GenLab del Perú S.A.C. (Anexo 6)

3. Reactivación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Se contó con la colaboración de la microbióloga que me guió en el procedimiento de reactivación de la cepa de *Candida albicans* y enfrentamiento microbiológico. (Anexo 6)

Para este estudio se utilizó cultivo liofilizado de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. La reactivación se realizó sembrando el cultivo

liofilizado en balón de 50 mL con 25 mL de Caldo Brain Heart Infusion (BHI) o Cerebro Corazón Infusión, luego se incubaron a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia y con el método de la vela.³²

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSYB e incubó a 37 °C por 48 horas en condiciones de microaerofilia. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Candida albicans* para realizar coloración gran.³²

A partir de una colonia se sembraron en caldo BHI y en Agar Tripticasa Soya (TSA), y se conservaron hasta su posterior empleo.³²

4.- Medición del efecto antifúngico:

Luego de sembrar la cepa de *Candida albicans* en las placas Petri se realizó la técnica de susceptibilidad utilizando el método de difusión de discos o método de kirby-bauer ,se prepararon discos de papel filtro estériles y se les sumergió dentro de las concentraciones del extracto etanólico de *Annona muricata* al 5% (50 mg/ml), 10% (100 mg/ml), 15% (150 mg/ml) después con una aguja estéril fueron colocados los discos sobre los cultivos de bacterias en las placas Petri preparadas previamente, se colocaron 4 discos por cada placa de agar posteriormente las placas de incubaron a 37 grados durante 24 horas . Finalmente, la lectura de los resultados se lleva a cabo a las 24 horas se miden los halos de inhibición incluyendo el área de los discos de papel filtro con una regla milimetrada. Las lecturas de los halos de inhibición se miden en milímetros teniendo en cuenta la escala de Duraffourd 2016.³³

A. Para medir efecto antifúngico:

Se colocó los discos de papel filtro Wattman impregnados con cada concentración y combinación preparada de los aceites esenciales, con la ayuda de una aguja estéril, las placas se mantuvieron en la misma posición por un periodo de 5 minutos luego de este tiempo las placas se voltearon de posición y se incubaron a 37 grados centígrados por 48 horas. Todo el procedimiento se llevó a cabo dentro del diámetro de 10cm de la llama de un mechero.³³

a.- Preparación de los medios de cultivo

El medio de cultivo Dextrosa Sabouraud se preparó siguiendo las instrucciones e ilustraciones de la casa fabricante, repartiéndose luego el medio en las 50 placas Petri, hasta llegar a un volumen aproximado de 5 mm por placa.³³

Posteriormente se dejó solidificar a temperatura del medio ambiente durante un corto, periodo de tiempo (15 minutos), inmediatamente las placas fueron rotuladas con la ayuda de un marcador en la parte ulterior con el nombre correspondiente para identificar la placa.³³

Además, se añadió al proceso el control de esterilidad, dejando una preparación del agar sin el proceso de inoculación, incubando a 37°C por 24 horas.³³

b.- Preparación del Inóculo

Se realizó el ajuste de la turbidez del inóculo fúngico, con el estándar de la escala de Mc Farland. Se usó la suspensión estandarizada del agente micótico (*Cándida albicans*) a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml, se procedió a tomar 100 μ l de la suspensión bacteriana y con la ayuda de la micropipeta se transfirieron a las placas Petri con contenido de agar Dextrosa Sabouraud.³³

B. Lectura de las placas:

Se realizó a las 48 horas. Mediante la supervisión de cada placa. La actividad antifúngica fue determinada por la inhibición del halo inhibitorio alrededor de los discos, medida mediante una regla el cual nos determinó la cantidad en milímetros de diámetro del halo de inhibición.³³

3.6 Plan de análisis

Se utilizaron tablas de resumen de una entrada, así como gráficos adecuados para presentar los resultados de la investigación.

Para comparar el efecto antifúngico entre las concentraciones de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231 se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para un diseño completamente al azar y luego se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Duncan. Todas las pruebas estadísticas tuvieron un nivel de significancia del 5%. Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y SPSS.

Se realizó la prueba de normalidad que verificó que las muestras provienen de una población con Distribución Normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk; en base a ello se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas. Análisis bivariado: se realizó el análisis entre las variables, que presentaron distribución normal, se utilizó la prueba estadística ANOVA. Para determinar la efectividad del colutorio, la decisión se tomó en base a la significancia mostrada por la prueba estadística paramétrica ANOVA con un nivel de confianza del 95% y una significancia del 5% ($p < 0,05$).

