



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD
ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO DE *Stevia rebaudiana*
EN COMPARACIÓN CON NISTATINA FRENTE A
Candida albicans, CHIMBOTE, 2019**

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

AUTORA

CUNZA LAURENTE, KETTY YESENIA

ORCID ID: 0000-0002-5731-775X

ASESOR

REYES VARGAS, AUGUSTO ENRIQUE

ORCID: 0000-0001-5360-4981

CHIMBOTE-PERÚ

2022

1. Título de la tesis

**VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA
DEL EXTRACTO DE *Stevia rebaudiana* EN COMPARACIÓN
CON NISTATINA FRENTE A *Candida albicans*, CHIMBOTE,
2019**

2. Equipo de trabajo

AUTORA

CUNZA LAURENTE, Ketty Yesenia

ORCID ID: 0000-0002-5731-775x

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

DOCENTE TUTOR INVESTIGADOR

REYES VARGAS, Augusto Enrique

ORCID: 0000-0001-5360-4981

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la Salud,
Escuela Profesional de Odontología, Chimbote, Perú

JURADOS

SAN MIGUEL ARCE, Adolfo Rafael

ORCID: 0000-0002-3451-4195

CANCHIS MANRIQUE, Walter Enrique

ORCID: 0000-0002-0140-8548

ZELADA SILVA, Wilson Nicolás

ORCID: 0000-0002-6002-7796

3. Hoja de firma del jurado y asesor

Mgr. San Miguel Arce, Adolfo Rafael

PRESIDENTE

Mgr. Canchis Manrique, Walter Enrique

MIEMBRO

Mgr. Zelada Silva, Wilson Nicolás

MIEMBRO

Mgr. Reyes Vargas, Augusto Enrique

ASESOR

4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria

Agradecimiento

A Dios, por ser el creador del universo, a mis familiares y amigos por siempre alentarme y confiar en mí.

Al biólogo José Manuel Villanueva Carlos. Quien, con sus vastos conocimientos, me oriento sobre mi estudio; agradecerle su tiempo y disponibilidad para lograr ejecutar de la mejor manera el presente estudio.

Dedicatoria

A Dios padre, por nunca dejarme sola y ser mi compañía en esta maravillosa época universitaria, por sentir su presencia para no decaer y saber que con su inmensa misericordia estaré más que bendecida.

Mi tesis, va dedicado principalmente a mis adorados padres: Marcos y Mavila, que a pesar de las adversidades y la distancia me han permitido volar e ir tras mis metas, su apoyo incondicional es para mí la motivación para seguir luchando.

5. Resumen

El presente estudio tuvo como **Objetivo:** Determinar la actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*. **Metodología:** El estudio fue de tipo cuantitativo, experimental, prospectivo, longitudinal y analítico, presenta un nivel explicativo y el diseño es experimental puro. La muestra estuvo constituida por 10 placas petri con cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Para la recolección de datos se utilizó el método kirby-Bauer. El efecto antimicrobiano se determinó gracias a la escala de Duraffourd mediante los halos de inhibición formados por la concentración al 30% del extracto de *Stevia rebaudiana* y Nistatina 100.000 UI/ml para luego ser medidos con una regla milimetrada. La diferencia significativa se determinó gracias a la prueba de Kruskal-Wallis. **Resultados:** El extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, presentó un halo de inhibición máxima de 11 mm en la muestra 1, 6, 8 (sensible +) y un halo de inhibición mínima de 8 mm en la muestra 3, 10 (sensible +). La Nistatina presentó un diámetro máximo de inhibición de 22 mm (sumamente sensible +++); en la muestra 7, mientras que el de menor diámetro fue la muestra 6 con 18 mm (muy sensible ++). **Conclusión:** El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*. Aplicando la prueba no paramétrica de diferencia de medias KRUSKALL WALLIS, se obtuvo ($p = 0.437 > 0.05$), la cual indica que no existe variación de medias entre los grupos analizados.

Palabras clave: Extracto, Nistatina, *Stevia rebaudiana*.

Abstract

The present study had as **objective:** To determine the antifungal activity, in vitro, of the *Stevia rebaudiana* extract, at 30%, in comparison with Nystatin against *Candida albicans*. **Methodology:** The study is of type, quantitative, experimental, prospective, longitudinal and analytical, it presents an explanatory level and the design is experimental. The sample consisted of 10 Petri dishes with strains of *Candida albicans* ATCC 10231. For data collection, The Kirby Bauer method was used. The antimicrobial effect was determined thanks to the Duraffourd scale by means of the inhibition halos formed by the 30% concentration of the *Stevia rebaudiana* extract and Nystatin 100.000 IU/ml and then measured with a millimeter ruler. The significant difference was determined thanks to the Kruskal-Wallis test. **Results:** *Stevia rebaudiana* extract, at 30%, presented a maximum inhibition halo of 11mm in sample 1, 6, 8 (sensitive +) and a minimum inhibition halo of 8 mm in sample 3, 10 (sensitive +). Nystatin presented an inhibition diameter 22 mm (highly sensitive +++); in sample 7, while the one with the smallest diameter was sample 6 with 18 mm (very sensitive ++). **Conclusion:** The ethanolic extract of *Stevia Rebaudiana* at 30% does not present a greater antifungal effect than Nystatin against *Candida albicans*. Applying the KRUSKALL WALLIS non-parametric mean difference test, ($p=0.000>0.05$) was obtained, which indicates that there is no variation in means between the groups analyzed.

Keywords: Extract, Nystatin, *Stevia rebaudiana*.

6. Contenido

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor	iv
4. Hoja de agradecimiento y dedicatoria	v
5. Resumen.....	vii
6. Contenido.....	ix
7. Índice de tablas y gráficos	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LA LITERATURA	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Bases teóricas	14
2.2.1. Candida	14
2.2.1.1. GENERO: <i>Candida</i>	14
2.2.1.2. ESPECIE: <i>Candida albicans</i>	14
2.2.1.3. Características de <i>Candida albicans</i>	15
2.2.2. Candidiasis	16
2.2.2.1. Tipos más frecuentes de candidiasis	16
2.2.2.2. Síntomas de Candidiasis	16
2.2.2.3. Etiología de candidiasis	16
2.2.2.4. Epidemiología de candidiasis	17
2.2.2.5. Patogenia de candidiasis	17
2.2.2.6. Tratamiento de candidiasis	19
2.2.2.7. Antimicóticos: Derivados poliénicos	20
2.2.2.8. Nistatina	20
2.2.2.9. Mecanismo de acción de Nistatina	20
2.2.2.10. Anfotericina B	21
2.2.2.11. Antimicóticos: Derivados triazólicos	21

2.2.3. Stevia	21
2.2.3.1. <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	21
2.2.3.2. Composición de <i>Stevia rebaudiana</i>	22
2.2.3.3. Efecto Antibacteriano de <i>Stevia rebaudiana</i>	24
2.2.3.4. Propiedad inmunomodulador de la <i>Stevia rebaudiana</i>	24
2.2.3.5. Descripción botánica de <i>Stevia rebaudiana</i>	24
2.2.3.6. Origen y distribución de <i>Stevia rebaudiana</i>	25
2.2.3.7. Siembra de <i>Stevia rebaudiana</i>	25
2.2.3.8. Cosecha de <i>Stevia rebaudiana</i>	26
2.2.3.9. Proceso de secado de <i>Stevia rebaudiana</i>	26
2.2.4. Método de kirby Bauer	27
2.2.4.1. Procedimiento básico de kirby Bauer	28
III. HIPÓTESIS	29
IV. METODOLOGÍA	30
4.1. Diseño de la investigación	30
4.2. Población y muestra	31
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	33
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	34
4.5. Plan de análisis.....	37
4.6. Matriz de consistencia.....	38
4.7. Principios éticos y legales	39
V. RESULTADOS	40
5.1. Resultados	40
5.2. Análisis de los resultados	48
VI. CONCLUSIONES	51
Aspectos complementarios	52
Referencias bibliográficas	53
ANEXOS	60

7. Índice de tablas y gráficos

Índice de tablas

Tabla 1.- Actividad antimicótica, in vitro, del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%, en comparación con Nistatina frente a <i>Candida albicans</i> , Chimbote, 2019.....	40
Tabla 2.- Halo de inhibición del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> , al 30%, frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	42
Tabla 3.- Halo de inhibición de la Nistatina sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 Utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	44
Tabla 4.- Efecto antimicótico producidos por el extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30% frente a la Nistatina, de acuerdo a los halos de inhibición sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	46

Índice de gráficos

Gráfico 1.- Actividad antimicótica, in vitro, del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%, en comparación con Nistatina frente a <i>Candida albicans</i> , Chimbote, 2019.....	40
Gráfico 2.- Halo de inhibición del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> , al 30%, frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	42
Gráfico 3.- Halo de inhibición de la Nistatina sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 Utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	44
Gráfico 4.- Efecto antimicótico producidos por el extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30% frente a la Nistatina, de acuerdo a los halos de inhibición sobre <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.....	46

I. INTRODUCCIÓN

La Candidiasis es una infección micótica oportunista que afecta en mayor medida a pacientes inmunocomprometidos, llegando a tener una incidencia del 65% en pacientes con VIH y hasta casi 100% en pacientes con la etapa avanzada de la enfermedad (1). Así mismo, se han registrado incrementos en las tasas de aparición de pacientes susceptibles a infecciones micóticas, como: Oncológicos, trasplantados y con males autoinmunes. Los síntomas de la candidiasis pueden llegar a ser realmente molestos, dificultando las actividades cotidianas de una persona, produciendo, por ejemplo, dolor, escozor, malestares, etc. Disminuyendo la calidad de vida de aquellos que lo aquejan (2). La candidiasis es causada por el hongo denominado *Candida albicans*. Se han evidenciado más de 200 especies del genero *Candida*, dentro de las cuales la *Candida albicans* es uno de los más recurrentes oportunistas en la especie humana, gracias a esta capacidad oportunista puede ser la causante de infecciones sistémicas que podrían llegar a ser letales si ingresan al torrente sanguíneo y se diseminan a diferentes órganos (1). La candidiasis tiene como tratamiento de elección a los antimicóticos como la Nistatina, Anfotericina B, Fluconazol, entre otros; sin embargo, pese a su efectividad estos fármacos han demostrado tener efectos adversos, tales como: Cefaleas, cansancio extremo, mareos, Etc. También la aparición de resistencia de los microorganismos a algunos antibióticos sintéticos, junto con la toxicidad de estos durante el tratamiento prolongado, por ello se hace necesario continuar con la búsqueda de nuevas sustancias, antimicrobianas, antifúngicas y en particular de *Candida albicans* (3).

Las plantas medicinales podrían ser una fuente de agentes alternativos para prevenir enfermedades como la Candidiasis, como por ejemplo la Stevia que ha demostrado en

diversos estudios tener propiedades antiácidas, antibacteriana, antidiabética, cardiotónica, digestiva, diurética, hipoglucemiante, hipotensora, mejoradora del metabolismo y además vasodilatadora (4,5).

A nivel latinoamericano países como México y Ecuador, han registrado estudios que demuestran las propiedades antimicóticas y antibacterianas de *Stevia rebaudiana* con crecimientos de halo inhibitorio de 10.33 mm en un rango sensible (4,6).

A nivel nacional como en Trujillo (Avila A, Julca A. 2015) reportan propiedades antifúngicas del extracto fluido de *Stevia rebaudiana* frente a *Candida albicans* presentando halos de crecimiento de 16 mm, este estudio reporta que, a mayor concentración del extracto, mayor será su efecto antifúngico (7). En tal sentido se sugirió el planteamiento del problema de saber ¿Cuál es la actividad antimicótica in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans* Chimbote 2019? ya que las afecciones infecciosas representan un inconveniente decisivo para la salud y son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el planeta. El presente estudio, tuvo como objetivo general, determinar la actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*. Así mismo tuvo como objetivos específicos, determinar el halo de inhibición del extracto de *Stevia rebaudiana* al 30%, también de Nistatina y la comparación de ambos.

La justificación del presente estudio es la búsqueda de un tratamiento natural para aminorar los efectos adversos de los medicamentos y mejorar la calidad de vida de quienes aquejan infecciones oportunistas, como lo es la Candidiasis. La naturaleza nos aporta gran cantidad de productos, que nos ayudan a combatir el problema sin

perjudicar a nuestro organismo. Lo único que se le podría considerar en contra, es la lentitud de su efecto en el habitante; quizás no sea tan rápida y eficaz al instante, pero es más saludable que la medicina química.

La metodología del presente estudio fue de Tipo: Cuantitativo, experimental, prospectivo, longitudinal y analítico. El nivel de la investigación fue explicativo y presenta un diseño experimental puro, en donde se elaboró el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30% sobre cepas de *Candida albicans* mas el control positivo que fue el antimicótico Nistatina en suspensión 100.000 UI/mL. La muestra estuvo constituida por 10 placas Petri con cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Para la recolección de datos se utilizó el método kirby-Bauer. El efecto antimicrobiano se determinó gracias a la escala de Duraffourd mediante los halos de inhibición para luego ser medidos con una regla milimetrada. La diferencia significativa se determinó gracias a la prueba de Kruskal-Wallis. Se obtuvo como resultados, que la *Stevia rebaudiana* presentó efectos antimicóticos, con halos de inhibición máxima de 11 mm (sensible +) sobre las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, Mientras que el antimicótico Nistatina presentó halos de inhibición de 22 mm (sumamente sensible +++) sobre las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Se concluye que, la *Stevia rebaudiana* si presenta efectos antimicóticos, puesto que en la escala de Duraffort se encuentra en un rango sensible, mientras que la Nistatina se presentó en un rango sumamente sensible. Aplicando la prueba no paramétrica de diferencia de medias KRUSKALL WALLIS, se obtuvo ($p = 0.437 > 0.05$), de lo cual podemos indicar que no existe variación de medias entre los grupos analizados.

El trabajo de investigación presento distintas partes como: La introducción, el planteamiento del problemas, los objetivos, la justificación, la revisión de la literatura,

la formulación de la hipótesis, continuando con la parte metodológica en donde se establece el tipo, nivel, diseño, la población y muestra, la operacionalización de las variables, seguido de la técnica e instrumento de recolección de datos, el plan de análisis, la matriz de consistencia, así como los principios éticos; presenta también los resultados con sus respectivas tablas, gráficos y la interpretación de ellos. Finalmente se obtiene el análisis de resultados, las conclusiones y recomendaciones.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Internacionales:

Sotero N y col. (México, 2017). En su proyecto titulado “Evaluación de extractos de *Stevia rebaudiana Bertoni* sobre enterobacterias resistente a antibióticos”.