4.6 MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLE	MUESTRA	METODOLOGÍA
<p>Cuál es el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> sobre <i>Candida albicans</i>?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> al 5 % sobre <i>Candida albicans</i>. - Evaluar el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> al 10 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. - Evaluar el efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de 	<p>Hipótesis de investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> • H_i: Existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. <p>Hipótesis Estadísticas</p> <ul style="list-style-type: none"> • H₀: No existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. • H_A: Si existe efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona</i> 	<p>Variable Dependiente:</p> <p>Efecto antifúngico sobre <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Variable Independiente:</p> <p>Colutorio mixto de aceite esencial</p>	<p>La muestra fue de 10 repeticiones para cada grupo (5grupos), distribuidas en concentraciones al 5%, 10%, 15% y Nistanina 0,02% (control positivo), Etanol al 96° (control egativo).</p>	<p>Tipo: cuantitativo, experimental, prospectivo, transversal, analítico.</p> <p>Nivel: explicativo</p> <p>Diseño: experimental</p> <p>POBLACIÓN Y MUESTRA: Placas Petri que contienen el microorganismo. La muestra fue determinada por fórmula estadística, siendo 10 repeticiones</p> <p>Para cada uno de los 5 grupos, tanto para las</p>

	<p>aceites esenciales de <i>Annona muricata</i> y <i>Mentha spicata</i> sobre</p> <p><i>Candida albicans</i> al 15 % sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p>	<p><i>muricata</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</p>			<p>concentraciones de colutorio al 5%, 10% y 15%, Nistanina 0,02% (control positivo), Etanol al 96° (control negativo).</p> <p>MATERIAL Y MÉTODOS: Se utilizó el método – Kirby Bauer (antibiograma).</p> <p>Además se utilizó la regla milimetrada Vernier Digital.</p>
--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------	--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

4.7 Principios éticos:

Este estudio de investigación se basó en el código de ética de la Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote usando el principio de Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad. Se informó sin cambiar ningún dato encontrado en el estudio de investigación, asegurándose la validez, fiabilidad y credibilidad en la aplicación del instrumento. Los residuos microbiológicos fueron eliminados de manera permanente por las Normas de Bioseguridad, las placas Petri con las cepas *Candida albicans*, el material de vidrio utilizado, hisopos y puntas de micropipetas en primer lugar fueron esterilizados en la autoclave a 121° C por 30 minutos, finalmente se desecharon los restos en una bolsa de color rojo, de acuerdo al protocolo establecido en el manejo de residuos peligrosos, biomédicos en los laboratorios de diagnóstico biológico.³⁴

Justicia. - El investigador ejerce un juicio razonable, ponderable y toma las precauciones necesarias para asegurar que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. Se reconoce que la equidad y la justicia otorgan a todas las personas que participan en la investigación derecho a acceder a sus resultados.³⁴

Integridad científica. - La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación.³⁴

V. Resultados

5.1 Resultados

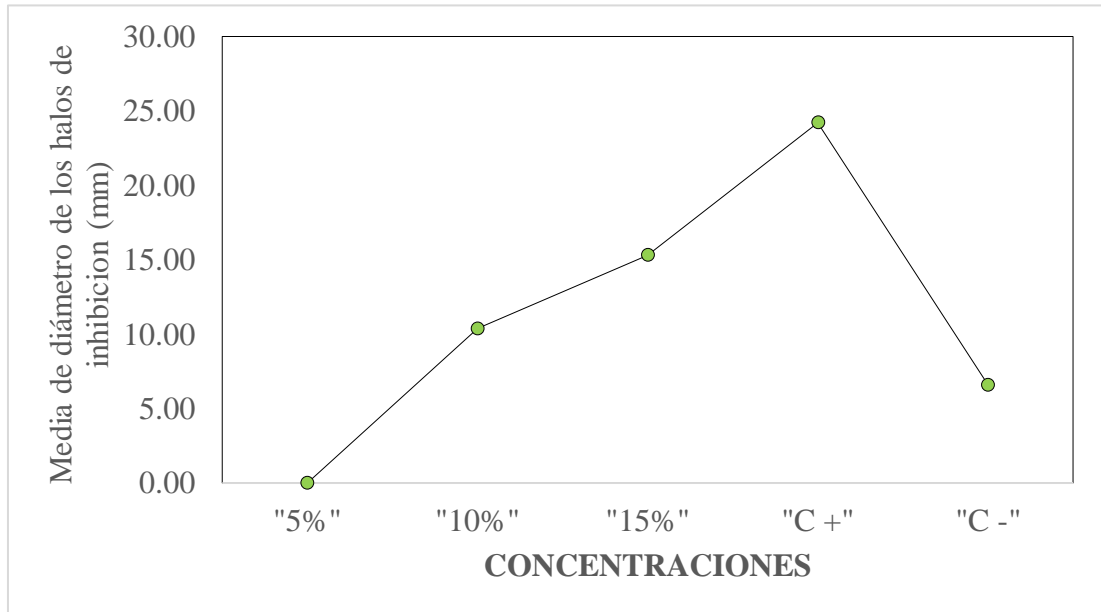
Tabla 1: Efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Concentración	n	N	Media	Desviación	95% del intervalo de confianza para la media		p*
					Límite inferior	Límite superior	
5%	10	5,0010	5,0010	5,0010	5,0010		
10%	10	12,0000	,67626	9,8962	10,8638		
15%	10	16,0100	,48178	14,9654	15,6546	0.000	
C ⁺	10	24,2000	1,06145	23,4407	24,9593		
C ⁻	10	6,6000	,51640	6,2306	6,9694		

*prueba ANOVA

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Gráfico 1: Efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 1

INTERPRETACION:

Se comparó el efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15%, C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó para la concentración 5%, una medida de 5.5 mm (actividad antifúngica nulo) a la concentración 10%, una media de 12 mm (actividad antifúngica sensible), a la concentración 15%, asimismo una media de 16,1mm (muy sensible) al C+, una media 24,20mm (sumamente sensible), al C- , con una medida de 6.60 mm (efecto nulo). Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo $p=0.000$, lo cual indica que si existe diferencia estadística significativa entre las tres concentraciones y los controles.

Tabla 2. Comparación múltiple del efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Duncan		Halos de inhibición				
		Subconjunto para alfa = 0.05				
concentraciones	N	1	2	3	4	5
concentración al 5%	10	5,005				
control negativo	10		6,006			
concentración al 10%	10			12,000		
concentración al 15%	10				16,010	
control positivo	10					24,200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se comparó el efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15% y también el C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó que la concentración al 5% y el C- tuvieron un efecto nulo, la concentración al 10% tuvo una sensibilidad límite, el 15% tuvo un efecto medio y el C+ tuvo un efecto sumamente sensible.

5.2 Análisis de Resultados

En el presente estudio se evaluó la actividad antifúngica del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* en primera instancia se evaluaron de manera grupal encontrando que tanto el colutorio de *Annona muricata* y *Mentha spicata* 15% presentan mayor efecto antifúngico, donde se encontró como resultado que la cepa *Candida albicans* es sensible al colutorio mixto de *Annona muricata* y *Mentha spicata* con 16.1 mm de crecimiento máximo, los resultados concuerdan con los hallazgos de Huamán E.¹⁴ (Huancayo, 2018) y Wahyuningsih R, et al.¹⁰ (Indonesia, 2019) quienes a partir de su estudio lograron encontrar un efecto antifúngico de la planta de la misma especie frente a *Candida albicans* sin embargo existen diferencias de inhibición, por lo que debemos considerar factores como el método empleado para la realización del extracto, debido a que existen elemento como el tiempo de maceración, la dosis de etanol empleado, el peso en gramos considerados de las plantas para disolverlos en etanol. Otro punto a considerar es la técnica empleada para determinar el efecto antifúngico, como es el caso de Ruiz J¹⁵ (Lima-2019, quien en su estudio utilizó la técnica de micro dilución en cultivos de caldos, lo cual también será representativo para encontrar los promedios de inhibición, considerando que al trabajar con discos se puede tener una medición exacta del halo de inhibición y en el caso de los cultivos en caldos se utiliza los grados de turbidez. Los estudios de Mithun B, et al.¹³ (India, 2019), Handayani P.¹² (Indonesia, 2019), también presentaron resultados similares, ambos realizando un extracto de *Annona muricata* combinado con otras plantas. Estos extractos

presentan flavonoides, saponinas y esteroides, los cuales tienen capacidad de causar filtración de proteínas y enzimas de las células bacterianas, además, de causar fugas de liposomas. Hay resultados contradictorios con Fisabilillah M.¹¹ (Indonesia, 2019) quien en su estudio obtuvo resultados diferentes en sus halos de inhibición con un efecto mínimo casi nulo, el cual puede deberse a las variaciones metodológicas y los materiales empleados, también puede deberse a diversos factores como la técnica de valoración, medio de crecimiento, microorganismos empleados y la composición química de los extractos. Esto también se debería al lugar donde se desarrolló la planta, como el suelo, clima, altura generando alteraciones en su composición. El estudio de Huamán E. (Huancayo, 2019)¹⁴, también presentó resultados contradictorios, indicando que el extracto de *Annona muricata* tuvo un efecto antibacteriano nulo sobre cepas de *Candida albicans* ya que no produjeron halos de inhibición, pese a que presentó concentraciones similares a nuestro estudio. Esto indica que el resultado pudo haber sido alterado debido a la metodología y material empleado. Existe diferencias entre las concentraciones del extracto y colutorio de hoja de *Annona muricata* al 5%, 15% y 30%. Estos valores se prepararon con el propósito de obtener un efecto antifúngico diferente para cada concentración y evaluar si existe o no efecto frente a la cepa.

VI. Conclusiones

- El colutorio mixto a base de aceite esencial de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 15%, presentó mayor efecto antifúngico sobre *Candida albicans* ATCC 10231 a comparación de las concentraciones del 5% y 10%.
- El control positivo Nistatina al 0.02%, presentó mayor efecto antifúngico comparado con el colutorio mixto a base de aceite esencial de *Annona muricata* y *Mentha spicata* a diferentes concentraciones.
- El control negativo Etanol 96° y la concentración al 5%, no presentaron efecto antifúngico.
- Según la escala de Duraffourd, *Candida albicans* es muy sensible frente al colutorio a base de aceite esencial de de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 15%.