Objetivo: Evaluar in vitro la actividad antimicrobiana de un extracto acuoso y de un extracto metanólico contra tres diferentes tipos de enterobacterias resistentes a antibióticos. **Metodología:** Estudio de tipo cuantitativo, de nivel explicativo y diseño experimental. Se utilizaron como muestra 150 g de hojas de *Stevia* que fueron pulverizadas, se obtuvo el extracto acuoso y el metanólico. Se utilizó la metodología de medio de cultivo envenenado utilizando las siguientes concentraciones (0.25 mg/mL, 0.5 mg/mL y 1 mg/mL). Para la obtención de las concentraciones se tomó el extracto a una concentración del 100 % la actividad antimicrobiana se determinó calculando la reducción en la formación de unidades formadoras de colonias en cada una de las placas. **Resultados:** Determinaron que los extractos de *Stevia rebaudiana* a tres diferentes concentraciones presentaron actividad antimicrobiana frente a cepas de *E. Coli* y *K. pneumoniae* para ambas soluciones acuosa y metanólica, sin embargo, los extractos no presentaron actividad antimicrobiana contra *S. typhi*. **Conclusión:** Los extractos acuosos y metanólicos presentaron efecto bacteriostático y bactericida contra cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* resistentes a antibióticos, sin embargo, el extracto acuoso no mostró actividad contra *S. typhi*, por otra parte, el extracto metanólico mostró actividad

antimicrobiana cuando se aumentó la concentración del extracto en el ensayo evaluado (6).

Estacio k. (Ecuador, 2016). En su estudio que lleva por título: “Efecto antimicótico de la *Stevia comercial* y el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30% sobre cepas de *Candida albicans*, estudio in vitro Quito - Ecuador”. **Objetivo:**

Determinar el efecto de inhibición de crecimiento que posee la *Stevia comercial* y el extracto etanólico de *Stevia Rebaudiana* al 30% sobre cepas de *Candida albicans*.

Metodología: Estudio experimental de tipo cuantitativo, en donde Se utilizó muestras de 30 cultivos los cuales fueron incubados por 48 horas a 37°C. Se elaboró un extracto etanólico y otro comercial en presentación líquida de *Stevia rebaudiana*, estos fueron utilizados sobre cultivos de agar Sabouraud con cepas de *Candida albicans*, para el control negativo, se utilizó suero fisiológico y para el control positivo, se utilizó clorhexidina al 0,12 %. Se utilizó el método de Kirby Bauer.

Resultados: Se obtuvieron halos de inhibición con una media de 10,33mm de diámetro para la *Stevia comercial*, 9,27mm de diámetro para el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, lo que indicó que la *Candida albicans* es sensible a las mencionadas presentaciones de *Stevia*. **Conclusión:** La *Stevia comercial* como el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30% genera inhibición de crecimiento sobre la cepa de *Candida albicans* (4).

Tovar G. (Ecuador, 2016). En su estudio que lleva por título “Actividad antimicrobiana de la *Stevia* en comparación con Xilitol, frente a *Streptococcus mutans*, estudio in vitro”. Cuyo **Objetivo** fue: Demostrar la actividad antimicrobiana de la *Stevia* en comparación con Xilitol frente a *Streptococcus*

mutans. **Metodología:** Estudio experimental, prospectivo, longitudinal y analítico. Se llevó al laboratorio microbiológico cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y se hizo el cultivo sobre Agar Mueller Hinton con sangre de cordero desfibrinada y se comparó el efecto antimicrobiano de la Stevia y el Xilitol utilizando la técnica de Agar difusión con bacterias y perforación en placa, como control positivo se utilizó clorhexidina al 2% y el control negativo el agua; se colocaron en campanas de incubación a 37°C y se evaluaron dentro de 24 y 48 horas después para determinar el efecto de estos extractos sobre el crecimiento de las bacterias. **Resultados:** Después de 48 horas el halo de inhibición formado gracias a la Stevia fue de 14.61 mm, mientras que el Xilitol tuvo un halo de 9.51 mm. **Conclusión:** Se determinó que la actividad antimicrobiana de la Stevia fue mayor en comparación al xilitol demostrándose su alto potencial anticariogénico de la Stevia (8).

Juca A. (Ecuador, 2016). En su estudio: Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto de *Stevia Rebaudiana*. **Objetivo:** Elaborar el extracto de las hojas de *Stevia Rebaudiana* utilizando etanol al 75% mediante una técnica casera y comprobar su efectividad en 24 horas frente a las bacterias que se cultivaron de la placa bacteriana. **Metodología:** Tipo de estudio experimental in vitro, se utilizó la metodología de extracción de las infusiones y del jarabe a base de *Stevia rebaudiana* que inicia desde la preparación de la materia prima, corte, secado, molida y tamizado de las hojas de *Stevia rebaudiana*. **Resultados:** Después de 24 horas de aplicación de 1mg/ml del extracto de *Stevia Rebaudiana* en los cultivos de cada muestra de placa

bacteriana se obtuvo que el extracto detiene el crecimiento de todas las colonias de *Streptococcus mutans* que estuvieron presentes en todas las muestras recogidas.

Conclusión: La elaboración del extracto de la *Stevia rebaudiana* fue realizada de manera sencilla y efectiva, en 24 horas tuvo acción bacteriostática en las especies de las muestras de placa dental (9).

Chilaca G, Cava C. (Bolivia, 2012). En su proyecto titulado: “Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de *Stevia Rebaudiana* contra la *Candida albicans*”. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia Rebaudiana* contra *Candida albicans*. **Metodología:** Estudio experimental quien tuvo como muestra las cepas de hongos del genero *Candida albicans*. La recolección de las muestras se realizó en el Hospital Gineco obstétrico en pacientes que acudieron a consulta externa de ginecología. La materia prima se obtuvo de un cultivo realizado en la ciudad de Santa Cruz, cosechado a fines de diciembre, secado durante el mes de enero y enviada para la investigación. Mantenido en lugar fresco y seco. Procedimiento: trituración, extracción, filtración, clarificación, filtración, centrifugación y concentración. **Resultados:** La *Candida albicans* es sensible al extracto de *Stevia rebaudiana* al 30%. Se formó un halo de inhibición de 20 mm en comparación con Ketoconazol, donde tuvo 26 mm de diámetro promedio. **Conclusión:** El extracto de *Stevia rebaudiana* si tiene actividad antimicótica frente a la *Candida albicans*, durante la siembra de *Candida albicans*. Se evidencio que, a mayor concentración del extracto de *Stevia rebaudiana* mayor es el diámetro del halo de inhibición formado (10).

Nacionales

García L. (Cajamarca, 2018). En su estudio titulado "Extractos secos y acuosos de tres variedades de *Stevia Rebaudiana Bertoni* adaptadas agronómicamente en la provincia de San Ignacio, departamento de Cajamarca" **Objetivo:** Determinar in vitro el grado de inhibición del crecimiento de *Candida albicans* por parte de tres extractos: Acuoso frío, acuoso caliente y extracto seco obtenidos a partir de tres variedades criolla paraguaya, criolla de San Ignacio y mejorada EIRETE de *Stevia rebaudiana Bertoni* (Stevia) **Metodología:** Investigación aplicada de diseño experimental, de nivel analítico explicativo. Se utilizaron 30 cepas de *Candida albicans* obtenidas a partir de pacientes mujeres con candidiasis vaginal que acudieron al servicio del laboratorio del Hospital Regional de Cajamarca que fueron sometidas al efecto de los extractos, la obtención de las muestras vegetales se realizó a partir del stock de plantas que fueron cosechadas en la zona de cultivo de la comunidad de Dos de Mayo de la provincia de San Ignacio, Departamento de Cajamarca. se adaptaron agronómicamente, para la realización de extractos secos y acuosos a partir de este. Los extractos secos no fueron sometidos a ningún tratamiento adicional, más que el triturado o machacado de las hojas. **Resultados:** Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0.01$), en los efectos de los extractos probados, encontrándose que los extractos acuosos fríos (extractos crudos), de las tres variedades evaluadas, mostraron el mayor efecto inhibitorio y los extractos secos produjeron el menor efecto, los extractos acuosos calientes mostraron efectos intermedios. **Conclusión:** Se concluye que el extracto acuoso frío de la variedad EIRETE de *Stevia rebaudiana Bertoni* posee el mejor efecto inhibitorio del crecimiento de *Candida albicans* causante de la candidiasis vaginal

de las pacientes que acudieron al servicio del laboratorio del Hospital Regional de Cajamarca (11).

Brañez K. (Lima, 2017). En su trabajo de investigación titulado “Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*, bacterias iniciadoras en la formación de biofilm dental”. Cuyo **objetivo** fue: Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto de *Stevia rebaudiana* frente a *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*.

Metodología: Investigación de tipo experimental, longitudinal, quien tuvo como muestra especies que colonizan las mucosas y dientes en especial las iniciadoras de biofilm como *Streptococcus sanguinis* y *Actinomyces viscosus*. El procedimiento se realizó en 10 placas con Agar Tripcasa y agar sangre como medios y para la incubación de las bacterias a 37°C por 48 horas. Posteriormente se cargan las placas con 10 µL de diferentes concentraciones de extracto. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS Versión 19. La prueba de Kruskal Wallis determinó que existe diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,05$ de los promedios entre las concentraciones. Obtuvo como **resultados** que: Las concentraciones de 15, 30, 50, 60 y 120 mg/ml presentaron un halo de inhibición promedio de 6,8; 8,2; 8,2; 8,3; 8,1mm respectivamente, para el caso de *Streptococcus sanguinis*. Las concentraciones de 15, 30, 50,60 y 120 mg/ml presentaron un halo de inhibición promedio 7,2; 9,65; 9,20; 8,05; 7,95 respectivamente para el caso de *A. Actinomyces viscosus*. **Conclusiones:** Se determinó que el extracto de *Stevia rebaudiana* no presenta actividad antibacteriana para las cepas de *Streptococcus*

sanguinis, pero si presenta poca actividad antibacteriana sobre cepas de *Actinomyces viscosus* para las concentraciones de 30 y 50 mg/ml (12).

Avila A, Julca A. (Trujillo, 2015). En el estudio titulado. “Parámetros de calidad del extracto de fluido de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* y efecto antifúngico in vitro frente a *Candida albicans*”. Tuvo como **objetivos:** La determinación de parámetros de calidad y efecto antifúngico in vitro del extracto fluido de *Stevia rebaudiana Bertoni* frente a *Candida albicans*. **Metodología:** Estudio experimental in vitro. Se utilizaron 1kg de hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni*, y cepas de *Candida albicans* que fueron proporcionadas por el departamento de microbiología de la UNT, recolectaron la muestra de *Stevia rebaudiana* del campamento de San José, su recolección se realizó por el método de herborización, verificando que este en buenas condiciones. **Resultados:** En el ensayo microbiológico gracias al método kirby-Bauer se obtuvo: Para el control negativo (alcohol etílico 70°) una medida de 0mm, control positivo (fluconazol 25 µg) una media de 20.7 mm, en el extracto fluido de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* de 10 mg/ml (1%) y 1000 mg/ml (100%). Se obtuvo una media de 10.3 mm, 16.1mm y 17.9 mm. **Conclusiones:** El extracto fluido de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* tiene efecto fungicida in vitro frente a *Candida albicans* (7).

Perez S. (Trujillo, 2013). Realizó un estudio que llevo por título: Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivos:** Determinar la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de hojas de *Stevia rebaudiana* sobre

Streptococcus mutans ATCC 25175. **Metodología:** Estudio de tipo experimental in vitro. Conformada por el conjunto de placas petri que contenían cada una de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* con siembra adecuada de *Streptococcus mutans* en el laboratorio de microbiología de la facultad de medicina de la UNT, los extractos se obtuvieron a partir de hojas frescas de *Stevia rebaudiana*, seis concentraciones en etanol de 70° y seis concentraciones en etanol de 30°. La concentración inhibitoria mínima se obtuvo por el método de dilución en caldo y agar y para el efecto bactericida se empleó la técnica de difusión de discos de Kirby-Bauer. **Resultados:** En los 3 ensayos realizados en los cuales se trabajó con las 12 concentraciones del extracto para determinar la CMI y 12 concentraciones para determinar la CMB, permitieron seleccionar a la CMI en 1,07mg/mL en el extracto en etanol de 70° y la concentración de 4,28mg/ml, en el extracto en etanol de 30° y a la CMB en 10mg/mL en el extracto en etanol de 70° y la concentración de 42,8mg/mL en el extracto en etanol de 30° ($p < 0.01$). **Conclusión:** El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* posee efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (13).

Local

Huerta J. (Chimbote, 2019). En su tesis que lleva por título “Efectividad antimicrobiana del aloe vera burm. sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida albicans* ATCC 24433 y *Streptococcus mutans* ATCC 25175. **Objetivo:** Determinar la efectividad antimicrobiana del Aloe vera sobre *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Candida albicans* (ATCC 24433) y *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), La Libertad, Trujillo, 2017. **Metodología:** La investigación fue de tipo

cuantitativo, nivel experimental, diseño transversal y analítico; se trabajó con un muestreo probabilístico aleatorio simple. Se realizó 11 repeticiones de pozos para cada una de las bacterias a trabajar; y 3 repeticiones para cada uno de los controles negativo y positivo dando un total de 60 pozos. Para el control (+) utilizaron Clorhexidina al 0,12% y para el (-) alcohol al 70%. Los **resultados** fueron: *C. albicans*: Extracto de Aloe vera al 50% de concentración, es decir, no se formó ningún halo de inhibición, Clorhexidina al 0,12% formándose el halo mayor de inhibición de un diámetro de 22mm, alcohol al 70%. *E. faecalis*: Extracto de Aloe vera al 50% de concentración, Clorhexidina al 0,12% formándose el halo mayor de inhibición de un diámetro de 26mm, alcohol al 70%. *S. mutans*: Extracto de Aloe vera al 50% de concentración. **Conclusión:** El Aloe vera en extracto etanólico al 50% de concentración presenta un efecto antimicrobiano mínimo sobre las cepas *S. mutans*, pero ningún efecto antimicrobiano en *C. albicans* y *E. faecalis* (14).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Candida

2.2.1.1. GENERO: *Candida*

La clasificación taxonómica de *Candida* se muestra de la siguiente manera:

- Reino: *Fungi*
- Filo: *Ascomycota*
- Subfilo: *Saccharomycotina*
- Clase: *Saccharomycetes*
- Orden: *Saccharomycetales*
- Familia: *Saccharomycetaceae*
- Género: *Candida* (15)

El género *Candida* comprende un grupo de levaduras que se pueden encontrar en ambientes acuáticos y terrestres. Abarcando más de 160 géneros, de las cuales se considera que únicamente 18 son patógenas, el potencial patógeno de *Candida* varía en forma considerable dependiendo del género, siendo el germen más virulento la *Candida albicans*, la cual es capaz de generar males que resultan fatales en los seres humanos (15).

2.2.1.2. ESPECIE: *Candida albicans*

Sinónimos *Monilia albicans*, *Oidium albicans*. Tipo Hongo.