Aspectos Complementarios

Recomendaciones

- Se recomienda al director de escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, que implemente la línea de investigación sobre el uso terapéutico de las plantas medicinales para promover investigaciones con respecto a patologías bucales y hallar alternativa de tratamiento contra diversas enfermedades.

Referencias bibliográficas

1. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Medicina tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anal Fac Med* (20016)62: 156-161. doi: 10.15381/anales.v62i2.4167. [Internet]. [Consultado 5 Septiembre 2018].
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024
2. Barros F, Oliveira R, Alves F, Bezerra L, Martins J, Melo H. Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes. *Eur J Integrative Med* 8: 505- 512. DOI (2016): [Internet]. [Consultado 28 May 2019]. [Internet]. 2014 [Consultado 8 Septiembre 2018].
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024
3. Borboa J, Rueda E, Acedo E, Ponce J, Cruz M, García J, Ortega M. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* Subespecie *michiganensis*. *Trop Subtrop Agrosyst* (2010). 12: 539-547. [Internet]. [Consultado 28 Octubre 2018].
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000400024
4. Giannenas I, Skoufos J, Giannakopoulos C, Wiemann M, Gortzi O, Lalas S, Kyriazakis I. Effects of essential oils on milk production, milk

- composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *J Dairy Sci* (2011). 94: 5569-5577. doi: 10.3168/jds.2010-4096 [Internet]. [Consultado 8 Septiembre 2018]. <https://pdfs.semanticscholar.org/5d0a/e69045f50482c60d37c83326ca0f3db67fcc.pdf>
5. Gonzáles MV. Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010. [Internet]. [Consultado 10 Septiembre 2018]. <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/pr/article/view/483>
6. Romero M. Plantas aromáticas: Tratado de aromaterapia científica. Buenos Aires: Kier; 2004. [Internet]. [Consultado 28 Noviembre 2018]. http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/aromaticas/publicaciones/Hiervas_2012_06Jun.pdf
7. Mgbeahuruike A, Hubert A, Joshua P, Nwoko I, Salawudeen M. Evaluation of the antimicrobial potential of *Annona Muricata* seed extracts on resistant bacterial and fungal pathogens of public health importance. *J Pharm Allied Sci* [Internet]. 8 de marzo de 2021 [citado 16 de abril de 2021];18(1):1-5. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/jophas/article/view/204514>
8. León A, Martínez L, Zepeda L, Arteaga R, Gutiérrez P, Montalvo E. Efecto antibacterial, antifúngico, antioxidante y tóxico de extractos fraccionados de pulpa de Guanábana. *Rev bio ciencias* [Internet]. 2019

- [citado 15 de abril de 2021];6(1):1-17. Disponible en:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/revbio/v6/2007-3380-revbio-6-e400.pdf>
9. Rustanti E, Fatmawati Z. Antimycoticactivity of chloroform fraction of ethanol extract soursop leaves(*Annona muricata*, L.). *Medisa* [Internet]. 2019 [citado 15 de abril de 2021];1(2):37-44. Disponible en:
<https://melysajournal.com/index.php/Melysa/article/view/24/15>
 10. Wahyuningsih R, Wiryoendjoyo K. Prueba de actividad antifúngica del extracto de infusión de hojas de sirsak contra *candida albicans*. . *J Med (Media Inf Kesehatan)* [Internet]. 30 de noviembre de 2019 [citado 15 de abril de 2021];6(2):167-76. Disponible en:
<https://jurnal.poltekkesbanten.ac.id/Medikes/article/view/181>
 11. Fisabilillah M. Efecto del extracto de hoja de Guanábana (*annona muricata*) contra la sepas de *candida albicans* [Internet]. [Indonesia]: Universidad de Yakarta; 2019 [citado 16 de abril de 2021]. Disponible en: <http://repository.umy.ac.id/handle/123456789/27956>
 12. Handayani P. Investigación de extracto de hojas de sirsak (*annona muricata* l.) sobre el crecimiento de hongos *candida albicans*. *J Ilm Mhs Vet* [Internet]. 26 de febrero de 2019 [citado 16 de abril de 2021];3(2):42-7. Disponible en: <http://jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/view/10770>
 13. Mithun BH, Rajesh G, Shenoy R, Rao A. Anti-microbial efficacy of Soursop leaf extract (*Annona muricata*) on oral pathogens: An in-vitro study. *J Clin Diagnostic Res* [Internet]. 1 de noviembre de 2019 [citado 15 de abril de 2021]; 10(11):1-4. Disponible en:
[/pmc/articles/PMC5198446/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3484446/)

14. Huamán E. Análisis de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *annona muricata* frente a microorganismos patógenos - Huancayo 2018. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Huancayo: Universidad Peruana de Los Andes; 2018. Disponible en: http://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/UPLA/731/TESIS_FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2019. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/127>.
16. Mamani G. Evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* (Guanábana) por el método de difusión en placa sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 [Tesis para optar el título de Cirujano Dentista]. Trujillo: Universidad Alas Peruanas; 2019. Disponible en: <http://civ.uap.edu.pe/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=50326>
17. Cannonl. R, Chaffin. W, Oral colonization by *Candida albicans*. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2014. 10 (3)-359-383. [Internet]. [Consultado 28 May2019].<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/10454411990100030701>
18. Gordon R, Vande K, Brian L. Wickes, José L. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18: 163-170