2.2.1.3. Características de *Candida albicans*

La *Candida albicans* es un hongo dimórfico, en otras palabras, se desarrolla de apariencia distinta en función de la temperatura de crecimiento, como levadura, normalmente a 37°C en el hospedador, y como liquen de punto de vista filamentoso, a 25°C en la naturaleza. Pertenece según su taxonomía al filo *Ascomycota* y se reproduce de forma asexual por gemación (15).

El dimorfismo le permite evadir los mecanismos de defensa relacionados con la inmunidad celular del huésped. En forma de levadura obtiene su energía de materia orgánica, tal es así que pueden beneficiarse mutuamente con el hospedador. mientras que, como hongo filamentoso, se comporta como un parásito capaz de producir patogenicidad produciendo diferentes síntomas en el hospedador. Macroscópicamente; en Agar Sabouraud crece formando colonias blancas, blandas, cremosas y lisas. presenta las siguientes características (15,16):

- Hospedadores Humanos.
- La dosis infectiva mínima se desconoce hoy en día.
- Supervivencia ambiental: Puede sobrevivir afuera del hospedador, normalmente en zonas húmedas y oscuras.
- Tiene un mecanismo de propagación y transmisión por vía endógena contactándose a través de la piel, mucosas, inoculación accidental o mordedura.
- Es responsable de sucesos de enfermedad nosocomial.
- Sus vías de comunicación pueden ser: Dérmica como mucosas y vía parenteral.
- Su distribución geográfica es mundial.

- Sus actividades laborales tienen peligro Industrial de la nutrición (16).

2.2.2. Candidiasis

Es aquella Infección superficial que aparece principalmente en los individuos con las defensas bajas y puede afectar a la piel, mucosas (oral, genitourinaria o digestiva) y a las uñas (paroniquia o perionixis) (15).

2.2.2.1. Tipos más frecuentes de candidiasis

- Candidiasis cutánea
- Candidiasis vaginal
- Candidiasis orofaríngea
- Candidiasis invasiva
- Candiduria

2.2.2.2. Síntomas de Candidiasis

Son leves como: Enrojecimiento, escozor y malestar. En personas con cáncer, trasplantados o con SIDA la micosis puede hacerse sistémica, denominado candidemia y puede ajustarse a ser letal (17).

2.2.2.3. Etiología de candidiasis

Estas infecciones generalmente están producidas por *Candida albicans* siguiendo en frecuencia *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. En los ancianos está aumentando la frecuencia de *C. glabrata* en las infecciones urinarias e infecciones invasivas y se encuentra con gran frecuencia

colonizada la cavidad orofaríngea de los decanos de 88 años en comparación con menores de esta edad, gracias a esto, hay una mayor incidencia de estomatitis. La forma clínica de las infecciones por *Candida* es variada, y abarcan desde infecciones cutáneas leves, incluso candidiasis sistémicas severas en pacientes críticos, que arrojan un mayor índice de mortalidad. El tratamiento de las infecciones localizadas sin embargo puede realizarse con antifúngicos locales, pero en las infecciones invasivas, requieren un enfoque sistémico (18).

2.2.2.4. Epidemiología de candidiasis

Es una micosis que se puede hallar en cualquier parte del mundo. Se considera una de las infecciones oportunistas con alta frecuencia en el género humano. Su incidencia ha crecido durante los últimos 20 años. Las que se encuentran en forma de levadura son causantes del 7,45% de las infecciones y 25% de las micosis superficiales. la Candidiasis por su parte es causante del 75 y 88% de las infecciones fúngicas nosocomiales y pueden afectar a cualquier persona sin importar su edad, sexo o raza (17).

2.2.2.5. Patogenia de candidiasis

El equilibrio entre la forma de levadura y el hospedadero, puede romperse y generar un tipo de parasitismo (micosis oportunista). El progreso de la enfermedad por *Candida* se debe a diversos factores como (15):

- Patogenicidad intrínseca del microbio.
- Mecanismos de barrera o defensa del hospedador

La *Candida* presenta dentro de sus características, moléculas capaces de generar adhesión en los tejidos del hospedador como:

- Receptores parecidos a la integrina humana CR 3 pertenecientes a las glucoproteínas que participan en la unión de células con la matriz extracelular, que se van a unir a la, fibronectina, fibrinógeno, y laminina, además de argininaglicina, ácido aspártico (RGD).
- Presenta una lectina que posee la capacidad de unión con los carbohidratos de células del epitelio.
- Presenta a la aspartilproteinasas, causante de virulencia participando en la irrupción tisular pues degrada los aminoácidos de la matriz extracelular.
- Presenta a la adenosina que su función principal es la acción inhibidora de síntesis de radicales O₂ en las células, principalmente de neutrófilos.
- Es importante para la patogenicidad del hongo, la transición de la forma levadura a hifas, es un fenómeno raro, pero no imposible (16).

Presenta mecanismos de pared del hospedador como:

a) No inmunes:

- La interacción con otras especies microbianas.
- El buen estado del estrato córneo.

b) Inmunes:

- Inmunidad mediada por células.
- Inmunidad humoral.

Las formas clínicas de candidiasis son:

a) Vía cutánea

- Grandes y pequeños pliegues
- Uñas: Onixis blastomicética
- Granuloma candidiásico
- Mucosa bucal: Muguet, glositis, queilitis
- Mucosa genital: Vaginitis y balanitis

b) Mucocutánea

- Mucosa digestiva: Esofagitis, gastralgias, enteritis y afecciones perianales
- Mucosa bronquial
- Candidiasis mucocutánea crónica

c) Candidiasis invasiva

- Candidemia: Transitoria o persistente
- Candidiasis localizada
- Candidiasis Diseminada: Aguda, crónica

d) Alérgica (17)

2.2.2.6. Tratamiento de candidiasis

Se debe mencionar que una forma preventiva de gran importancia, se encuentra en mantener un constante equilibrio de las defensas fisiológicas del hospedador con la flora. También es factible eliminar los irritantes, tales como los alimentos demasiado calientes, ácidos y picantes; también el tabaco y el alcohol. El tratamiento puede ser (18):

2.2.2.7. Antimicóticos: Derivados poliénicos

2.2.2.8. Nistatina

Sus presentaciones son: Comprimidos, pomadas y suspensión. Se le atribuye el poder de ser fungicida, además de que su absorción gastrointestinal no es significativa. Actúa uniéndose a membranas celulares de la Cándida. Su dosis es de 4 a 6 por día y debe aplicarse hasta que desaparezca la infección incluso hasta una semana después. No hay evidencia de contraindicación en niños, ni pacientes embarazadas, Pero es importante conocer que dentro de su presentación llevan lactosa y gran cantidad de carbohidrato, además de tener una limitada absorción sistémica, este fármaco es de primera elección (19).

2.2.2.9. Mecanismo de acción de Nistatina

La Nistatina se une a los esteroides en las membranas celulares tanto de líquenes como de células humanas. La Nistatina es generalmente fungistática in vivo, sin embargo, puede tener actividad fungicida a concentraciones altas o contra cuerpos altamente susceptibles. La Nistatina tiene máxima inclinación por el ergosterol y el esteroide encontrado en las membranas celulares de los hongos, que, para el colesterol, el esteroide encontrado en las membranas celulares humanas. Sin embargo, este fármaco es demasiado tóxico para ser usado sistémicamente ya que la integridad de membrana de unión de ambas células fúngicas y células humanas se deteriora, provocando la devaluación de potasio intracelular y otros espacios celulares, dado que las

bacterias no contienen esteroides en sus laminillas celulares, la Nistatina es ineficaz contra protozoos, tricomonas y virus (19).

2.2.2.10. Anfotericina B

La anfotericina B es solo para uso parenteral, es un antibiótico y también antifúngico. Pertenece al grupo del macrólido heptaeno. Este medicamento presenta diversos problemas como poca estabilidad dentro del organismo, además de que presenta reacciones adversas muy importantes, produciendo daños a nivel del SNC, riñón, etc. De forma inmediata y al uso prolongado y elevado de anfotericina B, se podrían presentar: Fiebre, escalofríos, cefaleas, temblores, etc. Está contraindicado en niños y embarazadas, por ello es una droga de segunda elección (20).

2.2.2.11. Antimicóticos: Derivados triazólicos

Estos fármacos son los más potentes, la inclusión de azoles orales pueden traer consigo resistencia que desarrolla la *Candida albicans* a estos, en particular al antimicótico fluconazol. Por esto, es importante que la terapia tópica sea usada como primera elección para la terapéutica en candidiasis oral aguda y no implicada, el tratamiento con azoles de forma sistémica debe ser solo para casos donde el tratamiento tópico no presente resultados o en su defecto cuando la candidiasis oral es más severa y que afecte al esófago (20).

2.2.3. Stevia

Nombre científico: *Stevia rebaudiana Bertoni*.

2.2.3.1. *Stevia rebaudiana* Bertoni.

La *Stevia rebaudiana* Bertoni, pertenece al género de *Stevia*. Fue cultivada y utilizada hace mucho tiempo por sus grandes bondades como edulcorante y contenido calórico. Esta planta es de la familia de las *Asteráceas*, estas tienen una mayor cantidad de diversidad biológica y riquezas. La *Stevia* es nativa de zonas tropicales de Sudamérica como en Paraguay. Su uso puede darse en diabetes tipo II, puesto que posee glicósidos con propiedades endulzantes sin calorías. Su poder de edulcoración es 30 veces más que el azúcar y el extracto alcanza de 200 a 300 veces más. Las hojas tienen el mayor contenido de esteviosido y rebaudiosido, que poseen principales principios activos. Los extractos de *Stevia rebaudiana* contienen un mayor contenido de glucósidos esteviol diterpenos. El esteviósido y el rebaudiosido, son los principales compuestos responsables de la edulcoración y básicamente están acompañados por pequeñas cantidades de otros esteviol glicósidos.¹³ Es indiscutible sus propiedades antifúngicas y antimicrobianas en especial contra: *Corynebacterium difteriae*, *Entamoeba coli*, *Stafilococos aureus*, y *Corynebacterium difteriae* y por supuesto contra el hongo *Candida albicans*, principal agente etiológico para candidiasis y vaginitis en féminas. También, se utiliza a nivel de la industria cosmética como tratamientos para granos y manchas superficiales (12).

2.2.3.2. Composición de *Stevia rebaudiana*

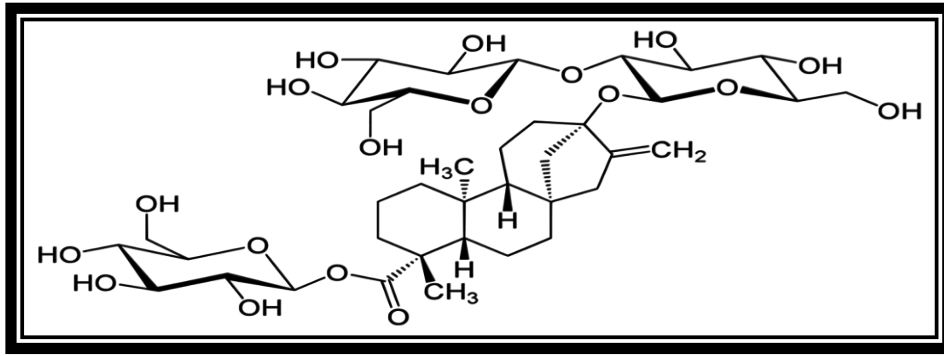


Fig1: Composición química de *Stevia rebaudiana*, Formula C₃₈ H₆₀ O₁₈ (21)

- Peso molecular: 804
- Los cristales en estado de pureza funden a 238°C
- No fermenta
- Mantiene su sabor a bajar y altas temperaturas
- Es soluble en alcohol etílico, metílico y agua.
- Es rica en Hierro, cobalto y magnesio
- En su valor nutricional, No presenta calorías, grasas saturadas, azúcares, colesterol, carbohidratos.

Los componentes que le atribuyen la capacidad edulcorante de la planta son:

- Estevióside
- Esteviolbíosido
- Rebaudiósido
- Dulcósido.

Todos ellos se encuentran presentes en mayor porcentaje en las hojas, esto es en función al género y las condiciones agronómicas atribuidas a su crecimiento, que pueden llegar al 15% de lo que se compone. Aquellos

extractos puros que se obtienen de las hojas tienen más del 95% de esteviosido (10).

En la industria alimenticia, las plantas procesadas contienen glucosidos en menor porcentaje calórico y su poder endulzante es de 100 a 300 veces más que el de la sacarosa que es un disacárido y a grandes cantidades, podría llegar a ser mortal en personas que tienen diabetes. Por otro lado, el rebaudiosido presenta propiedades edulcorantes entre 50 a 250 veces más y al ser glúcidos son pocos absorbidos por vía digestiva y se hidrolizan por bacilos que se hallan en la flora intestinal (13).

2.2.3.3. Efecto Antibacteriano de *Stevia rebaudiana*

Las propiedades antimicrobianas del extracto a partir de hojas de *Stevia*, tiene gran efecto bactericida en *Streptococcus mutans*. Cepa presente como agente etiológico en caries dental y muy presente en la cavidad bucal. (Kujur A. 2010). También se han encontrado efecto antimicrobiano contra *Candida albicans* principal productor de candidiasis. Otros también le atribuyen propiedades antivirales por su componente arabinogalactan (22).

2.2.3.4. Propiedad inmunomodulador de la *Stevia rebaudiana*

Esta definición es atribuida por su capacidad de coadyuvante para equilibrar el sistema inmunológico de forma fisiológica. Quiere decir que normaliza el medio optimizando la respuesta inmunológica, esto gracias a que posee alcaloides dispuestos a la defensa celular y valor hormonal (23).

Varios estudios mencionan que la *Stevia* tiene efectos anticonceptivos, otros mencionan sus usos como tratamiento en alteraciones de la piel como acné hasta dermatitis. Otras propiedades que se le conceden son: facilita la digestión, ayuda a las funciones gastrointestinales, estimula el estado de alerta y presenta en la persona la sensación de bienestar (24).

2.2.3.5. Descripción botánica de *Stevia rebaudiana*

La *Stevia rebaudiana* pertenece a la familia *Asteraceae*, es una legumbre herbácea perenne de tallo erecto, subleñoso, pubescente; en su etapa de desarrollo inicial no posee ramificaciones, siendo multiplicable después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 25 tallos entre 5 a 6 años; puede alcanzar aproximadamente 85 cm de altura en su hábitat natural y en lugares más tropicales puede tener alturas superiores a 100 cm con respecto al suelo. Su raíz es axonomorfa, filiforme y solo se halla en la superficie terrenal. La planta tiene hojas de forma elípticas, dentadas y otras ovales (21).

2.2.3.6. Origen y distribución de *Stevia rebaudiana*

La *Stevia rebaudiana* es originaria de Paraguay, específicamente de su región oriental. Esta planta desde tiempos remotos ha sido explotado y utilizado por sus grandes propiedades en medicina. Aproximadamente 250 especies pertenecen al género *Stevia* originarias de Centroamérica. Otros se hallaron en lugares más alejados como México y Texas. Pero se da créditos al uso de *Stevia* en Brasil y Paraguay que usaron diferentes especies de la planta como *Stevia rebaudiana* a quien la denominaban yerba duce hace muchos años.

Hoy en día se considera a Japón como el principal productor de *Stevia* a nivel mundial (21).

2.2.3.7. Siembra de *Stevia rebaudiana*

El tipo de suelo para la siembra de esta planta es muy variado y puede crecer en suelos arenosos, tanto de baja fertilidad como en suelos con alta humedad. Se siembran a aproximadamente 30 cm entre hijuelos y aproximadamente 20 cm entre plantas. Para tener mejores cosechas de *Stevia rebaudiana* se debe trazar caminos amplios de casi 3 metros de ancho por aproximadamente 90 metros, esto depende del área en el que se siembre que podría ser cercado a 150 000 hectáreas (21).

2.2.3.8. Cosecha de *Stevia rebaudiana*

La parte útil de la *Stevia* y con fines comerciales se encuentran en las hojas, El mayor rendimiento del cultivo se presenta en los 4 primeros años y si las condiciones ambientales son favorables, se realizan hasta 5 cosechas al año. Es importante obtener las hojas frescas y lo más sanas posibles y se debe dejar unas 3 o 4 pares de hojas. A partir de las hojas frescas se puede obtener todos los buenos componentes de la planta (21).

2.2.3.9. Proceso de secado de *Stevia rebaudiana*

Gracias al secado se obtiene la calidad del producto final de *Stevia rebaudiana*; las hojas deben secarse hasta el punto donde se facilite su manipulación. En este proceso debe evitarse la exposición directa al sol, pues

esta situación puede alterar sus propiedades químicas; si las condiciones de intensidad solar son bajas y la humedad relativa es alta, se debe hacer necesaria la construcción de galpones rústicos de secado, con un sistema de ventilación y de calentamiento, lo que va a contribuir tener un secado uniforme; este último es el método más recomendable (2).

2.2.4. Método de kirby Bauer

La prueba de Kirby-Bauer determina la susceptibilidad a los antibióticos, llamada disco. Su prueba de difusión, es un estándar que se ha utilizado durante años. Primero desarrollado en la década de 1950, fue refinado después por W. Kirby y A. Bauer, entonces estandarizado por la Organización Mundial de la Salud en 1961. El método de kirby Bauer todavía se usa en algunos laboratorios. Esta prueba se utiliza para determinar la resistencia o sensibilidad de los aerobios o anaerobios facultativos a productos químicos específicos, que luego pueden ser utilizado por el clínico para el tratamiento de pacientes con infecciones bacterianas. La presencia o la ausencia de un área inhibitoria alrededor del disco identifica la sensibilidad bacteriana al fármaco (25).

2.2.4.1. Procedimiento básico de kirby Bauer

- La bacteria se limpia con un hisopo en el agar y los discos de antibióticos son colocado en la parte superior.
- El antibiótico se difunde desde el disco al agar en cantidades decrecientes. más lejos está el disco.

- Si el organismo es matado o inhibido por la concentración del antibiótico, no habrá crecimiento en el área inmediata alrededor del disco: Esto se llama La zona de inhibición.
- Los tamaños de las zonas se buscan en un gráfico estandarizado para dar un resultado de sensible, resistente o intermedio.
- Muchos cuadros tienen una columna correspondiente que También da el MIC (concentración inhibitoria mínima) para ese medicamento.
- El MIC es actualmente la prueba estándar para pruebas de sensibilidad a los antibióticos porque produce más pertinente Información sobre dosis mínimas.
- El medio Mueller Hinton que se usa para la prueba de Kirby Bauer es muy alto en proteínas (26,27).

III. HIPÓTESIS

Hipótesis de investigación:

- **H_i**: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*.

Hipótesis estadísticas

Hipótesis nula

- **H₀**: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*.

Hipótesis alterna

- **H_i**: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Tipo de la investigación

La presente investigación se ajusta a un tipo de estudio:

- Según al enfoque de la investigación, a un estudio **cuantitativo**. Según Esther G y col. Es el procedimiento de decisión que pretende dar alternativas utilizando magnitudes numéricas que pueden ser utilizadas en el campo de la estadística; es un procedimiento, reflexivo, sistemático, controlado y crítico (28).
- Según la intervención del investigador, a un estudio **experimental**: La investigación experimental, consiste en la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento en particular (29).
- Según la planificación de la toma de datos, a un estudio **prospectivo**. Es aquella donde los hechos se registran a medida que ocurren (30).
- Según el número de ocasiones en que se mide la variable, a un estudio **longitudinal**. Se basa en el seguimiento de los mismos sujetos a lo largo de un cierto periodo de tiempo, implica la observación repetida (30).
- Según el número de variables de interés, a un estudio **analítico**. Plantea que el análisis estadístico por lo menos es bivariado; por que plantea y pone a prueba hipótesis, su nivel más básico establece la asociación entre factores (31).

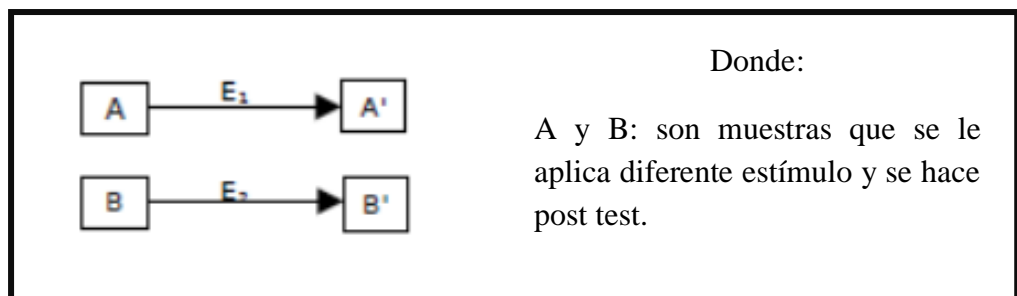
Nivel de la investigación

Explicativo: El investigador trata de encontrar posibles relaciones, a veces causales, respondiendo a las preguntas por qué y cómo del evento estudiado. La investigación explicativa no se conforma con descripciones detalladas. Intenta descubrir leyes, principios y generar modelos explicativos y teorías (Supo J. 2014) (32).

Diseño de la investigación

Estudio experimental puro de tipo microbiológico: Pues pertenece a un estudio in vitro, realizado en un laboratorio microbiológico bajo condiciones de control (32).

- Esquema de la investigación:



4.2. Población y muestra

Población: Constituido por Cepas de *Candida albicans*, quienes cumplieron con los criterios de inclusión.

Criterios de selección:

a) Criterios de inclusión

- Cepas puras de *Candida albicans* ATCC 10231
- Cultivo Agar Sabouraud Glucosado.

b) Criterios de exclusión

- Cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231 con mala práctica de almacenamiento.
- Cultivo Agar Sabouraud Glucosado con contaminación antrópica.

Muestra: Estuvo constituido por 10 placas Petri con cepas de *Candida albicans*, Según la determinación de la formula.

Para la determinación de del tamaño de la muestra, se utilizó la siguiente formula:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

Dónde: $Z_{\alpha/2} = 1.96$ para un $\alpha = 0.05$

$Z_{\beta} = 0.84$ para un $\beta = 0.20$

$S = 0.8 (X_1 - X_2)$, valor asumido por no estar indicados los parámetros de estudios anteriores.

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 2 \times 0.8^2 (x_1 - x_2)^2}{(x_1 - x_2)^2} = 2.8^2 \times 2 \times 0.8^2 = 10 \text{ placas Petri.}$$

4.3. Definición y operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	TIPO	ESCALA	INDICADOR	VALORES
DEPENDIENTE Efecto inhibitorio antimicótico	Es la capacidad que posee una sustancia de impedir el crecimiento de un hongo (9) Se determinó mediante el método Kirby-Bauer.	No aplica	Cuantitativa	Razón	-Ficha de recolección de datos / diámetro del halo de inhibición	Medida en mm
		No aplica	Cualitativa	Nominal	-Escala de Duraffort.	1. Nula (<8mm) 2. Sensible (>8-14 mm) 3. Muy sensible (>14-20 mm) 4. Sumamente sensible (>20mm)
INDEPENDIENTE Solución antimicótica: -Solución de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%	Especie del género <i>Stevia</i> de la familia de las Asteráceas que se usa como endulcolorante y se estudian sus propiedades antimicrobianas (10).	Concentración del extracto	Cuantitativa	Razón	-Etiquetado del extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30% en placas Petri.	Solución al 30%
-Nistatina	La Nistatina es un fármaco del grupo poliénico con propiedad fungistática (19).	Nistatina en suspensión	Cuantitativa	Razón	-Etiquetado de Nistatina en placas Petri.	Suspensión 100.000 UI/mL

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica

La técnica estuvo comprendida por la observación microbiológica estructurada.

Instrumento

El instrumento utilizado fue la ficha de recolección de datos elaborada para el estudio. (Anexo 02). Donde se utilizó una regla milimetrada para realizar las mediciones correspondientes del halo de crecimiento. Se utilizó también el método Kirby Bauer, destinado para determinar la susceptibilidad de un microorganismo a un agente antimicrobiano, Por lo que es el método más utilizado en diversos estudios como: Estacio K (2016). En su estudio que lleva por título: “Efecto antimicótico de la *Stevia comercial* y el extracto etanólico de *Stevia Rebaudiana* al 30% sobre cepas de *Candida albicans*”.

Procedimiento

Se inició con la entrega de la carta de autorización al jefe de laboratorio de la ULADECH CATOLICA para la ejecución del estudio (Anexo 01), después se procedió a ejecutar la investigación experimental de la siguiente manera:

Preparación del extracto de *Stevia rebaudiana*

La elaboración del extracto se elaboró gracias a la asesoría del jefe de practica de farmacognosia y Fitoquímica de la ULADECH, la Química farmacéutica Ormeño Llanos Mily (anexo 03). El procedimiento se realizó de la siguiente manera:

- Se colocó 110g de *Stevia rebaudiana* (adquiridas de forma comercial) a la estufa por 30 minutos a 45° y se retiró a las 24 horas, después se obtuvo la muestra seca de *Stevia rebaudiana*.
- Se licuó toda la muestra, hasta obtenerla en polvo.
- Después se realizó el método de percolación para eliminar los excesos e impurezas del polvo de las hojas de *Stevia rebaudiana*.
- Se pesan 100g de hojas de *Stevia rebaudiana* en polvo en un frasco obscuro
- Por otro lado, se obtiene alcohol al 70% a partir del alcohol 96°
- El alcohol al 70% se masera junto con la *Stevia rebaudiana* durante una semana.
- Después se realizó el proceso de filtrado. Antes de ello se colocó el extracto en el rotavapor, para extraer mediante evaporación el disolvente.
- Se obtuvo el extracto al 100% de concentración por el método de filtración simple, gracias papel filtro. Después de se realiza la dilución para obtener el extracto al 30%.

Preparación de medio de cultivo: Sabouraud Glucosado Agar

El procedimiento microbiológico se realizó gracias a la asesoría de: Angeles Angulo André Alexis (analista de laboratorio de la escuela profesional de biotecnología de la UNS) (Anexo 04). Iniciando con la preparación del medio de cultivo de la siguiente manera:

- Se procedió a pesar 13g de agar en la balanza analítica.
- Después se diluyo en 200ml de agua destilada

- La dilución se llevó al Hot plate a 320° para diluir de manera homogénea el medio de cultivo.
- Luego se llevó a la autoclave para esterilizarlos, esto a 121 ° x 15 minutos.
- Después de retirar de la autoclave, se vertió el Agar en placas Petri esto se realizó dentro de la cámara de flujo laminar (previamente la cámara se desinfectó con rayos UV x 15 minutos)
- Luego se colocó la solución de *Stevia* en la cámara de flujo laminar para su desinfección con rayos UV así mismo con las pipetas y tubos de ensayo.

Siembra de *Candida albicans*

- Posteriormente en un tubo de ensayo con 10ml de solución salina y el tubo de McFarland N°1 se realizó el raspado del medio de cultivo de *Candida albicans* ATCC y se diluye el tubo con solución salina hasta tener el mismo grado de turbidez del tubo N° 1 McFarland.
- Con los hisopos estériles se realizó la siembra por extensión de placa y se descarga los hisopos usando una solución de hipoclorito de sodio al 5%.

Colocación de discos en el cultivo

- Se realizó la colocación de los discos con la ayuda de una pinza estéril, se embebe cada disco con cada solución y se llevó a la placa Petri con el agar, posterior a ello se rotulo cada solución (*Stevia*, Nistatina y agua destilada). Se dejó incubar por 48 horas.

Lectura de los halos de inhibición

- Después de 48 horas con una regla milimetrada, para método de ensayo de la susceptibilidad de Kirby Bauer, se midieron los halos de inhibición que se produjeron en cada una de las placas Petri.
- Para el análisis de resultados se utilizó la escala de Duraffourt quien determinara el efecto inhibitorio in vitro de la siguiente manera (33):

Diámetro	Sensibilidad
<8 mm	Nula (-)
>8-14 mm	Medio sensible (+)
>14 mm-20 mm	Medio muy sensible (++)
>20 mm	Medio sumamente sensible(+++)

4.5. Plan de análisis.

Se ingresó los datos recolectados en el paquete Excel 2019, donde se realizó la limpieza y codificación de la base de datos, posteriormente se importó la base datos al paquete estadístico SPSS versión 25, donde se llevó a cabo el análisis. Para el análisis univariado de variables cuantitativas, se emplearon medidas de tendencia central (media, desviación estándar, valor máximo y valor mínimo); para las variables categóricas, se emplean frecuencias absolutas y relativos. Así mismo, para el análisis de contraste de hipótesis, se calcula las pruebas de normalidad de la variable efecto inhibitorio, para determinar la prueba de comparación de medias se utilizó Kruskal wallis para muestras independiente (medias según concentración del extracto y controles) o pareadas (medias según evaluación a las 48h).