163. [Internet]. [Consultado 28 May 2019].
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC128731/>
19. Mesa L M , Arcaya N , Cañas O, Machado Y, Clavo B. . Evaluación de los caracteres fenotípicos para diferenciar *Candida albicans* de *Candida dubliniensis*. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 135-138 135. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3768677/>
20. Salvatori O, S. Puri S, S. Tati S, Edgerton. M. Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*-mediated Oral Diseases. Journal of Dental Research 2016, Vol. 95(4) 365–371. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].
21. Davis. D , Bryce W, Mitchell. A. RIM101-Dependent and -Independent Pathways Govern Ph Responses in *Candida albicans*. Molecular and cellular biology, Feb. 2000, p. 971–978. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26747422>
22. Bonilla R, Moreno M, Muñoz H, Palma C. Adherencia in vitro de *Candida albicans* en tres diferentes acondicionadores de tejidos usados en prostodoncia total. Revista Odontológica Mexicana Vol. 16, Núm. 1 Enero-Marzo 2012 pp 40-45. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-199X2012000100006
23. *Candida albicans*. Fichas de agentes biológicos. DB-H-C.a-12. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].
https://www.mscbs.gob.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/agentes_biologicos.pdf

24. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología médica. 25ª edición. España: Editorial Mc Graw Hill – LANGE; 2010. [Internet]. [Consultado 7 de Septiembre 2018].
http://www.helixbios.com/metagenomica?gclid=Cj0KCQjwpPHoBRC3ARIsALfx_IiScmr6h5j8MpFtpfLVJ4x1Ah6R6el8jRtEUTWyxOxSo6RkiPULhoaAn_xEALw_wB
25. Alonso, J., Tratado de fitofármacos y nutraceuticos., Rosario - Argentina., Corpus., 2004., Pp. 641- 646, 927-930,1037-1041.
26. Baraona, M., y otros., Guanábana Y Macadamia Fluricultura Especial., Fluricultura II., San José - Costa Rica., EUNED., 1992., Pp. 17-21.
27. Leon, J., Fundamentos Botánicos de Cultivos Tropicales., Lima – Perú ., Editorial IICA., 1968., Pp. 471-472
28. Efecto del ácido giberelico y agua a 4° c en la germinación de las semillas de guanaba (*Annona muricata* L.) [Internet]. 2012 [Consultado 22 May 2019]; 102(6).http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2168.pdf 2005-05-01
29. Gil, A., Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos., 2a ed., Tomo 2., Madrid- España., Editorial Médica Panamericana., 2010., Pp. 460-465; 483-490.
30. Hernández R. Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación científica. 6 ed. México. Mc Graw Hill. 2014.
31. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015.
32. Neviton R, Aparício D, Simone M, Vataru N, Prado B. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.) *Braz.arch.biol.technol.vol* 48 N°3 Curitiba May 2005.

33. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión / Elaboración: Rosa Sacsquispe Contreras y Jorge Velásquez Pomar. -- Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2012
34. Código de ética para la investigación. ULADECH. Versión 005 [Internet]. [citado 10 diciembre 2018]. Disponible en <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v005.pdf>

ANEXO 1

CARTA DE AUTORIZACIÓN



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO

CARRERA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

Trujillo, 05 de noviembre del 2019

DR: EDGAR DAVID ZAVALA VALVERDE

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
TRUJILLO

Presente:

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo muy cordialmente en mi condición de coordinador de carrera de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote Filial Trujillo. Siendo el motivo de la presente manifestarle que, en el marco de cumplimiento curricular de la carrera profesional de odontología, en el curso de Taller de Investigación III, nuestra alumna, BARRETO GAVELAN, Mary Lina; debe de llevar a cabo el desarrollo de su proyecto de investigación titulado " EFECTO ANTIFÚNGICO DE UN COLUTORIO MIXTO A BASE DE ACEITES ESENCIALES DE ANNONA MURICATA Y MENTHA SPICATA SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231.", así mismo para realizar el presente trabajo se solicita el permiso respectivo para que nuestra alumna pueda ejecutar con toda normalidad su proyecto de investigación en las instalaciones del local que dignamente usted dirige.

Es propicia la oportunidad, para reiterarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente

ANEXO 2

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

colutorios Concentración	Diámetro de los halos de inhibición según concentración de un colutorio mixto de guanábana y menta (mm)			C+ (mm) Nistatina 0,02%	C- (mm) Etanol 96°
	5%	10%	15%		
Repeticiones					
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					

FUENTE: Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005 [citado 16 de abril de 2021].

ANEXO 3

PRUEBA DE NORMALIDAD

El proceso de toma de decisiones para una prueba de hipótesis se basó en el valor de probabilidad (valor p) para la prueba específica.