4.6. Matriz de consistencia.

TITULO: Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de *Stevia rebaudiana* en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, Chimbote, 2019.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE	METODOLOGÍA
¿Cuál es la actividad antimicótica in vitro del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> en comparación con Nistatina frente a <i>Candida albicans</i> , Chimbote, 2019?	<p>Objetivo general Determinar la actividad antimicótica, in vitro, del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i>, al 30%, en comparación con Nistatina frente a <i>Candida albicans</i>, Chimbote, 2019.</p> <p>Objetivos específicos 1. Determinar el halo de inhibición del extracto de <i>Stevia rebaudiana</i>, al 30%, frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019. 2. Determinar el halo de inhibición de la Nistatina sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote 2019. 3. Comparar el efecto antimicótico producidos por el extracto de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30% frente a la Nistatina, de acuerdo a los halos de inhibición, sobre la <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.</p>	<p>Hipótesis de investigación</p> <p>H₁: El extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%, presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Hipótesis Estadística</p> <p>-Hipótesis nula H₀: El extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%, no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p>-Hipótesis alterna H_i: El extracto etanólico de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%, presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	<p>Variable dependiente: Efecto inhibitorio Antimicótico</p> <p>Variable independiente Solución antimicótica: -<i>Stevia rebaudiana</i> -Nistatina</p>	<p>Tipo de investigación Se ajusta a un tipo de estudio: Cuantitativo, experimental, prospectivo, longitudinal, analítico.</p> <p>Nivel de investigación: - Explicativo</p> <p>Diseño de la investigación - Experimental puro de tipo microbiológico.</p> <p>Población - Constituido por las Cepas de <i>Candida albicans</i>.</p> <p>Muestra - Constituido por 10 placas Petri con las cepas de <i>Candida albicans</i>.</p>

4.7. Principios éticos y legales

El presente estudio cumple con todos los criterios éticos, por pertenecer a una investigación viable de tipo experimental, se solicitaron la autorización y supervisión del laboratorio de microbiología de la ULADECH y la UNS para su estudio, quienes cumplieron con todos los cuidados posibles. Para evitar el riesgo de contaminación por desechos, se realizó un adecuado manejo interno y externo de residuos peligrosos biológicos infecciosos en el laboratorio, de modo tal que no se atenta contra la salud de los seres humanos. También se tomó en cuenta aquellos principios y valores éticos del código de ética para la investigación, versión 004 estipulados por la ULADECH católica, las cuales sugiere (34):

- **Cuidado del medio ambiente y la biodiversidad:** Las investigaciones que involucran el medio ambiente, plantas y animales, deben tomar medidas para evitar daños. Las investigaciones deben respetar la dignidad de los animales y el cuidado del medio ambiente incluido las plantas, por encima de los fines científicos; para ello, deben tomar medidas para evitar daños y planificar acciones para disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios (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).
- **Justicia:** El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas (34).

V. RESULTADOS

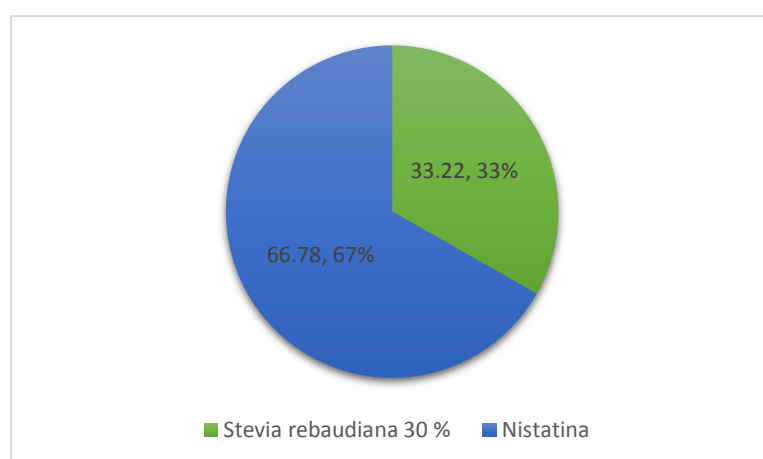
5.1.- Resultados

Tabla 1.- Actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, Chimbote, 2019.

	inhibición <i>Candida albicans</i>	%	Actividad antimicótica	Sig.(p)*
<i>Stevia rebaudiana</i> 30%	11 mm	33,22	SI PRESENTA	0.437
<i>Nistatina</i>	21 mm	66,78	SI PRESENTA	

Fuente: Ficha de recolección de datos

P* prueba KRUSKALL WALLIS, con nivel de significancia ($p < 0.05$)



Fuente: Datos de la tabla N°1

Gráfico 1.- Actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, Chimbote, 2019.

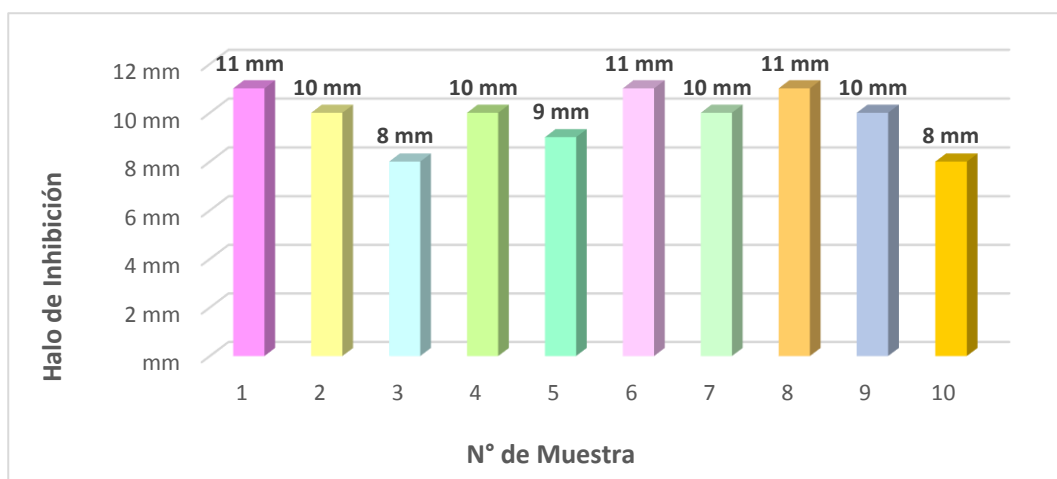
Interpretación: De la tabla N°01, aplicando la prueba no paramétrica de diferencia de medias KRUSKALL WALLIS, se obtuvo ($p = 0.437 > 0.05$), de lo cual podemos indicar que no existe variación de medias entre los grupos analizados.

Es decir, estadísticamente la *Stevia rebaudiana* no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina, La *Stevia rebaudiana* presentó una inhibición de 11 mm, el cual representado en porcentaje sería 33.22% mientras que Nistatina presentó una inhibición de 21 mm que vendría a representar el 66.78%, tampoco se evidenció diferencias significativas entre las muestras empleadas.

Tabla 2.- Halo de inhibición del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, frente a *Candida albicans* ATCC 10231 utilizando el método kirby-Bauer, Chimbote, 2019.

N° Muestra	Halo de Inhibición
1	11 mm
2	10 mm
3	8 mm
4	10 mm
5	9 mm
6	11 mm
7	10 mm
8	11 mm
9	10 mm
10	8 mm

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla N°2

Gráfico 2.- Halo de inhibición del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, frente a *Candida albicans* ATCC 1023 utilizando el método kirby-Bauer.

Interpretación:

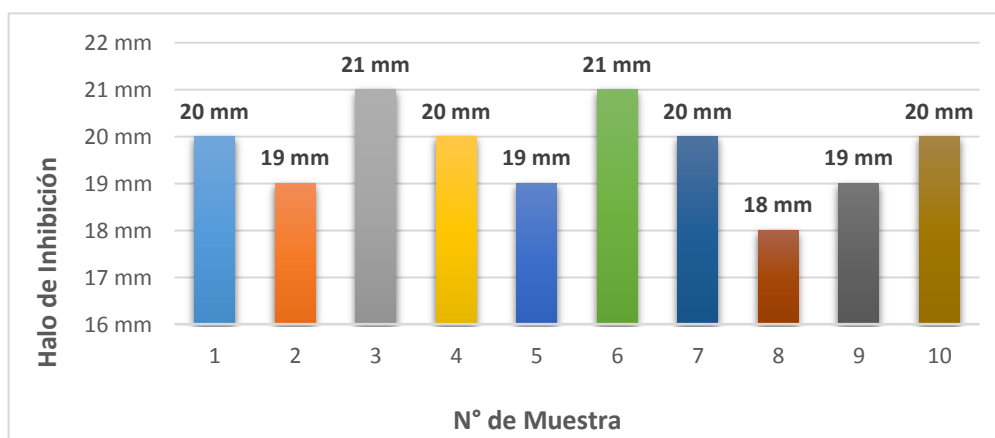
Se evaluó los diámetros de los halos de inhibición de las 10 muestras del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, frente a *Candida albicans*. El que mayor diámetro de inhibición presentó fue la muestra 1- 6 - 8 con 11 mm, mientras que el de menor diámetro de inhibición se mostró en la muestra 3 - 10 con 8 mm; que según Duraffort el efecto inhibitorio presenta un medio sensible (+).

Tabla 3.- Halo de inhibición de la Nistatina sobre *Candida albicans* ATCC 10231

Utilizando el método Kirby - Bauer, Chimbote, 2019.

N° Muestra	Halo de inhibición
1	20 mm
2	19 mm
3	21 mm
4	20 mm
5	19 mm
6	21 mm
7	20 mm
8	18 mm
9	19 mm
10	20 mm

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla N°3

Gráfico 3.- Halo de inhibición de la Nistatina sobre *Candida albicans* ATCC 10231

Utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.

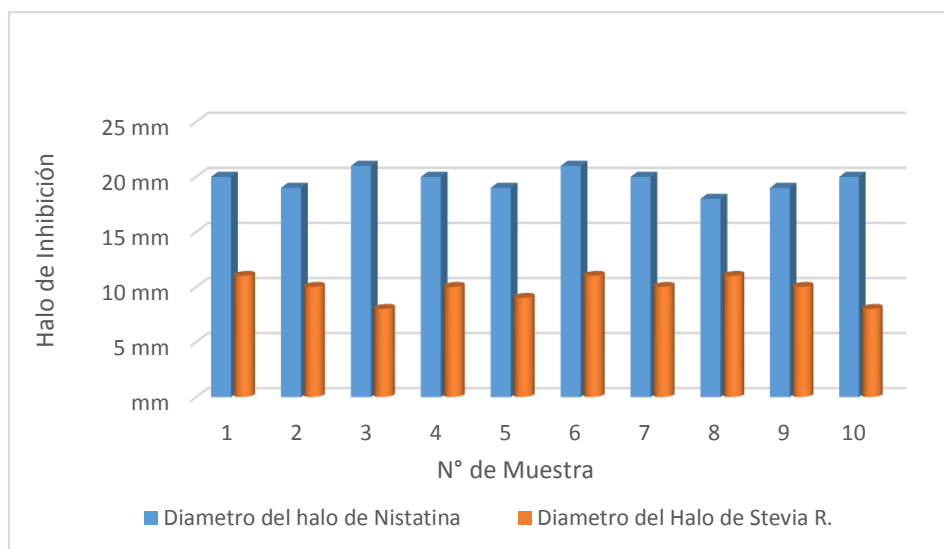
Interpretación:

Se evaluó los diámetros de los halos de inhibición de las 10 muestras con el antimicótico Nistatina frente a *Candida albicans*. El que mayor diámetro de inhibición presentó fue la muestra 3 - 6 con 21 mm, mientras que el de menor diámetro se mostró en la muestra 8 con 18 mm; ingresando al medio sumamente sensible (+++) para la muestra 3 - 6 y muy sensible (++) en la muestra 8 según la escala de Duraffourt.

Tabla 4.- Efecto antimicótico producidos por el extracto de *Stevia rebaudiana* al 30% frente a la Nistatina, de acuerdo a los halos de inhibición sobre *Candida albicans* ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.

MUESTRA	Diámetro del Halo de Inhibición de Nistatina	Diámetro del Halo de Inhibición de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30%
1	20 mm	11 mm
2	19 mm	10 mm
3	21 mm	8 mm
4	20 mm	10 mm
5	19 mm	9 mm
6	21 mm	11 mm
7	20 mm	10 mm
8	18 mm	11 mm
9	19 mm	10 mm
10	20 mm	8 mm

Fuente: Ficha de recolección de datos



Fuente: Datos de la tabla N°3

Gráfico 4.- Efecto antimicótico producidos por el extracto de *Stevia rebaudiana* al 30% frente a la Nistatina, de acuerdo a los halos de inhibición sobre *Candida albicans* ATCC 10231 utilizando el método Kirby-Bauer, Chimbote, 2019.

Interpretación:

De acuerdo a la comparación de los diámetros en los halos de inhibición, sobre la *Candida albicans* en el efecto antimicótico producidos por el extracto de *Stevia rebaudiana* al 30% y Nistatina. Esta última presentó mayores diámetros de inhibición con 21 mm a comparación de la *Stevia rebaudiana* al 30% donde tuvo el mayor diámetro de inhibición con 11 mm. En términos generales el que mayor inhibición presentó fue el antimicótico Nistatina en la mayoría de las muestras tratadas. Estos valores máximos de inhibición, se pueden observar en la muestra n° 6.

5.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En búsqueda de una alternativa de tratamiento natural sobre la candidiasis se hizo presente el trabajo de investigación donde se buscó: Determinar la actividad antimicótica de la *Stevia rebaudiana* en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*. Donde se encontró como resultados que la cepa *Candida albicans* es sensible (+) según Duraffourt al extracto de *Stevia rebaudiana* con 11mm de crecimiento máximo; estos resultados son muy similares a los encontrados en la investigación de Estacio K (Ecuador,2016).⁴ Quien obtuvo una medida de 10.33 mm de halo de inhibición del extracto comercial de *Stevia rebaudiana* al 30%, mientras que, el extracto etanólico obtuvo 9.27 mm de crecimiento, esto según la escala de Duraffort en un rango sensible (+); este último resultado es casi cercano a los resultados obtenidos en el presente estudio por ser también el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana*. Por otro lado, Avila A y Julca A (Trujillo,2015).⁷ En su estudio titulado “Parámetros de calidad del extracto fluido de las hojas de *Stevia rebaudiana* y su efecto antifúngico in vitro frente a *Candida albicans*”. Obtuvieron como resultados que: 10 mg/ml de *Stevia rebaudiana* sobre *Candida albicans*, tuvieron un crecimiento de 10.3 mm, el de 100mg/ml obtuvo 16.1 mm de crecimiento y de 1000 mg/ml, se obtuvo 17,9 mm de crecimiento mínimo y 20 mm de crecimiento máximo (demostrando ser muy sensibles ++), estos resultados presentan mayor significancia puesto que se utilizaron extractos puros de *Stevia rebaudiana* con el que se pudo aprovechar al máximo los principios activos de la planta. En otro estudio realizado por Chilaca G y Cava C (Bolivia,2012).¹⁰ Se encontró que el extracto de *Stevia rebaudiana* al 10% presento un halo de inhibición de 12 mm, al 20% se obtuvo 16 mm y al 30% se obtuvo 20 mm, mientras que el control positivo Ketoconazol, tuvo 26 mm de halo de

inhibición; estos valores encontrados, sobre todo el extracto al 30% quien obtuvo un crecimiento de 20 mm comparado con los 11 mm encontrados en el presente estudio, presentan una variante importante ya que el medio reactivo para la utilización del extracto fue Hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) + Dióxido de carbono (CO_2), al parecer estos reactivos potencian los principios activos de la *Stevia rebaudiana*; en este estudio evidenciaron que, a mayor concentración del extracto de *Stevia rebaudiana* mayor es el diámetro del halo de inhibición formado; También se encontró valores muy similares entre los controles positivos ya que en la presente investigación el antimicótico Nistatina obtuvo un halo de inhibición de 21 mm, mientras que el Ketoconazol presento un crecimiento de 26 mm, también Garcia L (Cajamarca,2018).¹¹ Demostró el efecto antimicótico de extractos secos y acuosos de 3 variedades de *Stevia rebaudiana* adaptadas agrónomicamente y encontró como resultados que: El extracto acuoso frio presenta mayor efecto inhibidor, el extracto acuoso caliente, presenta un efecto intermedio y el extracto seco presento el menor efecto inhibidor, según la variedad; encontró que quien tiene menor efecto inhibitorio fue la criolla paraguaya, el de efecto intermedio fue la criolla San Jacinto y el de mayor efecto inhibitorio fue la variable EIRETE; quien obtuvo crecimientos de 15 a 35 mm incluso superando a su control positivo que fue el Fluconazol, quien tuvo un halo de inhibición de 24 a 30 mm. Se demostró que la variable EIRETE posee un mejor potencial Fitoterapéutico puesto que es una variedad clonal de *Stevia rebaudiana* donde tiene 7% más del componente rebaudiosido. Este resultado puede deberse gracias a las condiciones genéticas mejoras de la variable EIRETE puesto que los componentes antimicrobianos estarían en mayor concentración. Por otro lado, Juca A (Ecuador,2016).⁹ En su estudio establece la utilización del extracto de *Stevia rebaudiana* en las bacterias de

la cavidad oral, inhibiendo el crecimiento y el desarrollo de otras bacterias; encontró que el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* es efectivo a las 24 horas siendo bacteriostático sobre *Streptococcus mutans* y otras bacterias, este estudio es muy importante ya que al igual que nuestro estudio obtuvimos buenos resultados en cuanto al potencial antimicrobiano de la *Stevia rebaudiana* que como Juca A, establece que estos potenciales antimicrobianos se deben a los componentes principales como los fenoles, taninos, flavonoides, esteviosido y rebaudiosido de la *Stevia rebaudiana*, por lo tanto la utilización de la *Stevia rebaudiana* como antibacteriano y antimicótico está demostrado. Se toma en cuenta que los resultados pueden variar ya que influyen varios factores tales como: El clima, la temperatura, el régimen de lluvias, la luz, la humedad, etc. Ello puede alterar las especies vegetales haciendo que se pierda las sustancias solubles en este caso de las hojas de *Stevia rebaudiana*.

VI. CONCLUSIONES

Dentro del marco de los objetivos propuestos, la investigación concluye que:

1. La *Stevia rebaudiana* SI presenta actividad antimicótica frente a *Candida albicans*, representado el 33.22 % mientras que la Nistatina presentó una inhibición máxima representada al 66.78%. Aplicando la prueba no paramétrica de diferencia de medias Kruskal Wallis, se obtuvo ($p = 0.437 > 0.05$), de lo cual podemos indicar que no existe variación de medias entre los grupos analizados.
2. El halo de inhibición del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30% presento una inhibición máxima de 11 mm y una mínima de 8 mm (+).
3. El halo de inhibición de la Nistatina sobre la *Candida albicans* tuvo un diámetro máximo de 21 mm (+++); mientras que el de menor diámetro fue de 18 mm (++) .
4. El efecto antimicótico de la *Stevia rebaudiana* al 30% en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, de acuerdo a los halos de inhibición presentan una diferencia de 10 mm donde se concluye que, la Nistatina presenta mayores efectos antimicóticos. La *Candida albicans* demostró ser sensible (+) frente a *Stevia Rebaudiana* al 30%, mientras que frente a la Nistatina demostró ser muy sensible (++) y sumamente sensible (+++).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

RECOMENDACIONES

1. Continuar con estudios experimentales sobre *Stevia rebaudiana* y descubrir todas sus propiedades y efectos antimicrobianos frente a otros microorganismos presentes en la cavidad oral.
2. Gracias a los buenos resultados antimicóticos demostrados en la presente investigación sobre el extracto de *Stevia rebaudiana*, se recomienda a la población en general tomar en cuenta estos hallazgos para el tratamiento natural de Candidiasis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez J. Miranda J. Candidiasis de la mucosa bucal. Revisión bibliográfica. La Habana. [Artículo online] 2002 [Última visita 20 septiembre del 2018] disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200007
2. *Candida infections of the mouth, throat, and esophagus* [Artículo online] 2017 [última visita 20 septiembre del 2018] disponible en: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/thrush/index.html>
3. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis [Artículo online] 2016 [Última visita 21 septiembre del 2018] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4801147/>
4. Estacio K. Efecto antimicótico de la Stevia comercial y el extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30% sobre cepas de *Candida albicans*. Estudio in vitro. [Tesis online] Quito, 2006 [última visita 23 septiembre del 2018] disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8249>
5. Anti diabetic property of aqueous extract of Stevia rebaudiana Bertoni leaves in Streptozotocin-induced diabetes in albino rats [Artículo online] 2018 [última visita 23 septiembre del 2018] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5996538/>

6. Sotero N, Arreguin S, Garcia A, Fernandez J, Lopez M, Morales C, Flores A, Salazar A. Evaluación de extractos de *Stevia rebaudiana Bertoni* sobre enterobacterias resistente a antibióticos [Artículo en internet] México – 2017 [última visita el 04 de abril 2021] disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57956616009.pdf>

7. Ávila A. Julca A. Parámetros de calidad del extracto fluido de las hojas *Stevia rebaudiana Bertoni* y su efecto anti fúngico in vitro frente a *Candida albicans* [Tesis] Trujillo-Perú 2015 [Última visita 01 octubre del 2018] disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3619/Avila%20Parrera%20Anderson%20Gianfranco.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

8. Tovar G. Actividad antimicrobiana de la Stevia en comparación con Xilitol, frente a *Streptococcus mutans*, estudio in vitro [Investigación en internet] Cuenca - 2016 [última visita 04 de abril del 2021] disponible en: <https://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/134>

9. Juca A. Evaluación del efecto Antimicrobiano de extracto de *Stevia rebaudiana* [tesis] 2016 [Última visita 01 octubre del 2018] disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/6044/1/UDLA-EC-TOD-2016-83.pdf>

10. Chilaca G, Cava C. Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de *Stevia rebaudiana* contra la *Candida albicans* [Tesis internet] sucre. 2011-2012 [Última visita 24 septiembre del 2018] disponible en:

http://www.ecorfan.org/bolivia/series/Topicos%20Selectos%20de%20Quimica_I/Articulo%209.pdf

11. García L. Efecto Antimicótico De Extractos Seco Y Acuoso De Tres Variedades De *Stevia rebaudiana Bertoni* Adaptadas Agronómicamente [Tesis internet] Cajamarca. 2018 [Última visita 24 de septiembre del 2019] disponible en: <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/2476>

12. Branez K. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Stevia rebaudiana* sobre *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguinis*, bacterias iniciadoras en la formación de biofilm dental [Tesis internet] Lima - 2017 [Última visita 04 de abril del 2021] disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/6575/Bra%C3%B1ez_rk.pdf?sequence=1&isAllowed=y

13. Pérez S. Efecto Antibacteriano In Vitro Del Extracto Etanólico De *Stevia Rebaudiana* Sobre *Streptococcus Mutans* Atcc 25175 [Tesis internet] Trujillo -2013 [Última visita 05 abril 2021] disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/596>

14. Huerta, J. Efectividad antimicrobiana del aloe vera sobre *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Candida albicans* (ATCC 24433) y *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), La Libertad, Trujillo, 2017 (Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista). Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Sede Central; 2019.

15. Robbins y Cotran. *Patología Estructural Y Funcional* 9^{na} Ed. Madrid. ELSEVIER;2015.
16. Microbiología y Parasitología. *Candida albicans*. [Página en internet] 2012 [Última visita 03 octubre del 2018] disponible en: <http://grupoenfermeriaunpa.blogspot.com/2012/05/candida-candida-albicas-caracteristicas.html>
17. ELSEVIER. Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica [Artículo online] 2013, Vol. 31. Núm. 6. páginas 355-420 [Última visita 03 octubre del 2018] disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-candida-epidemiologia-factores-riesgo-especies-S0213005X12003229>
18. Cawson R, Odell E. *Cawson Fundamentos De Medicina y Patología Oral*. 8^{va} Ed. Barcelona. ELSEVIER. 2009.
19. Vademecum. Nistatina [Internet] 2014: Argentina [Última visita 03 octubre Del 2018] disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/n026.htm>
20. Tripathi. *Farmacología En Odontología Fundamental*, 1^{era} Ed. Buenos aires. Medica panamericana. 2008. 528 p.
21. Bravo M. Ale N, Rivera D, Huamán J, Delmas D. Caracterización química de la *Stevia rebaudiana* [Artículo internet] 2009 [Último acceso 04 de abril del 2021] disponible en: <https://albarello.es/wp-content/uploads/stevia-rebaudina.pdf>

22. Duran S, Rodríguez M. *Stevia rebaudiana*, edulcorante natural y no calórico [Revista internet] 2012 [Última visita 05 octubre del 2018] disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v39n4/art15.pdf>
23. Garcia V. Agentes inmunomoduladores (Supresores y estimulantes). [Página online] [Última visita 05 octubre del 2018] disponible en: http://www.med-informatica.net/TERAPEUTICASTAR/Inmunomoduladores_SupresoresEstimulantes_e TablerosFICHA11_SUB6.pdf
24. Osorio C. Stevia el dulce sabor. [Artículo internet] Bogotá; 2007 [última visita 05 octubre del 2018] disponible en: http://delrio.dcccd.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab_manual/KB_antibiotic.pdf
25. James J. Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method [art. Online] Vol. 3, N o. 2 Copyright © 1 9 7 3, Institute for Clinical Science [Última visita 08 octubre del 2018] disponible en: <http://www.annclinlabsci.org/content/3/2/135.full.pdf>
26. Malbran C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por diffusion [Artículo internet] [Última visita 10 octubre del 2018] disponible en: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02 METODO_DE_DETERMINACION_DE_SENSIBILIDAD_ANTIMICROBIANA_POR_DIFUSION_2012.pdf



27. Antibiograma de Discos. normalización del método de Kirby Bauer [Artículo internet] [Última visita 12 octubre del 2018] disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/viewFile/1891/1917>
28. Atocha E, Montenegro E, Pineda Z, Jara J, Miller C. Investigación cuantitativa.[Diapositivas online] 2015 [Última visita 14 octubre del 2018] disponible en: <https://slideplayer.es/slide/5403191/>
29. Debolb B. La investigación experimental. [Artículo online] 2007 [Última visita 18 octubre del 2018] disponible en: <https://noemagico.blogia.com/2006/092201-la-investigaci-n-experimental.php>
30. Metodología de la investigación [Página en internet] 2012 [Última visita 20 de octubre del 2018] disponible en: <http://metodologiainvestigacionunadpitalito.blogspot.com/2012/11/quedistingue-los-estudios.html>
31. Hurtado J. Metodología de la investigación [Página internet] 2015 [Última visita 03 de abril del 2021] disponible en: <http://elmundodelametodologia19.blogspot.com/2016/01/tipos-de-investigacion.html>
32. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadística; 2015.

33. Morillo J, Balceca M. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro [Articulo internet] 2018 [citado el 04 de mayo del 2021] disponible en: file:///C:/Users/core%20i3/Downloads/Dialnet-EficaciaInhibitoriaDelAceiteEsencialDeCymbopogonCi-6788001%20(3).pdf

34. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la Investigación. Perú. [Internet] 2016 [Citado el 21 de junio del 2019] disponible en:<https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v002.pdf>

ANEXO 01

Carta de presentación



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLÓGIA

"Año de la Lucha contra la Corrupción e Impunidad"

Chimbote, 05 de Mayo del 2019

CARTA N° 018-2019- DIR-EPOD-FCCS-ULADECH Católica

Sr.:

Mg. Q.F Edison Vázquez Corales
Jefe Laboratorio de Química de la Escuela de Farmacia y Bioquímica
ULADECH Católica
Presente.

A través del presente, reciba Ud. el cordial saludo en nombre de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, en esta ocasión en mi calidad de director de la Escuela Profesional de Odontología, para solicitarle lo siguiente:

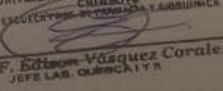
En cumplimiento del Plan Curricular del programa de Odontología, la estudiante viene desarrollando la asignatura de Tesis II, a través de un trabajo de investigación denominado **VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO DE STEVIA REBAUDIANA EN COMPARACIÓN CON NISTATINA FRENTE A LA CÁNDIDA ALBICANS, CHIMBOTE, 2019.**

Para ejecutar su investigación, la alumna ha seleccionado la institución que Ud. dirige, por lo cual, solicito brindarle las facilidades del caso al estudiante: **Cunza Laurante Ketty Yesenia**; a fin de realizar el presente trabajo.

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

Atentamente;


Mg. C.D. Wilfredo Ramos Torres
DIRECTOR


Mg. Q.F. Edison Vázquez Corales
JEFE LAB. QUÍMICA Y B



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

ANEXO 02: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

**VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL
EXTRACTO DE *Stevia rebaudiana* EN COMPARACIÓN CON NISTATINA
FRENTE A *Candida albicans*, CHIMBOTE, 2019.**

Autora: Cunza Laurente Ketty Yesenia

Fecha:/...../.....

Muestra	Halos de inhibición formados en mm dentro de 48 horas		
	Stevia rebaudiana al 30%	Control + Nistatina 100.000 UI/ml	Control - Agua destilada
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

ANEXO 03

Constancia de colaboración ULADECH



UNIVERSIDAD CATÓLICA
LOS ANGELES DE CHIMBOTE
ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA
Chimbote, 15 de mayo del 2019

CONSTANCIA DE COLABORACIÓN



Yo, Ormeño Llanos Mily, jefe de práctica de la asignatura de Farmacognosia Y Fitoquímica, de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote, con número de colegatura N° 20449.

Mediante la presente dejo constancia de haber colaborado en la preparación del extracto de *Stevia rebaudiana*, en el laboratorio de Química 1 de la Facultad de ciencias de la salud, escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Los Angeles de Chimbote, a la alumna CUNZA LAURENTE KETTY YESENIA, identificado con DNI: 77463717, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote. Asimismo, la concentración del ensayo preparado, será utilizada para la ejecución de la tesis titulada: "VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO DE *Stevia rebaudiana* EN COMPARACIÓN CON NISTATINA FRENTE A *Candida albicans*, CHIMBOTE, 2019".