Si el valor p es menor o igual a un nivel predeterminado de significancia (α), usted rechaza la hipótesis nula (H_0) y da crédito a la alternativa (H_1).

Si el valor p es mayor que el α , no se rechaza la hipótesis nula (H_0) y no se puede dar crédito a la hipótesis alterna (H_1).

Tabla 1: Distribución de los valores obtenidos de los halos de inhibición de crecimiento (mm).

Pruebas de normalidad

Concentraciones		Shapiro-wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.
Halos de inhibición	concentración al 5%	.	10	.
	concentración al 10%	,749	10	,053
	concentración al 15%	,861	10	,079
	control positivo	,900	10	,218
	control negativo	,640	10	,000

Los datos se encuentran distribuidos normalmente.

Tabla 2. Efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* al 5%, 10% y al 15% sobre *Candida albicans*.

Halos de inhibición						
Duncan						
concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
concentración al 5%	10	5,500				
control negativo	10		6,600			
concentración al 10%	10			12,000		
concentración al 15%	10				16,100	
control positivo	10					24,200
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se comparó el efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* a las concentraciones de 5%, 10%, 15% y también el C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó que la concentración al 5% y el C- tuvieron un efecto nulo, la concentración al 10% tuvo una sensibilidad limite, el 15% tuvo un efecto sensible y el C+ tuvo un efecto sumamente sensible.

ANEXO 4
CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Luego de realizar la Prueba de Normalidad y corroborar que los datos se distribuyen de manera normal o simétrica, se aplicó la prueba estadística Paramétrica ANOVA.

1.- Planteamiento de hipótesis:

- **H_i:** Existe efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.
- **H₀:** No existe efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.
- **H₁:** Si existe efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

2.- Nivel de confianza:

Nivel de confianza = **0.95 (95%)**

Nivel de significancia: **$p = 0,05$ (5%)**

La significancia es el valor estándar y en base a ello se determinó si se acepta o se rechaza la hipótesis de investigación.

3.- Establecimiento de criterios de decisión

La “prueba estadística se realiza en base a la hipótesis nula”.

- Si “el valor de significancia **$p > 0,05$** se acepta H₀; se rechaza H_i.”
- Si “el valor de significancia **$p < 0,05$** se rechaza H₀; se acepta H_i.”

4.- Cálculos:

El software SPSS, proyecta los siguientes datos:

Tabla 1: “ANOVA: Efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Concentración		95% del intervalo de confianza para la media			p*
n	N	Media	Límite inferior	Límite superior	
5%	10	5,500	5,0010	5,0010	
10%	10	12,000	9,8962	10,8638	
15%	10	16,100	14,9654	15,6546	0.000
C ⁺	10	24,2000	23,4407	24,9593	
C ⁻	10	6,6000	6,2306	6,9694	

p*: prueba ANOVA

Fuente: Datos proporcionados por el investigador

Se comparó el efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de las hojas de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231 a las concentraciones de 5%, 10%, 15%, C+, C-, frente a *Candida albicans*, se determinó una media de 5,5 mm para la concentración 5%, una media de 12 mm (actividad antifúngica bajo) a la concentración 10%, una media de 16,1mm (actividad antifúngica media), a la concentración 15%, así mismo una media de 24,20,mm (sumamente sensible) al C+, una media 6,60mm al C- , Se utilizó la prueba ANOVA y se obtuvo p=0.000, lo cual indica que si existe diferencia estadística significativa entre las tres concentraciones y los controles.

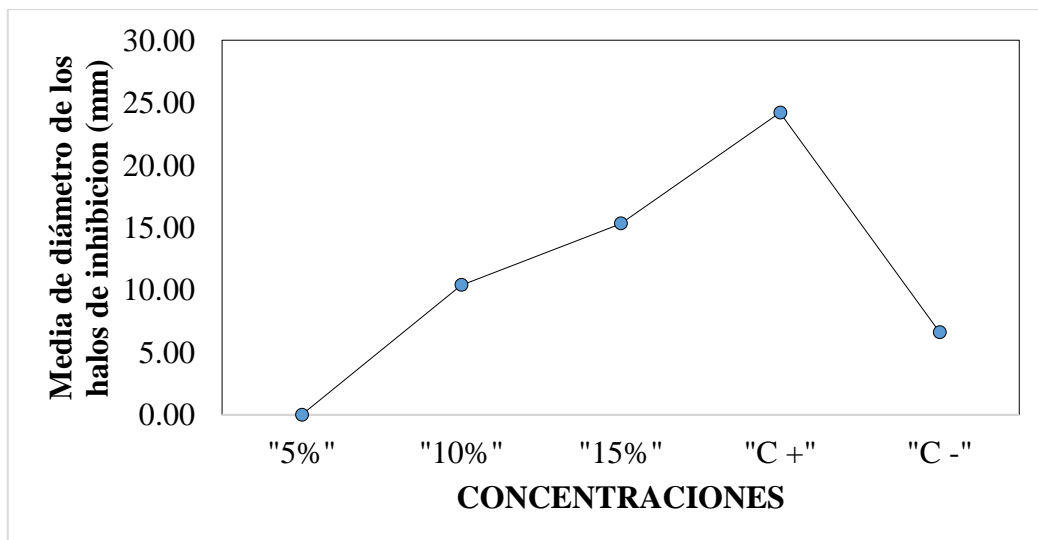
1. Decisión:

La prueba "ANOVA, arroja una significancia $p = 0,000 < 0,05$ ".

Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna".

- **H_A:** Si existe efecto antifúngico de un colutorio a base de aceites esenciales de *Annona muricata* y *Mentha spicata* sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Gráfico 1: Comparación de las medias de halo de inhibición del efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* sobre *Candida albicans*."



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 2

En el gráfico 1 observamos que hay diferencia entre las concentraciones donde a medida que aumenta la concentración, aumenta el diámetro de halo de inhibición.

ANEXO 5:
TAXONOMÍA DE HERBARIUM

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

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

- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Annonoideae
- Orden: Magnoliales
- Familia: Annonaceae
- Género: Annona
- Especie: A. muricata
- Nombre común: "guanábana"

Muestra alcanzada a este despacho por BARRETO GAVELAN MARY LINA, identificada con DNI: 73026796, con domicilio INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2 – Laredo – Trujillo. Estudiante de la Facultad de ciencias de la Salud, de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonomía servirá para la realización del taller de investigación. Efecto antifúngico de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de Annona muricata y Mentha Spicata sobre Candida albicans ATCC 10231, Trujillo- 2019.

Se expide la presente constancia a solicitud de la parte interesada por los fines que hubiera lugar.



Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

ANEXO 6:

Constancia de colaboración de **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ** Dra. En farmacia y bioquímica en la ejecución del proyecto de investigación

CONSTANCIA


Yo, **MARILÚ ROXANA SOTO VÁSQUEZ**, Docente de la Cátedra de Farmacognosia del Departamento Académico de ~~Farmacotécnica~~ de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, con número de colegiatura 06952.

Dejo constancia de haber colaborado en la preparación de la muestra vegetal y las concentraciones, de un colutorio mixto a base de aceites esenciales de ~~Annona muricata~~ y ~~Mentha spicata~~, en el laboratorio de farmacognosia de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo de la alumna **BARRETO GAVELAN MARY LINA**, identificado con DNI 73026796, con domicilio legal en la INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2, Laredo – Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada: EFECTO ANTIFÚNGICO DE UN COLUTORIO MIXTO A BASE DE ACEITES ESENCIALES DE ANNONA MURICATA Y MENTHA SPICATA SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231, TRUJILLO- 2019.

Se expide esta constancia, a solicitud de la interesada, para los fines que estime pertinentes.

04 de ~~Noviembre~~ 2019




Dra. **Marilú Roxana Soto Vásquez**
Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica
Cátedra de Farmacognosia
Universidad Nacional de Trujillo

ANEXO 7:

Constancia de colaboración de **MANUELA NATIVIDAD LUJÁN VELÁSQUEZ,**

Biólogo – Microbióloga en la ejecución del proyecto de investigació

CONSTANCIA

Yo, MANUELA NATIVIDAD LUJAN VELASQUEZ, Bióloga-Microbióloga Docente de la Escuela de Microbiología y Parasitología, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo, con registro de CBP N-° 2132.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado con la alumna BARRETO GAVELAN MARY LINA, identificado con DNI 73026796, con domicilio legal en la INT. A ASENT. H. CORAZON DE JESUS MZ 2 LT 2, Laredo – Trujillo, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en la ejecución de la tesis titulada EFECTO ANTIFÚNGICO DE UN COLUTORIO MIXTO A BASE DE ACEITES ESENCIALES DE ANNONA MURICATA Y MENTHA SPICATA SOBRE CANDIDA ALBICANS ATCC 10231, TRUJILLO- 2019.

30 de ~~Octubre~~ de 2019

Trujillo, 30 de ~~Octubre~~ del 2019

Manuela Natividad Lujan Velásquez

Docente De La Escuela De Microbiología y Parasitología

Universidad Nacional De Trujillo

Dr. Manuela Natividad Lujan Velásquez
CATEDRA DE MICROBIOLOGÍA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

ANEXO 8:

Resultados

Efecto antifúngico del colutorio mixto a base de aceites esenciales de *Anona muricata* y *Mentha spicata* frente a *Candida albicans* ATCC 10231”, diámetro de los halos de inhibición del crecimiento (mm), método de Kirby Buer.

COLUTORIO MIXTO “guanábana y menta”			Control +	Control -
5%	10%	15%		
5	12.1	16.1	22.0	7
5.5	11.1	15.3	23.9	7
5	10.0	15.2	24.5	7
5	10.5	16.1	25.0	6
5	09.8	15.8	24.5	6
5	10.0	15.0	25.1	6
5.1	10.0	14.9	24.8	7
5	12.0	14.8	25.4	7
5.2	10.1	14.9	23.9	7
5	10.2	16.0	22.9	6

Control + = Nistatina 0.02%

Control - = Etanol 96°

ANEXO 9:

VERNIER DIGITAL marca MITUTOYO, Modelo 500-196-20 ABSOLUTE Digimatic Caliper 0-150mm / 0-6", por estar calibrado y validado con ISO de calidad 17025



ANEXO 10:

Boletas de compra de la cepa *Candida albicans*.