M.F. Mily Ormeño Llanos
CQFP - 20449

ANEXO 04

Constancia de colaboración UNS

	UNS UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA	UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA FACULTAD DE BIOTECNOLOGÍA
CHIMBOTE, 23 de mayo del 2019		
<u>CONSTANCIA DE ASESORÍA</u>		
Yo, Angeles Angulo André Alexis, Analista de laboratorio de la escuela profesional de Biotecnología de la Universidad Nacional Del Santa.		
Expido constancia de haber asesorado a la alumna CUNZA LAURENTE KETTY YESENIA, en las actividades microbiológicas tales como; activación de la cepa, siembra de cultivos, enfrentamiento microbiológico y toma de medidas en los halos de inhibición, en el laboratorio de investigación en biotecnología de la Universidad Nacional Del Santa para el desarrollo de la tesis titulada "VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO DE <i>Stevia rebaudiana</i> EN COMPARACIÓN CON NISTATINA FRENTE A <i>Candida albicans</i> , CHIMBOTE, 2019" para los fines que ella crea conveniente.		
Atentamente,		
 Bach. Alexis André Angeles Angulo DNI 72221963		



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

ANEXO 05

PRUEBA DE NORMALIDAD



Al tener menos de 50 datos, es recomendable usar la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($n \leq 50$), para evaluar la distribución normal de los datos.

Criterio para determinar Normalidad:

- ✓ P-valor $\geq 0,05$ Aceptar H_0 = Los datos provienen de una distribución normal.
- ✓ P-valor $< 0,05$ Aceptar H_i = Los datos provienen de una distribución anormal.

Prueba de normalidad, Valoración in vitro de la actividad antimicótica del extracto de *Stevia rebaudiana* en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, Chimbote, 2019.

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Stevia rebaudiana al 30%	0.853	10	0.062
Nistatina	0.911	10	0.287

se observa que los grupos tienen una significancia mayor a 0.05 ($p > 0.05$). Con lo expuesto podemos concluir que los datos representan una distribución normal, lo que permite aceptar H_0 .



CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Este apartado corresponde a la parte esencial y relevante de la investigación que inició con un supuesto hipotético que se tradujo en instrumentos de medición para corroborarlo o rechazarlo. Se utilizó la prueba KRUSKALL WALLIS, con un nivel de significancia ($p < 0.05$).

1. Planteamiento de la hipótesis

H₀: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*.

H₁: El extracto etanólico de *Stevia rebaudiana* al 30%, presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina frente a *Candida albicans*.

2. Nivel de confianza

El nivel de confianza es del 95%, por consiguientemente, el nivel de significancia será 5% (0.05) el cual será el valor estándar y en base a ello se determinará si se acepta o no la hipótesis de la investigación.

Actividad antimicótica, in vitro, del extracto de *Stevia rebaudiana*, al 30%, en comparación con Nistatina frente a *Candida albicans*, Chimbote, 2019.

Variables de Estudio	inhibición <i>Candida albicans</i>	%	Actividad antimicótica	Sig.(p)*
<i>Stevia rebaudiana</i> 30%	11 mm	33,22	SI PRESENTA	0.437
<i>Nistatina</i>	21 mm	66,78	SI PRESENTA	

Fuente: Ficha de recolección de datos

P* prueba KRUSKALL WALLIS, con nivel de significancia ($p < 0.05$)

aplicando la prueba no paramétrica de diferencia de medias KRUSKALL WALLIS, se obtuvo ($p = 0.437 > 0.05$), de lo cual podemos indicar que no existe variación de medias entre los grupos analizados. Es decir, estadísticamente la *Stevia rebaudiana* no presenta mayor efecto antimicótico que la Nistatina, por lo tanto, se acepta el H_0 y se rechaza la H_i .

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Stevia rebaudiana</i> al 30% es la misma entre las categorías de Muestras de placas Petri.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,437	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Nistatina es la misma entre las categorías de Muestras de placas Petri.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,437	Retener la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

Stevia rebaudiana al 30%

N total	10
Estadístico de contraste	9,000
Grados de libertad	9
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,437

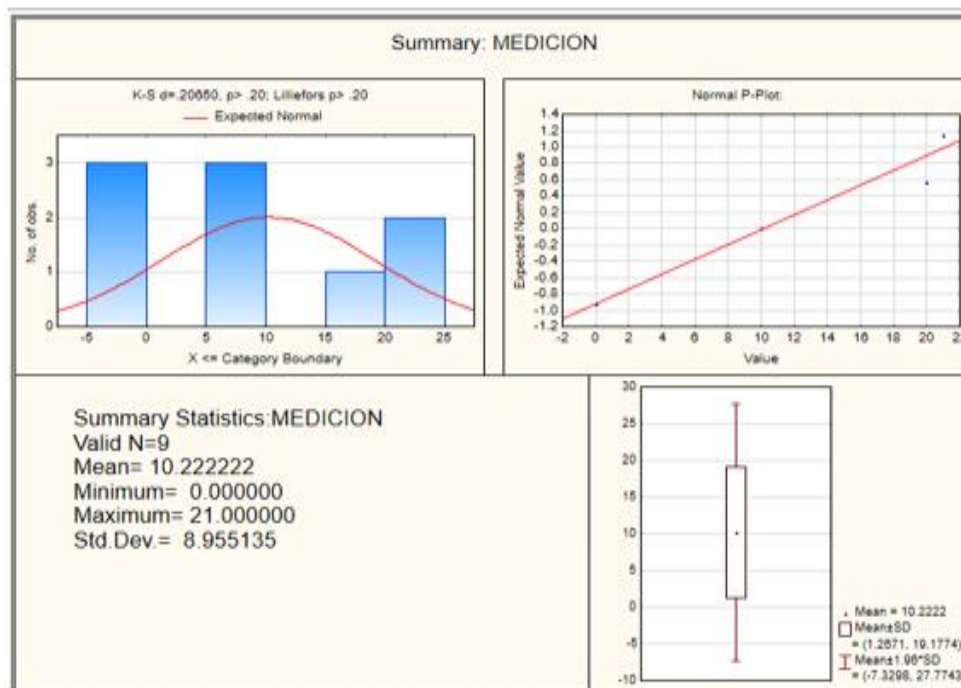
1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.
2. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.

Nistatina

N total	10
Estadístico de contraste	9,000
Grados de libertad	9
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,437

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.
2. No se realizan múltiples comparaciones porque la prueba global no muestra diferencias significativas en las muestras.

Valores maximos y minimos



ANEXO 07

Fotografías del procedimiento

Elaboración del extracto de *Stevia rebaudiana*.



1. Se colocó 110g de *Stevia rebaudiana* a la estufa por 30 minutos a 45° y se retiró a las 24 horas.
2. Se obtuvo la muestra seca de *Stevia rebaudiana*.



3. Se licuó toda la muestra, hasta obtenerla en polvo.



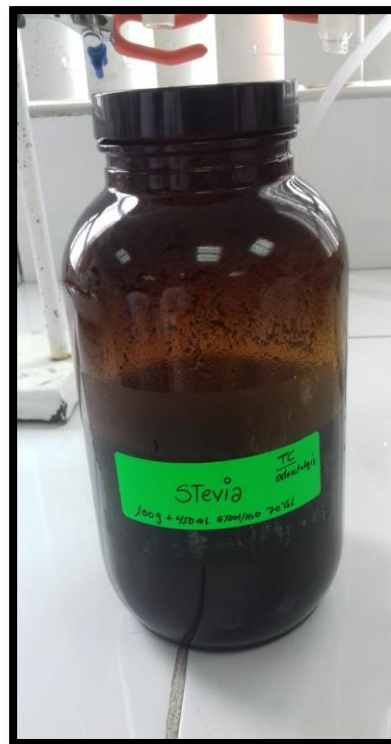
4. Método de percolación simple para la eliminación de impurezas en el polvo.



5. Fiola aforada con alcohol al 70% y *Stevia rebaudiana* en polvo.



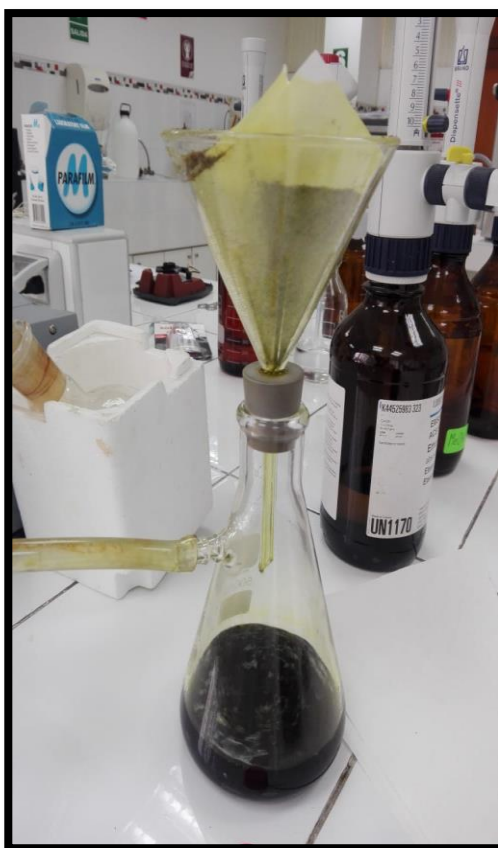
6. Se pesó 100 g de *Stevia rebaudiana*



7. Se añade el alcohol + los 100g de *Stevia* en polvo
y se dejó macerar por una semana.



8. Después se realizó el proceso de filtrado. Antes de ello se colocó el extracto en el rotavapor, para extraer mediante evaporación el disolvente.



9. Se obtuvo el extracto etanólico por el método de filtración simple.

Se realizó la Determinación de solidos solubles

Donde se tuvo:

1ml de extracto \rightarrow 0.3284 g

Entonces:

1ml de extracto \rightarrow 328.4 mg de solidos solubles.

AGAR SABOURAUD GLUCOSADO \rightarrow Determinación

65g \rightarrow 100ml

X \rightarrow 200ml

$$X = \frac{200\text{ml} \times 65\text{g}}{1000\text{ml}} = 13\text{g}$$

CALCULO DE SOLUCION

Stevia rebaudiana al 30%

5ml \rightarrow 100%

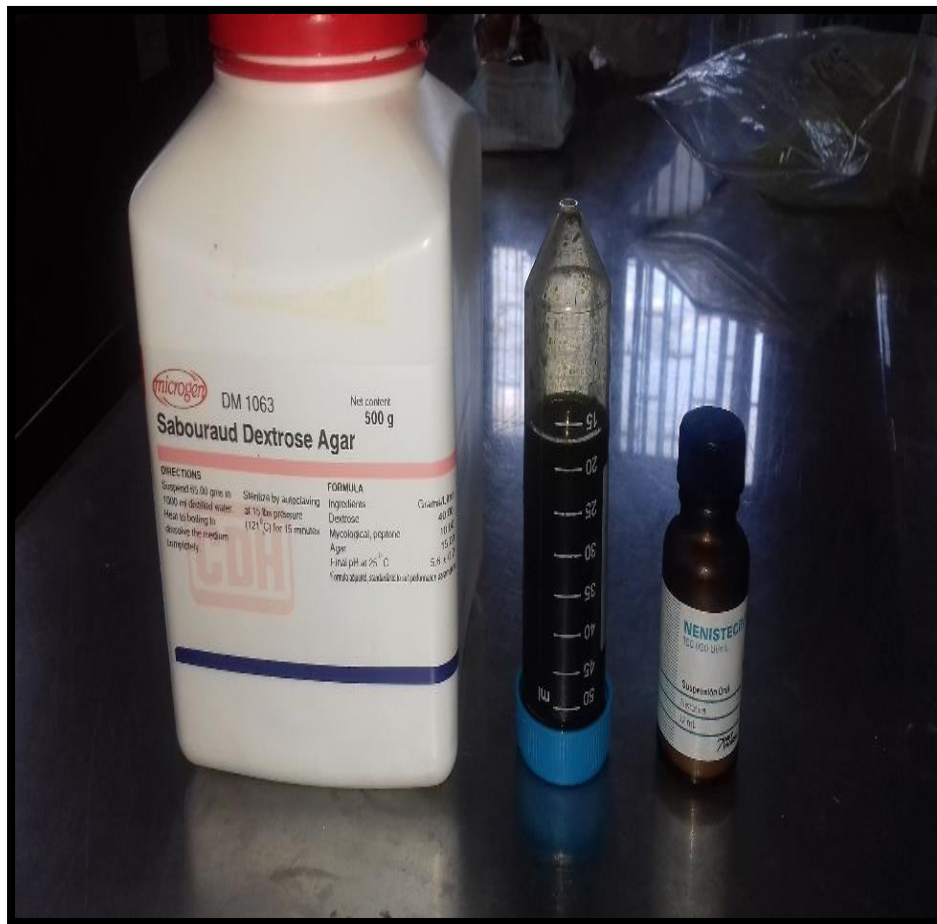
X \rightarrow 30%

$$\frac{5\text{ml} \times 30\%}{100\%} = 1.5\text{g}$$

1ml \rightarrow 0.3284g

X \rightarrow 1.5g

x = 4.5676 ml (se afora a 5ml)



1. **AGAR SABOURAUD DEXTROSA**
2. **EXTRACTO DE STEVIA REBAUDIANA AL 30%**
3. **NISTATINA (ANTIMICÓTICO) EN
SUSPENSION 100.000 UI/mL**

SIEMBRA DE AGAR SABOURAUD GLUCOSADO

(Procedimiento microbiológico)



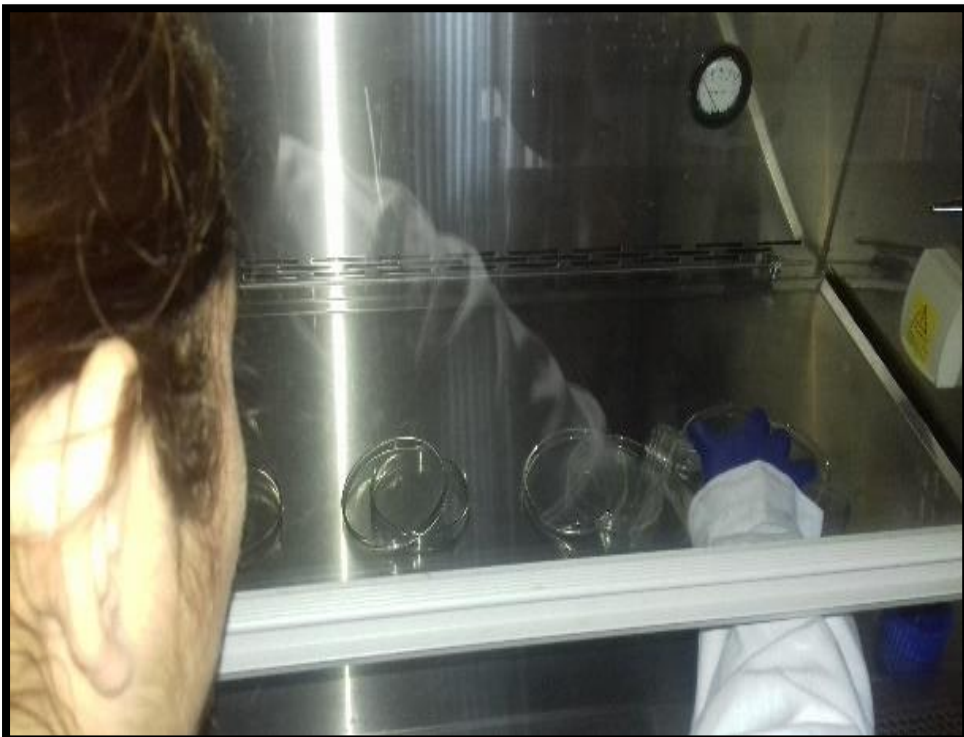
1. Se procedió a pesar 13g de agar en la balanza analítica.



2. Después se diluyo en 200ml de agua destilada, La dilución se llevó al Hot plate a 320° para diluir el medio de cultivo.

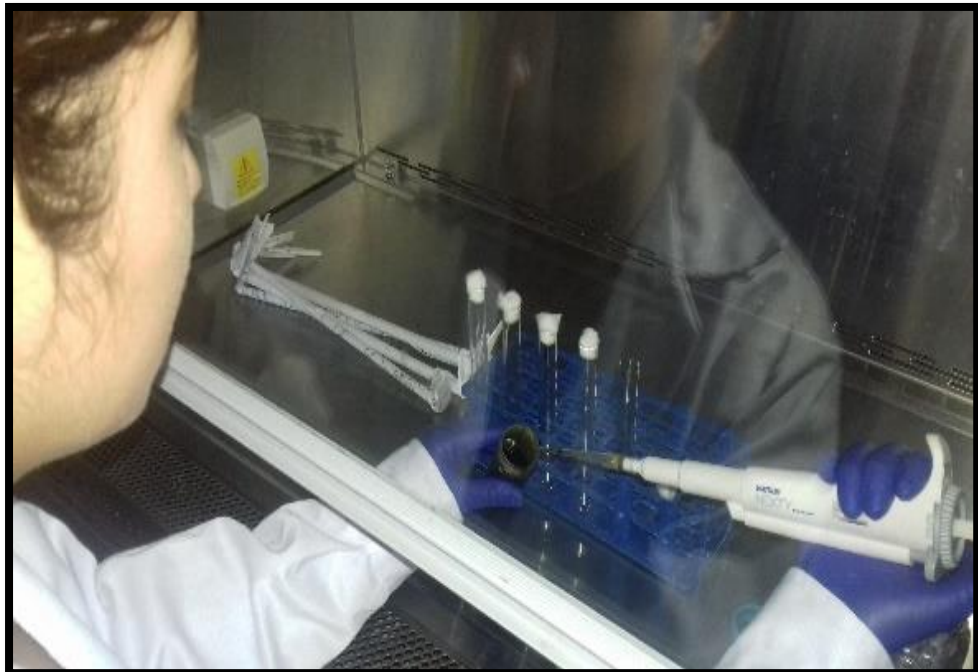


3. Luego Se llevó a la autoclave para esterilizarlos, esto a 121° x 15 minutos.





4. Después de retirar de la autoclave, se vierte el Agar en placas Petri esto se realiza dentro de la cámara de flujo laminar (previamente la cámara se desinfecto con rayos UV x 15 minutos)

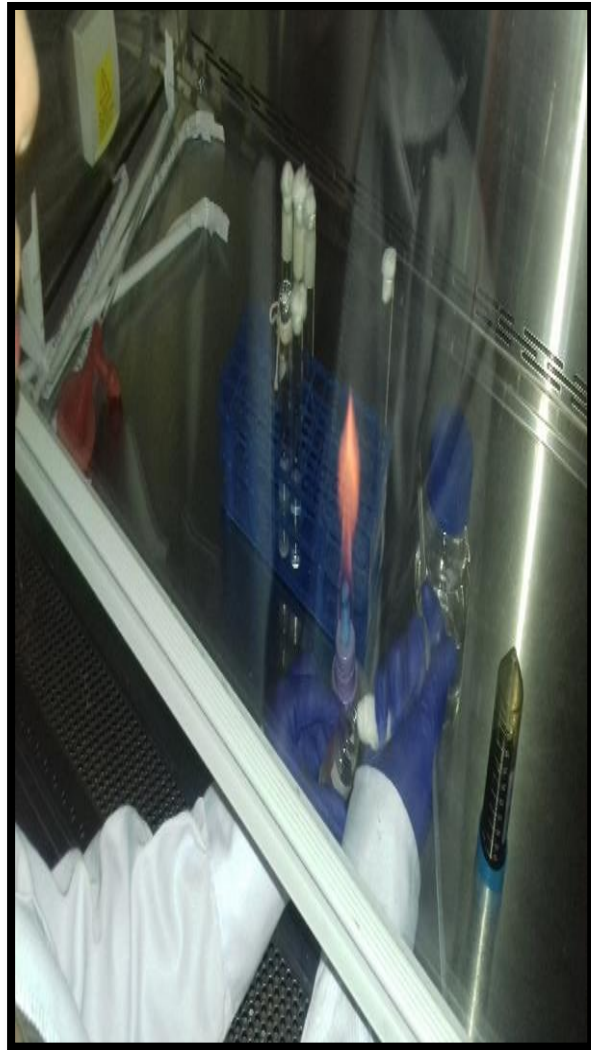
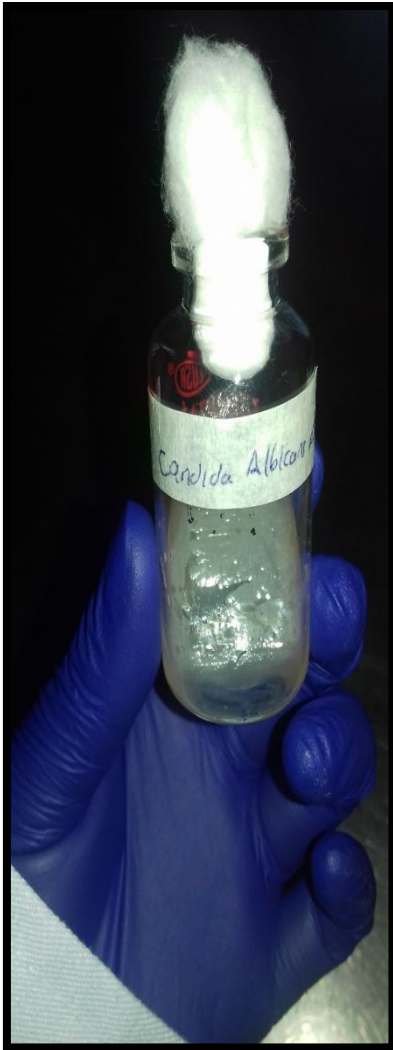


5. Luego se colocó la solución de *Stevia rebudian* en la cámara de flujo laminar para su desinfección con rayos UV así mismo con las pipetas y tubos de ensayo.



6. Se realizó las preparaciones de solución al 30% con la ayuda de la pipeta y micro pipeta. Posterior a ello, se rotularon las soluciones.

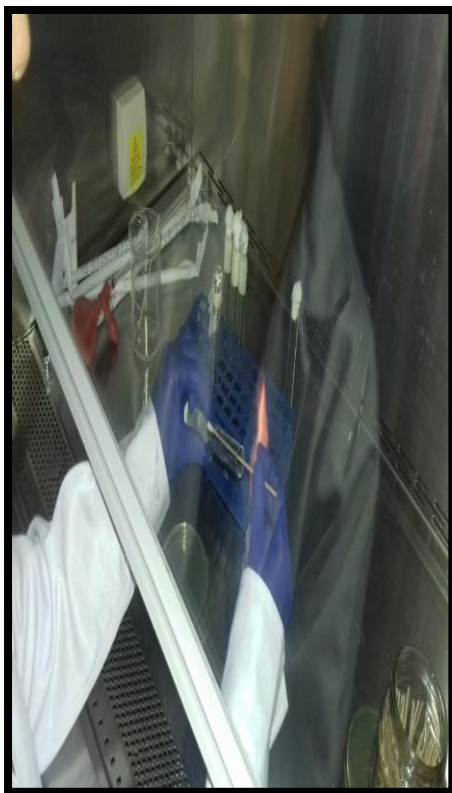
SIEMBRA DE CANDIDA ALBICANS



1. En un tubo de ensayo con 10ml de solución salina y el tubo de McFarland N1 se realizó el raspado del medio de cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231 y se diluye el tubo con solución salina hasta tener el mismo grado de turbidez del tubo N° 1 McFarland.

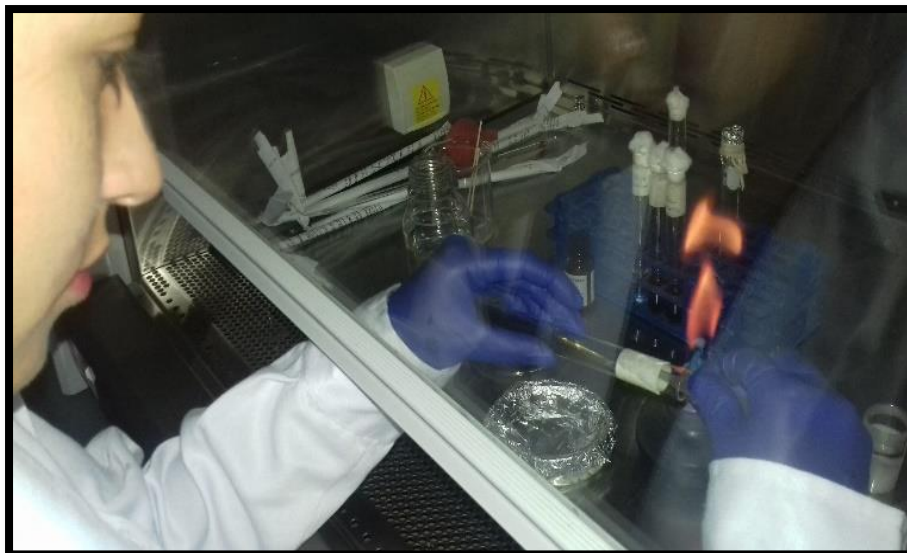


Turbidez McFarland

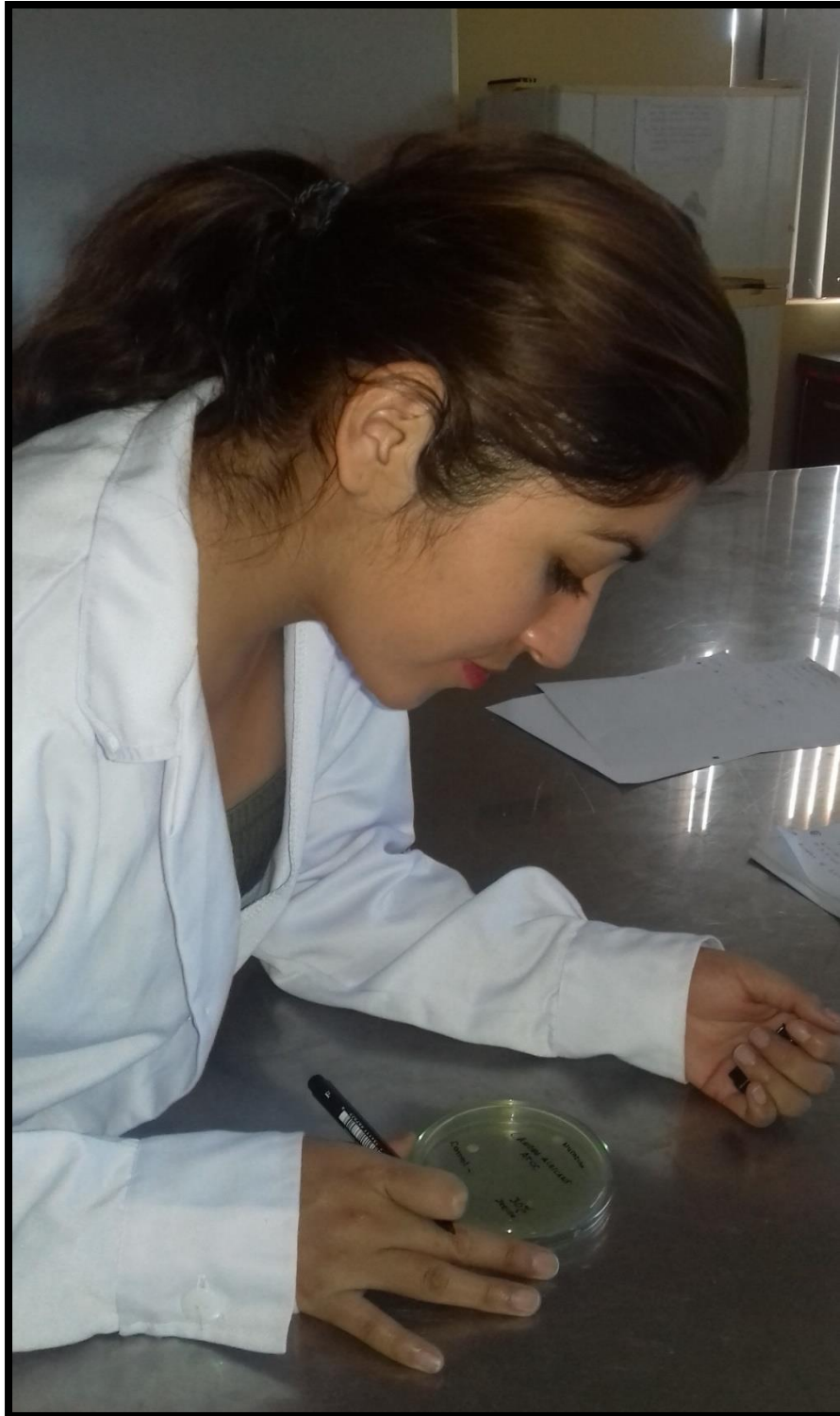


2. Con los hisopos estériles se realizó la siembra por extensión de placa y se descarga los hisopos usando una solución de hipoclorito de sodio al 5%.

COLOCACIÓN DE DISCOS EN EL CULTIVO



1. Se realizó la colocación de los discos con la ayuda de una pinza estéril, se embebe cada disco con cada solución y se llevó a la placa Petri con el agar.



2. Se rotuló cada solución con Stevia rebaudiana, Nistatina y agua destilada y se deja incubar por el transcurso de 48 horas.

LECTURA DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN

METODO KIRBY-BAUER



Halo de inhibición
máxima de la
Stevia rebaudiana
al 30%

Halo de inhibición
máxima de la
Nistatina como
control (+)



Halo de inhibición
máxima del agua
destilada como control (-)

MUESTRAS DE TODAS LAS PLACAS PETRI