GenLab
del Perú S.A.C

Gen Lab del Perú S.A.C
Jr. Capac Yupanqui N° 3434
Lima - Lima - Perú
Central Telefónica
(51-1) 203-7500, (51-1) 203-7501
Email: ventas@genlabperu.com
Web Site: www.genlabperu.com

RUC N°: 20501262260
**FACTURA
ELECTRONICA
F002-000438**

Page 1 of 1

Fecha emisión : 15/08/2019
Fecha Vcto : 15/08/2019
Orden Compra : COTIZ 16103749
Guía de Remisión :
N° Pedido : 023118

Cliente: UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE
RUC : 20118898043

Dirección: JR TUMBES NRO 247 CENTRO COMERCIAL Y FINANCIERO
CHIMBOTE - SANTA - ANCASH - Peru

Tipo Movimiento : ANTIPOSO

Lugar de destino :

Código	Descripción	Cant	UM	Precio Unit	Decto	Sub-Total
HC318A	KANK-GTM, Candida albicans ATCC# 9001	1	LNO	349.98	0.00	349.98

CUATROCIENTOS DOCE CON 99188 SOLES

Anticipo		0.00
Op. Gravada SI		349.98
XIV 18%		62.92
Importe Total SI		412.90



Representación impresa de la Factura Electrónica
Consulte : <http://rpta.genlabperu.com>

ANEXO 11;;
PROCESAMIENTO DEL COLUTORIO MIXTO DE ANNONA MURICATA
Y MENTHA SPICATA REALIZADO EN LA FACULTAD DE FARMACIA
DE LA UNT

SELECCIÓN, LAVADO Y DESINFECCIÓN



Se lavaron las hojas de la Planta *Annona muricata* (GUANABANA) y se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0,5%

SECADO



Secado a Temperatura Ambiente por 24 horas y en estufa a 40°C de Hojas de la Planta *Annona muricata* y *Mentha spicata* (Guanábana). Pulverización, Tamizaje y se pesó 300 gr. de *Annona muricata* (Guanábana).

PREPARACIÓN DEL COLUTORIO DE *Annona muricata* y *Mentha spicata*



Mezcla de Alcohol 96° con Agua Destilada (etanol al 96°) para *Annona muricata*
Tiempo de maceración por 7 días y se agitará dos veces al día el frasco.



Se filtrarán los macerados usando una bomba de vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Cada extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta obtener una masa siruposa. Esta se llevó a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. De estos, se prepararon las concentraciones de 5%(50mg/mL), 10%(100mg/mL) y 15%(150mg/mL)

INOCULACIÓN DE LAS PLACAS



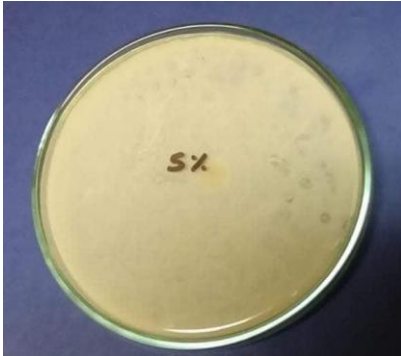
Hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo de la placa.

Preparación de los discos de papel filtro whatman número 3 estériles, embebidos con 50 ul de cada una de las concentraciones de 5% ,10% y 15% del Extracto etanólico de *Annona muricata*

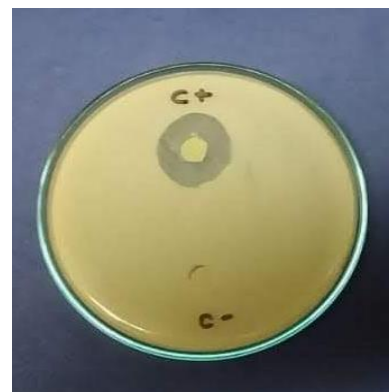
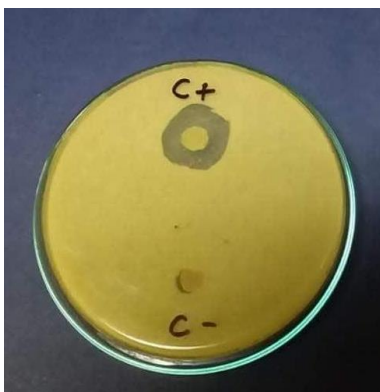
LECTURA DE RESULTADOS

Se midieron los diámetros de los halos de Inhibición de *Annona muricata* y *Mentha spicata*.

Placas Petri con halos de inhibición al 5, 10 y 15%



Placas Petri del control positivo Nistatina 0.02% y control negativo Etanol 96°



TURNITIN

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uladech.edu.pe

Fuente de Internet

8%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo