



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

Título

Efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de
Hedyosmum luteynii Todzia.

**Trabajo de Titulación para optar al título de Licenciada en
Laboratorio Clínico e Histopatológico.**

Autor:

Soria Pilco Johanna Gissela

Tutor:

PhD. María Eugenia Lucena de Ustáriz

Riobamba, Ecuador. 2022

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, Johanna Gissela Soria Pilco, con cédula de ciudadanía 060583406-8, autora del trabajo de investigación titulado: **Efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autora de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 09 de mayo del 2023.



Johanna Gissela Soria Pilco

C.C: 060583406-8

DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL;

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum lutey nii* Todzia, presentado por Johanna Gissela Soria Pilco, con cédula de ciudadanía número 060583406-8, certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba 09 de mayo del 2023.

Mgs. Yisela Carolina Ramos Campi

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



Mgs. Aida Mercedes Balladares Saltos

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



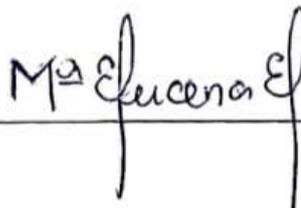
Mgs. Félix Atair Falconí Ontaneda

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



PhD. María Eugenia Lucena de Ustáriz

TUTOR





Dirección
Académica
VICERRECTORADO ACADÉMICO

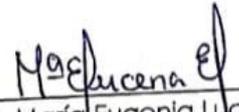
en movimiento

SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD
UNACH-RGF-01-04-02.20
VERSIÓN 02: 06-09-2021

CERTIFICACIÓN

Que, **Sorja Pilco Johanna Gissela** con CC: **060583406-8** estudiante de la Carrera **Laboratorio Clínico e Histopatológico, NO VIGENTE**, Facultad de **Ciencias de la Salud**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "**Efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia**", cumple con el 9 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **URKUND**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 04 mayo de 2023


PhD. María Eugenia Lucena de Ustáriz
TUTORA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

Esta investigación está dedicada con todo mi corazón a mi madre Edyth Pilco quien ha sido el pilar fundamental durante toda mi vida pues es mi claro ejemplo de superación pues nunca se ha limitado y ha logrado sacarnos adelante a sus hijos.

Ella es mi inspiración estada siempre a mi lado brindándome su apoyo que por su sacrificio y esfuerzo ha hecho todo lo posible sin su amor, su paciencia y su apoyo no hubiera culminado con éxito una más de mis metas trazadas.

A mi hermano Marco Barrionuevo que es mi ejemplo a seguir, mi amor y aprecio es tan grande puesto a que nos criamos juntos y cuidábamos el uno del otro mientras mama trabajaba.

A mis Abuelitos quienes con su humildad y sabiduría han despertado en mí siempre las ganas de seguir superándome.

Soria Pilco Johnna Gissela.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer principalmente a Dios quien es mi compañía, guía y fortaleza, pues ha estado conmigo de manera permanente y me ha permitido culminar esta gran etapa con éxito, gracias por estar conmigo en todo momento y regalarme una familia espectacular.

Agradezco además a mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A Sebastian Miranda mi amor y amigo leal, gracias por apoyarme, escucharme, animarme y sobre todo por creer en mí. Este logro es también suyo ha sido mi mano derecha mi inspiración, mi alegría y mi ayuda constante.

A la Universidad Nacional de Chimborazo por haberme abierto las puertas a esta noble institución y así permitirme cumplir mi anhelo de ser profesional y servir a la sociedad.

A mis docentes que me han impartido sus conocimientos y fueron parte de este largo proceso de aprendizaje, por infundir todos sus conocimientos y el tiempo brindado, en especial a la PhD. María Eugenia Lucena por el tiempo y esfuerzo brindados en la culminación de este proyecto esperando que Dios le llene de sabiduría y bendiciones en su vida.

Soria Pilco Johanna Gissela.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCION.....	15
OBJETIVOS	19
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	20
Medicina Ancestral y alternativa en el Ecuador.....	20
Plantas medicinales.....	20
Familia Chloranthaceae	20
Taxonomía.....	21
<i>Hedyosmum luteynii</i> Todzia	21
Aceites esenciales	23
Proceso de extracción de aceites esenciales.	23
Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.....	24
Características generales de <i>Candida</i>	24
Epidemiología.....	25
<i>Cándida glabrata</i>	25
<i>Cándida tropicalis</i>	26
<i>Cándida krusei</i>	26
<i>Cándida parapsilosis</i>	26
Diagnóstico de Laboratorio	27
Examen Directo (KOH).....	27
Coloración	27
Tinción con azul de metileno.....	28

Cultivos.....	29
Pruebas Inmunológicas.....	29
Métodos moleculares.....	29
Tratamiento de candidiasis	29
Fluconazol	30
Resistencia.....	30
Tipos de resistencia microbiana:	30
Resistencia a los antibióticos.....	31
<i>Trichosporon</i> sp.....	32
<i>Cryptococcus</i> sp.....	32
<i>Rhodotorula</i> sp.	32
Pruebas de sensibilidad.....	33
Difusión en agar (Técnica de Kirby & Bauer)	34
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	35
Tipo de la investigación.....	35
Material biológico.....	35
Variables de estudio.....	36
Métodos de estudio.....	36
Extracción del aceite esencial de <i>Hedyosmum luteynii</i> Todzia.	37
Aceite esencial puro y diluciones	37
Preparación Agar sabouraud.....	37
Preparación Agar Mueller Hinton Suplementado	38
Replicación de cepas, preparación de Pre-inoculo.	38

Preparación del inóculo	38
Siembra e impregnación de discos con las diferentes concentraciones del aceite esencial por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).	39
Pre- incubación, Incubación, Análisis de los resultados.	39
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
Extracción del aceite esencial de <i>Hedyosmum luteynii</i> Todzia.	40
Actividad Antimicótica del Aceite Esencial.....	40
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54
CONCLUSIONES.....	54
RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	56
ANEXOS	66

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Taxonomía del género <i>Hedyosmum</i>	21
Tabla 2. Actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia en la especie <i>Candida Albicans</i> y <i>Candida glabrata</i>	41
Tabla 3. Actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia en la especie <i>Candida tropicalis</i> y <i>Candida parapsilosis</i>	44
Tabla 4. Actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia en la especie <i>Candida krusei</i> y <i>Rhodotorula</i>	47
Tabla 5. Actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia frente a la especie <i>Trichosporon</i> sp. y <i>Cryptococcus</i> sp.	50
Tabla 6. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).	52

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Muestra de las partes aéreas (hojas) de la planta <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia. .	22
Figura 2. Ubicación del lugar de recolección de <i>Hedyosmum luteynii</i> Todzia (Bosque Jacarón) Cantón Colta provincia de Chimborazo.....	22
Figura 3. Observación microscópica 100x coloración Gram en muestras vaginales.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Materiales	67
Anexo 2. Equipos.	67
Anexo 3. Agares, solventes, entre otros.	67
Anexo 4. Extracción del aceite.....	68
Anexo 5. Diluciones del Aceite.....	68
Anexo 6. Preparación de Agar Mueller Hilton Suplementado.....	69
Anexo 7. Patrón McFarland.	69
Anexo 8. Impregnación de discos.	70
Anexo 9. Halos de Inhibición.....	70
Anexo 10. <i>Hedyosmun luteynii</i> Todzia.	72
Anexo 11. Autorización para la recolección de <i>Hedyosmun luteynii</i> Todzia.	73

RESUMEN

Hedyosmun luteynii Todzia o Sambuel pertenece a la familia Chloranthaceae es un árbol de 3-16 metros de altura posee hojas, flores de color verde brillante y frutos de color negro. El objetivo de este trabajo de investigación fue determinar el efecto antimicótico del aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia que fue recolectada en el bosque natural Jacarón ubicado en la provincia de Chimborazo, Cantón Colta en Ecuador, frente a 8 levaduras las cuales fueron *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*, *Trichosporon* sp., *Cryptococcus* sp. y *Rhodotorula* sp. Esta investigación fue descriptiva, cuasi-experimental, de corte transversal carácter mixto. El aceite esencial fue extraído mediante hidrodestilación usando la trampa de Clevenger, a partir de 2000 g de materia prima se obtuvieron 5 ml de aceite esencial con un rendimiento de 0.25 % mediante el método Kirby-Bauer se determinó la actividad antimicótica de las 8 levaduras estudiadas. Los resultados fueron interpretados mediante la observación y medición de los halos de inhibición. Se realizó los ensayos empleando el aceite puro y concentraciones desde 1.0 hasta 0.007 g/mL, se incluyen controles positivos y negativos para confirmar que el ensayo es válido. Como resultado se puede observar que las levaduras presentan una gran sensibilidad frente al aceite esencial donde *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Trichosporon* sp., *Rhodotorula* sp. las levaduras más susceptibles con CMI de 0,062g/mL, seguidas de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* con CMI de 0,25 g/mL. Se concluye que el aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia resultó ser activo frente a las ocho levaduras empleadas en este estudio.

Palabras claves: Actividad antimicótica, Concentración mínima inhibitoria (CMI), *Hedyosmun Luteynii* Todzia, Sensibilidad.

ABSTRACT

Hedyosmun luteynii Todzia or Sambuel belongs to the Chloranthaceae family and is a tree 3-16 meters high with leaves, bright green flowers and black fruits. The objective of this research work was to determine the antifungal effect of the essential oil of *Hedyosmun luteynii* Todzia that was collected in the Jacarón natural forest located in the province of Chimborazo, Canton Colta in Ecuador, against 8 yeasts which were *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* and *C. krusei*, *Trichosporon* sp, *Cryptococcus* sp. and *Rhodotorula* sp. This research was descriptive, quasi-experimental, cross-sectional, mixed character. The essential oil was extracted by hydrodistillation using the Clevenger trap. From 2000 g of raw material, 5 ml of essential oil were obtained with a yield of 0.25 % using the Kirby-Bauer method and the antifungal activity of the 8 yeasts studied was determined. The results were interpreted by observation and measurement of the inhibition halos. The assays were performed using pure oil and concentrations from 1.0 to 0.007 g/mL, including positive and negative controls to confirm that the assay is valid. As a result it can be observed that yeasts show a high sensitivity to the essential oil where *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Trichosporon* sp., *Rhodotorula* sp. are the most susceptible yeasts with MIC of 0.062g/mL, followed by *C. glabrata*, *C. parapsilosis* with MIC of 0.25 g/mL. It is concluded that the essential oil of *Hedyosmun luteynii* Todzia was found to be active against the eight yeasts used in this study.

Key words: Antifungal activity, Minimum inhibitory concentration (MIC), *Hedyosmun Luteynii* Todzia, Sensitivity.



SANDRA LILIANA
ABARCA GARCIA

Reviewed by:

Lic. Sandra Abarca Mgs.

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 0601921505

CAPÍTULO I. INTRODUCCION.

Este proyecto de investigación tuvo como objetivo principal la evaluación del análisis del efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia frente a 8 levaduras las cuales fueron *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*, *Trichosporon. sp.*, *Cryptococcus sp.* y *Rhodotorula*. La resistencia a los antifúngicos se considera como un problema grave de salud en todo el mundo, las infecciones causadas por hongos consideradas como micosis afectan a cualquier tipo de tejido y son capaces de provocar cuadros clínicos graves o mortales, se observa un incremento importante de pacientes con micosis que no responden a los tratamientos, siendo el inadecuado uso de medicamentos para su manejo el factor principal que produce la resistencia¹.

El origen de la medicina natural y tradicional está ligada a la historia de la humanidad con la lucha por la supervivencia, la Organización Mundial de la Salud (OMS) conceptualiza a la medicina natural y tradicional a todas las practicas, creencias, enfoques y conocimientos que estén ligados a plantas, animales y terapias espirituales que tienen el fin de diagnosticar, tratar o prevenir enfermedades. Este tipo de prácticas son muy utilizadas en la actualidad debido a que resulta ser una alternativa accesible, efectiva y de bajo costo².

A inicios del siglo XX por el auge de avances científicos se incrementaron el uso de sustancias de síntesis lo que produjo un retroceso de la medicina natural y tradicional. Sin embargo, en la actualidad la importancia se evidencia debido al alto consumo de los productos para el manejo de las enfermedades³. El Ecuador posee gran biodiversidad con apenas el 2 % de la superficie de la tierra, este cuenta con almenos el 10 % de plantas existentes alrededor de todo el mundo, de las cuales se han reportado 5 172 especies de uso alimentico o medicinal, en la región de la sierra se han encontrado 2 430 especies aproximadamente y se encuentran tanto en cerros como en parques protegidos entre ellos podemos encontrar al cerro Teligote y al Bosque de Jacarón⁴.

El cerro Teligote es un lugar sagrado para los Salacas, un pueblo indígena que habita en la provincia de Tungurahua, cantón Pelileo y parroquia Salasaca, presenta gran cantidad de chamanes considerado como mediadores entre el cuerpo humano y la naturaleza ya que son personas con poder espiritual que utilizan plantas del cerro para tratar enfermedades comunes y realización de rituales tanto de curación como de ofrenda⁴. Mientras que el

Bosque de Jacarón está situado en la provincia de Chimborazo cantón Colta, alberga aproximadamente 34 especies identificadas como nativas y cubre una superficie de 106 hectáreas. Una de las plantas que podemos encontrar aquí es *Hedyosmum luteynii* Todzia⁵.

El uso milenario de sustancias vegetales con fines medicinales terapéuticos y antimicrobianos, ha llevado a investigar nuevas sustancias a partir de plantas consideradas popularmente como medicinales⁶. Este es el caso de la familia Chloranthaceae conformada por hierbas, arbustos y árboles perteneciente el género *Hedyosmum* presenta 16 especies endémica del bosque andino alto del sur del país, el centro de diversificación de este género es el centro de los Andes, donde se encuentra alrededor del 50% de sus especies. *Hedyosmum* crece principalmente en los bosques nublados entre 600 y 3 000 msnm⁴.

Sambuel o *Hedyosmum luteynii* Todzia es un árbol perteneciente a la familia Chloranthaceae de 3 a 16 metros de altura con un diámetro de 7 a 50 centímetros, posee hojas brillantes, flores verdes y frutos negros, esta especie es endémica de las cordilleras de Ecuador y Colombia. *Hedyosmum luteynii* Todzia representa una de las 40 especies encontradas y tiene un amplio uso en la medicina ancestral del Ecuador para el tratamiento de dolores abdominales, problema digestivos y reumatismo además presenta características de ser un gran antiséptico, afrodisíaco y diaforético⁴.

Los aceites esenciales, aceites volátiles o esencias son extractos vegetales concentrados, complejos, obtenido por destilación de semillas, cortezas, raíces, tallos, hojas, flores, frutos es decir se obtienen de la parte de la planta que contenga los principios activos, estas sustancias influyen en el sistema límbico que se encarga de la parte emocional del cerebro, el percibir el olor de los aceites el cuerpo genera tranquilidad, placer y alegría además actúan como mensajeros químicos logrando así interactuar las plantas con su entorno, estos aceites presentan propiedades medicinales eficaces en presencia a virus, hongos y gérmenes, los aceites se han utilizado desde la antigüedad en ceremonias y rituales⁷.

Muchos son los benéficos que aportan los aceites pues poseen características antioxidantes, vitaminas y minerales que ayudan aliviar dolores, libera la tensión, mejora la conciliación del sueño, combate el estrés entre otras propiedades⁸. Cada aceite esencial tiene su propiedad terapéutica específica se pueden utilizar de varias maneras, como son en aerosol con un difusor eléctrico o vaporizador para así propagar en el aire partículas muy finas de los aceites esenciales para beneficiarse de sus propiedades por vía respiratoria, cutánea y oral además

de que aromatizan el lugar y purifican el aire. Si se utilizan forma incorrecta pueden producir intoxicaciones⁹.

Las infecciones micóticas producidas por levaduras comensales del género *Candida* especialmente de *Candida albicans* que residen en las cavidades oral y vaginal, membranas mucosas y el tracto gastrointestinal es inofensiva en hospederos sanos, pero su patogenicidad incrementa en hospederos inmunocomprometidos¹⁰. Las especies más frecuentes de *Candida* que podemos encontrar son: *C. albicans*, *C. metapsilosis*, *C. lusitania*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. orthopsilosis*, *C. krusei* y *C. famata*¹¹.

La candidiasis es una infección producida por especies de *Candida* y con mayor frecuencia es producida por *Candida albicans* un hongo dimórfico que presenta hifas, pseudohifas y blastoconidias. La infección puede ser aguda, subaguda o crónica, afecta a las membranas mucosas, las uñas, los pulmones o los riñones además es causante de endocarditis, meningitis y sepsis. Estas levaduras están ampliamente distribuidas en el medio ambiente y afectan especialmente a pacientes con inmunosupresión por razones como infección VIH y neoplasias hematológicas, ocurre de forma secundaria ante tratamientos o prácticas como son cirugía mayor, terapia antiviral, injertos óseos y quimioterapia¹².

La candidiasis, también conocida como candidiasis vulvovaginal o CVV, es una infección fúngica común que ocurre cuando hay un crecimiento excesivo de *Candida*, la levadura está presente en el cuerpo en cantidades pequeñas, pero cuando se produce un desequilibrio hormonal o a su vez cambios del pH de la vagina, *Candida* tiende a multiplicarse. Cuando esto sucede, se produce la candidiasis vaginal que es la segunda causa principal de infección vaginal y afecta a mujeres de entre 20 y 40 años¹³.

El fondo de acción mundial para las infecciones por hongos (GAFFI) realizó un programa de estimación, que demuestra el número de personas infectadas por hongos a nivel mundial donde se incluyen 14 países y entre ellos está el Ecuador donde se ha demostrado que al menos el 3 % es decir 433 856 personas ecuatorianas pueden estar o tener una infección severa por hongos por ello se plantea que el Ecuador necesita trabajar en el diagnóstico y vigilancia de infecciones oportunistas¹⁴. Estudios realizados en el 2017 indican que las infecciones producidas por *Candida albicans* surgen cuando se ve disminuido el sistema

inmunología, siendo estas infecciones una de las más comunes en la provincia de Chimborazo¹⁵.

Encontramos que más del 70% de la población mundial todavía recurre a las plantas medicinales para solucionar problemas básicos de salud. La industria farmacéutica obtiene materias primas del reino vegetal, que son necesarias para producir el 30% de los fármacos, la medicina moderna a pesar de sus tremendos avances científicos y tecnológicos, también reconoce sus limitaciones para resolver muchos de los problemas de salud que aún aquejan a la humanidad. El elevado costo de la atención médica, la medicina y la necesidad de nuevas soluciones a los problemas de salud promueve a la investigación de las plantas medicinales y el uso prudente de las mismas¹⁶.

Por lo tanto tomando en cuenta las consideraciones anteriores se plantea la siguiente ¿Presenta actividad antimicótica el aceite esencial de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia, frente a las especies de estudio de hongos levaduriformes?, este estudio podría ayudarnos en la identificación de compuestos con actividad biológica presentes en el aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia, que serían fuente de nuevos fármacos para el tratamiento de distintas enfermedades producidas por las especies de estudio.

OBJETIVOS

General

- Evaluar la actividad antimicótica del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia.

Específicos

- Extraer el aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia por el método de hidrodestilación para determinar su actividad antimicótica.
- Analizar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia frente a diferentes especies de hongos levaduriformes mediante la técnica de Kirby Bauer.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* frente a las especies que presente susceptibilidad al mismo.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.

Medicina Ancestral y alternativa en el Ecuador.

El Ecuador posee una gran biodiversidad de plantas medicinales que han sido utilizadas desde tiempos inmemoriales y se ha transmitido por generaciones hasta la actualidad, para el alivio y tratamiento de varias dolencias y enfermedades como los dolores de cabeza, dolores estomacales y dolores articulares, la medicina ancestral en la sociedad sigue siendo utilizada en la actualidad ya que es económica e invasiva. La medicina natural se aplica después de un diagnóstico médico, la naturopatía o medicina natural busca fortalecer el organismo humano y mejorar su calidad de vida, inicia con el análisis del estado de salud del paciente y su entorno para la determinación del origen de la dolencia o patología¹⁶.

La medicina alternativa en el Ecuador se clasifica en dos grandes grupos el primero está conformado por médicos con especialidades en Homeopatía, Terapia neutral y Acupuntura mientras que el segundo grupo de terapias alternativas están conformadas por la Terapia floral, la Naturopatía, la Fitoterapia incluidas otras técnicas. La Asociación de Profesionales Neurópatas del Ecuador (APNE) es una organización que busca la aceptación de las prácticas alternativas médicas, han logrado ya la normalización de la medicina alternativa por parte del Ministerio de Salud Pública (MSP) y buscan la regularización en todos los consultorios y centros terapéuticos¹⁷.

Plantas medicinales

El Ecuador cuenta con un 10% de todas las plantas existentes a nivel mundial, de ellas 2 900 son de uso medicinal, entre las más utilizadas encontramos a la sangre de drago, el barbasco y achiote que son utilizados como antimicóticos, la chonta, el chuchuwasu y el floripondio que son utilizados para el tratamiento de espanto mal aire y el mal de ojo, mientras que la uña de gato, la dulcamara, el ají y la uva de monte se utilizan para el tratamiento de enfermedades cancerígenas, por último encontramos a la canela, el chuchuwasu y el pitón que actúan como analgésicos. Las plantas medicinales para el tratamiento se pueden consumir en infusiones, baños corporales, jugos, compresas o emplastos¹⁸.

Familia Chloranthaceae

Chloranthaceae es una familia de árboles y arbustos nativos del sur de las regiones templadas y los trópicos, presenta cuatro géneros, *Chloranthus*, *Ascarina*, *Hedyosmum* y *Sarcandra*. El

género más estudiado por sus propiedades biológicas es el *Hedyosmum*. Esta familia está constituida por 75 especies aproximadamente cuyo ascendiente genético común es una flor fosilizada similar a *Hedyosmum*¹⁹.

Taxonomía

Tabla 1. Taxonomía del género *Hedyosmum*.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Chloranthales
Familia:	Chloranthaceae
Género:	<i>Hedyosmum</i>
Especie:	<i>Luteynii</i> Todzia

Fuente: SiB Colombia ²⁰.

Las especies de *Hedyosmum* tiene una larga trayectoria en la historia por su uso como medicina tradicional por sus propiedades biológicas farmacológicas comprobadas científicamente¹⁹.

Hedyosmum luteynii Todzia

Hedyosmum luteynii Todzia (Chloranthaceae) o Sambuel es un árbol de 3 – 16 metros de altura, y un diámetro de 7-50 centímetros poses flores verdes, carente de estambres o carpelos, hojas brillantes y aromáticas con frutos negros. *Hedyosmum luteynii* es endémica de las cordilleras de Colombia y Ecuador la misma que se produce de manera silvestre en bosques montañosos que se encuentren a una altitud de aproximadamente 2 600 – 3 600 metros sobre el nivel del mar. En el Ecuador se encuentran 12 de las 40 especies del género *Hedyosmum* como son: *H. anisodorum* Todzia, *H. luteynii* Todzia, *H. purpurascens* Todzia, *H. spectabile* Todzia, *H. cuatrecazanum* Occhini, *H. cumbalense* Karsten, *H. goudotianum* Solms-Laub., *H. translucidum* Cuatrec, *H. racemosum*, *H. sprucei* Solms-Laub, *H. scabrum* y *H. strigosum* Todzia¹⁹.

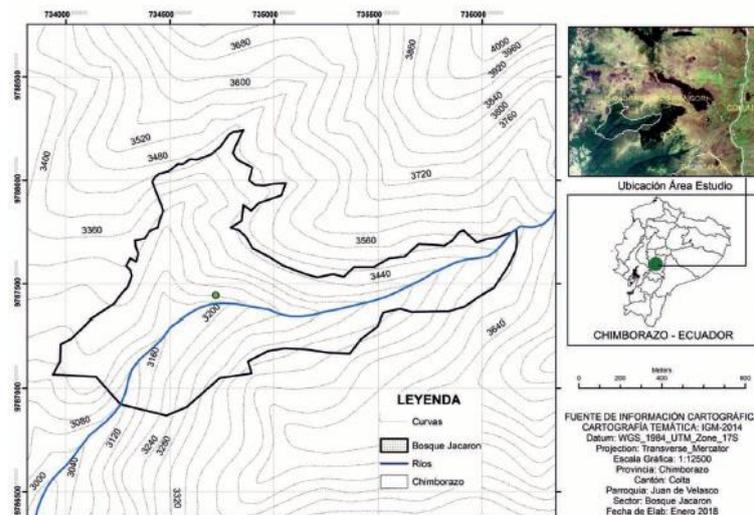
Hedyosmum luteynii se ha utilizado y se sigue utilizando en la actualidad en el Ecuador como medicina natural para tratar problemas digestivos, reumatismo, neuralgia además de presentar características antisépticas y afrodisiacas¹⁹.

Figura 1. Muestra de las partes aéreas (hojas) de la planta *Hedyosmum Luteynii* Todzia.



Fuente. Torres Rodriguez, *et al*¹⁹.

Figura 2. Ubicación del lugar de recolección de *Hedyosmum luteynii* Todzia (Bosque Jacarón) Cantón Colta provincia de Chimborazo.



Fuente: Torres Rodriguez, *et al*¹⁹.

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son una mezcla compleja de compuestos volátiles, principalmente terpenoides, que forman parte del metabolismo secundario de las plantas, su producción tiene diferentes funciones y usos para la planta, estos aceites pueden actuar como un atrayente para los polinizadores, repele fitófagos, poseen actividad alelopática, antibacteriana y puede ayudar a mantener el nivel de agua en la planta. Algunas de estas propiedades curativas ha hecho que se utilicen los aceites esenciales desde la antigüedad²¹.

Los aceites esenciales poseen propiedades únicas, entre ellas podemos destacar los principios antibióticos, agentes antivirales, agentes antisépticos, propiedades antibacterianas y antifúngicas, refuerzos inmunológicos que pueden usarse para mejorar la circulación y el sistema linfático, incluso para equilibrar el estado de ánimo. Algunos aceites como los del árbol de té y lavanda, que contribuyen a la regeneración celular⁷.

En las últimas décadas, la resistencia a antibióticos y otros compuestos, ha abierto nuevos horizontes en la búsqueda de alternativas antibacterianas de origen natural, se ha podido comprobar que los aceites esenciales tienen un gran potencial antimicrobiano⁸.

Proceso de extracción de aceites esenciales.

La extracción de aceites esenciales se puede realizar mediante varios métodos uno de ellos es la "hidrodestilación" que es el proceso de obtención de aceites esenciales de plantas aromáticas utilizando vapor saturado a presión atmosférica²². En el hidrodestilador se agrega la materia vegetal de manera que forme un lecho fijo compactado, el material vegetal puede estar entera, molida o una combinación de ambas. Se inyecta vapor a través de un distribuidor interno en su parte inferior con suficiente presión para vencer la resistencia hidráulica del lecho. La generación de vapor puede ser local, remota o interna²³.

Al entrar en contacto el vapor con el lecho, se calienta la materia prima que se ha utilizado para la extracción del aceite esencial y libera los aceites esenciales contenidos en ella, que a su vez se evaporan debido a su volatilidad alta, como es además soluble con el vapor circundante y es arrastrado la parte superior de hidrodestilador. La mezcla de aceites esenciales y vapor saturado fluye a través del "cuello de cisne" o extensión curva de la tubería de salida de gas hidrógeno hacia el condensador. En el condensador, la mezcla se condensa y se enfría a temperatura ambiente²³.

Se obtiene una emulsión líquida inestable a la salida del condensador y para separarla se utiliza un decantador dinámico este dispositivo se llena con agua fría, el aceite esencial se va acumulando debido a que los aceites esenciales apenas se mezclan con agua y tienen una densidad y viscosidad diferente a la del agua, los aceites esenciales. El vapor condensado que acompaña a los aceites esenciales y que se obtiene del decantador dinámico es llamado "agua floral". Contiene bajas concentraciones de compuestos de aceites esenciales solubles que dan a los aceites resultantes un aroma ligero similar²³.

El proceso termina cuando la cantidad de aceite esencial almacenado en el decantador dinámico o florentino no cambia con el tiempo. Luego se debe retirar el aceite del florentino para guardarlo y almacenarlo de manera apropiada. El hidrodestilador es evacuado y llenado con la siguiente tanda de caldo vegetal, iniciando así una nueva operación²³.

Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

La composición de los aceites esenciales se encuentra asociada a una multifuncionalidad, logrando interactuar con receptores específicos de múltiples dianas biológicas, por ello destacan los aceites esenciales por contener características como insecticidas, antimicrobianos y antimicóticos, las características de los aceites han sido utilizados desde la antigüedad. Un agente antimicótico es aquel compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos. La resistencia adquirida a los antimicóticos supone la capacidad para resistir ante efectos de un agente al que habitualmente es sensible, este problema se incrementa con el tiempo⁹.

Estudios han permitido identificar la composición y acción biológica de los aceites esenciales teniendo como resultado que la canela, la mostaza, orégano, tomillo, clavo son los aceites esenciales que presentan mayor efecto antimicrobiano debido a su alta composición de carvacrol en el orégano, timol en el tomillo, y el eugenol que es el componente del clavo pues se conoce que este último actúa inhibiendo la producción de enzimas intracelulares como proteasas y amilasas. Los aceites esenciales son más activos frente microorganismo Gram positivos, posiblemente sea porque los microorganismos Gram negativos poseen una membrana externa en las paredes celulares de naturaleza lipofílica²⁴.

Características generales de *Candida*.

La candidiasis invasiva surge como resultado de la penetración de *Candida* al torrente sanguíneo y posterior a su diseminación que se manifiesta por lesiones focales en hígado,

bazo, riñón, piel, endocarditis, tejido celular subcutáneo y otros tejidos. Se han reconocido aproximadamente 200 especies de *Candida* de ellas 10 son productoras de enfermedades infecciosas en la humanidad. De estas especies la que más predomina es *Candida albicans* que es la especie más frecuente en todas las regiones. El género *Candida* es responsable de al menos el 15 % de las infecciones nosocomiales y de estas infecciones un 72 % son adquiridas en hospitalización¹⁰.

Entre los factores de riesgo relacionados con la candidiasis sistémica nosocomial podemos encontrar la estadía hospitalaria prolongada, colonización previa, catéteres venosos centrales, cirugía gastrointestinal o cardíaca, uso de antibióticos de amplio espectro, quemaduras extensas y la prematuridad. Además, podemos encontrar factores predisponentes para la candidiasis sistémica por inmunosupresión dentro de ellos encontramos a la diabetes mellitus, infección por el virus de inmunodeficiencia adquirida, neutropenia y el tratamiento con esteroides²⁵.

Epidemiología

La candidiasis se considera una de las infecciones oportunistas más comunes que ha aumentado su incidencia significativamente en los últimos 20 años, afectan a humanos sin importar la edad, género o raza *Candida* se encuentra en sustancias que poseen gran cantidad de carbohidratos, en la naturaleza (árboles, verduras, granos), el suelo y el agua dulce. Además, son residentes permanentes del aparato digestivo, respiratorio y regiones mucocutáneas tanto del humano como de animales domésticos²⁶.

Candida albicans

Candida albicans es un hongo dimórfico de 3-8 x 2-7 µm micras de tamaño²⁷, localizada en la vagina humana, el sistema digestivo y el tracto respiratorio. Afecta a la piel, las mucosas y uñas. La candidiasis invasiva es una enfermedad fúngica de mayor incidencia que afecta a determinados pacientes inmunocomprometidos, pacientes sometidos a cirugía mayor²⁸.

Cándida glabrata

Es una levadura saprófita, y que forma parte del microbiota comensal. Las esporas formadas por gemación o blastoconidios miden de 1 a 4 µm, son considerablemente más pequeños, con respecto a los blastoconidios de *Candida albicans* que miden de 4 a 6 µm. Una de las

características más importantes de *Candida glabrata* es que asimila solo los azúcares trehalosa y glucosa, que a diferencia de las otras especies de *Cándida* que asimilan más azúcares. Cabe señalar que el genoma de *C. glabrata* es haploide (*C. albicans* es diploide), lo cual facilita la adquisición de resistencia secundaria²⁹. Las infecciones son difíciles de tratar debido a sus características genéticas presentan resistencia a fármacos azólicos²⁹.

Cándida tropicalis

Es una levadura diploide con una forma que va desde redonda hasta ovalada y varía de aproximadamente 2 a 10 micrómetros. Esta levadura es la segunda especie de *Candida* más frecuente productora de candidemia en países tropicales, teniendo en cuenta que en algunos centros es más prevalente que *Candida albicans*, sobre todo con pacientes de leucemia³⁰. *Candida tropicalis* y *Candida albicans* comparten características patogénicas es decir son taxonómicamente similares. Para el tratamiento candidiasis invasiva y candidemia se recomienda el uso de anfotericina B o equinocandina³⁰.

Cándida krusei

Es una levadura perteneciente al género *Candida* que se presenta como levadura y pseudohifa. *Candida krusei* es de forma alargada con apariencia a un grano de arroz alargado a diferencia de la mayoría de *Candida* que son de forma ovoide y miden 25 mm. Se considera que es un comensal transitorio en el humano. Este patógeno nosocomial afecta principalmente a pacientes con neoplasias hematológicas incluyendo a pacientes inmunodeprimidos. Posee una resistencia natural a fluconazol, un agente antimicótico estándar³¹.

Cándida parapsilosis

Candida parapsilosis es una levadura diploide caracterizada morfológicamente por producir pseudohifas y ser de forma redondeada, ovals o alargadas. *C. parapsilosis* es incapaz de formar hifas verdaderas. La incidencia de esta levadura ha aumentado considerablemente durante la última década, pues es causante de infecciones invasivas que provocan mortalidad y morbilidad considerables en al menos 4 muertes por 100.000 habitantes. Este microorganismo se aísla con frecuencia en la piel y uñas de las manos de enfermeras y otros profesionales del área de salud, de donde forma parte de la flora comensal humana normal³².

Diagnóstico de Laboratorio

Examen Directo (KOH)

- Sobre una placa porta objetos colocar 1 gota de KOH al 10%.
- Con un asa de siembra o a su vez un hisopo tomar una porción de la muestra y extenderla de forma homogénea a continuación cubrirlo con un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.

El examen directo es un procedimiento de diagnóstico valioso que permite la observación de estructuras micóticas que generan una infección para su preparación se utilizara Hidróxido de potasio (KOH) el cual lisa las células y aclara la muestra permitiendo una mejor visualización para la observación microscópica de estructuras fúngicas, en el examen directo se pueden observar estructuras esféricas de distintos tamaños de entre 5 μm y 60 μm de diámetro y diferentes tipos de gemación, conocidas como blastoconidias además se pueden observar hifas que poseen una estructura alargada, que pueden ser ramificados o no ramificadas con presencia de septos (septadas) o con septos esporádicos (aseptadas)³³.

El efecto clarificador del KOH puede tardar hasta los 10 minutos por lo que se suelen utilizar 2 concentraciones, la de 20-30% para uñas y del 10-15% para otras muestras. Además, para acelerar la aclaración de la muestra se puede agregar dimetil sulfoxido (DMSO)³³.

Reacción positiva aminas, se produce cuando la muestra tiene contacto con el KOH el medio se alcaliniza el produciendo liberación de aminas y ácidos grasos, lo que genera una reacción fétida (olor a pescado)³³.

Coloración

Las levaduras se tiñen bien con los colorantes bacterianos como es la tinción de Gram, además se puede utilizar tinciones histológicas específicas como la del ácido periódico de Schiff (PAS) que permiten la visión de células bien diferenciadas.

Este procedimiento es rápido y de gran utilidad ya que nos permite la visualización de hongos y su morfología.

Coloración Gram

- Una vez tomada la muestra, preparar una extensión sobre un portaobjetos y dejar secar a temperatura ambiente.
- Fijar la muestra con calor.
- Colocar cristal violeta y dejarlo actuar durante 1 minuto y lavar con agua.
- Cubrir el portaobjetos por completo con lugol y dejarlo actuar durante 1 minuto y lavar.
- Colocar alcohol-acetona durante unos segundos 15-20 para decolorar teniendo en cuenta que es el paso más importante de la coloración por ello no se debe sobrepasar el tiempo (Las bacterias Gram negativas se decoloran y las Gram positivas quedan teñidas de azul), lavar con agua.
- Por último, colocar safranina o fucsina diluida durante 1 minuto y lavar con agua, las bacterias Gram negativas quedan teñidas de rojo y las Gram positivas permanecen azules.
- Dejar secar la preparación y observar al microscopio (colocar en la placa aceite de inmersión).

Figura 3. Observación microscópica 100x coloración Gram en muestras vaginales.



Fuente: Enlace Hispano Americano de la Slud³⁴

Tinción con azul de metileno.

Azul de metileno de Löffler.

- Realizar una extensión del cultivo
- Fijar por calor
- Teñir durante 3 minutos (Empleando una solución saturada de azul de metileno con etanol 30 mL y 100 mL de solución de KOH al 0,01%).

- Lavar la placa con agua, secar y observar al microscopio con objetivo de inmersión 100x.

Cultivos

Los cultivos son fundamentales para establecer la etiología de la infección y para efectuar pruebas de sensibilidad a los antifúngicos.

Agar Saboraud Dextrosa: Es uno de los medios recomendados para aislamiento y desarrollo de hongos, especialmente aquellos asociados con infecciones cutáneas, este medio contiene la tripteína, la peptona y la glucosa que son nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos, este agar inhibe el crecimiento bacteriano y favorece al crecimiento de hongos debido a que contiene un alto contenido de glucosa la presencia de clorafenicol y el pH ácido. Se puede complementar con otros agentes de crecimiento selectivo³⁵.

Pruebas Inmunológicas

Detección de Anticuerpos: Mediante las pruebas de ELISA del inglés (Enzyme Immuno Sorbent Assay) que está basado en una técnica inmunoenzimática, es capaz de detectar a tiempo oportuno, el antígeno manano circulante en el suero de los pacientes para el diagnóstico de candidiasis³⁶.

Métodos moleculares

Las técnicas moleculares utilizadas con mayor frecuencia en la identificación de hongos son: la electroforesis de enzimas multilocus (MLEE; del inglés, Multilocus Enzyme Electrophoresis), el uso de sondas de hibridación marcadas para la identificación de un fragmento específico de ADN (hibridación Southern o Southern blot), el análisis de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP); del inglés, Restriction Fragment Length Polymorphism y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés, Polymerase Chain Reaction) y las modificaciones para la amplificación de diferentes fragmentos de ADN específicos³³.

Tratamiento de candidiasis

El tratamiento se basa en el diagnóstico precoz y preciso de la infección, la corrección del factor predisponente o enfermedad de base, la determinación del tipo de infección por *Candida* y el uso de los antifúngicos adecuados. El cotrimoxazol, el miconazol, el

ketoconazol, el sertocanazol, la terbinafina o la naftalina se pueden usar por vía tópica. El tratamiento sistémico más utilizado es el itraconazol o el fluconazol³⁷.

Fluconazol

Agente antifúngico perteneciente a la clase de los azoles, específicamente los triazoles. Su mecanismo de acción reduce la concentración de ergosterol, que es esencial para la integridad de la membrana plasmática de las células fúngicas. Actúa inhibiendo los hongos, su ámbito de acción incluye: *Candida albicans* y otras especies de *Candida* excepto *C. krusei*, *C. ciferri*, *C. norvengensis* y *C. inconspicua*. También es activo frente a *Cryptococcus sp.*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, dermatofitos y *Malassezia furfur*³⁸.

Está disponible en forma intravenosa y oral. Se absorbe bien por vía oral. Tiene una vida media biológica de 18 horas en niños y tiene poca unión a proteínas. Su distribución es satisfactoria incluso para el sistema nervioso central en ausencia de una meninge inflamada, es metabolizada en el hígado y se excreta a través de los riñones³⁸.

Resistencia

La resistencia se puede conceptualizar de dos maneras diferentes que son la microbiológica y clínica en el caso del concepto microbiológico de resistencia sugiere que una cepa es resistente si su CMI es superior al rango normal para esa especie. Por el contrario, de acuerdo con el concepto clínico, cuando un hongo continúa causando enfermedad en un paciente, desarrolla resistencia a los agentes antifúngicos, aunque la concentración de fármacos antifúngicos sea más alta en el sitio de la infección. Esto se debe a que, la respuesta inmunitaria del paciente se ve gravemente comprometida si este es el caso, el sistema inmunológico no podrá eliminar el patógeno, sin importar cuántos medicamentos se tome³⁹.

La resistencia clínica depende de los siguientes factores:

- Respuesta inmune del huésped
- Penetración de drogas.
- Presencia de focos de infección permanentes.

Tipos de resistencia microbiana:

- **Resistencia intrínseca a los medicamentos:** Ningún miembro de la especie es susceptible al medicamento. Por ejemplo: *Candida krusei* y fluconazol.

- **Resistencia primaria:** debido a mutaciones aleatorias, las cepas que pertenecen a especies que normalmente son susceptibles a los agentes antifúngicos tienen resistencia natural sin estar expuestas al compuesto. Ejemplos: *Candida albicans* y 5-fluorocitosina.
- **Resistencia secundaria:** más interesante desde el punto de vista clínico, se da en una cepa previamente susceptible que adquiere resistencia al compuesto tras la exposición al hongo. Por ejemplo: *Candida albicans* y 5-fluorocitosina y fluconazol³⁹.

Resistencia a los antibióticos

- Es una amenaza para la salud mundial y la seguridad alimentaria.
- Afecta a todos, independientemente de la edad o el país de residencia.
- Es un fenómeno natural, aunque el abuso de estos fármacos en humanos y animales acelera el proceso.
- Las infecciones como la salmonelosis, neumonía, tuberculosis y gonorrea son más difíciles de tratar debido a que los antibióticos pierden su eficacia.
- Prolonga la estancia hospitalaria, aumenta los costos médicos y aumenta la mortalidad.

Los antibióticos son medicamentos que se utilizan para prevenir y tratar infecciones bacterianas, esta ocurre cuando las bacterias mutan al tomar estos medicamentos. La resistencia a los antibióticos la desarrollan las bacterias, no los humanos ni los animales, estas bacterias resistentes a los medicamentos pueden causar infecciones en humanos y animales. La resistencia a los antibióticos aumenta y por ello es urgente cambiar el procedimiento de prescripción y uso de antibióticos⁴⁰.

Incluso si se desarrollan nuevos medicamentos, la resistencia a los antibióticos seguirá siendo una grave amenaza si no se modifica el comportamiento actual. Los cambios de comportamiento también deben incluir medidas destinadas a reducir la propagación de infecciones mediante la vacunación, el lavado de manos, el sexo seguro y una buena higiene alimentaria⁴⁰.

***Trichosporon* sp.**

Es una levadura ubicua que se encuentra comúnmente en sustratos ambientales y madera en descomposición. Forman parte del microbiota comensal del intestino humano y colonizan temporalmente la piel y las vías respiratorias. *Trichosporon* sp. se clasifica tradicionalmente en función de características morfológicas, ecológicas y fisiológicas, pero con resultados contradictorios, los estudios filogenéticos basados en herramientas de biología molecular llevaron a la reclasificación de la especie. Se han descrito más de 36 especies, las especies clásicamente aisladas en procesos patológicos son *T. mucoides*, *T. cutaneum*, *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. inkin* y *T. ovoides*⁴¹.

En general, estas especies se asocian a infecciones superficiales benignas, especialmente onicomycosis (*T. cutaneum*), Neumonitis por hipersensibilidad (*T. asahii*), y se ha asociado con fracaso del tratamiento debido a la resistencia de algunas especies a anfotericina B⁴¹.

***Cryptococcus* sp.**

El género *Cryptococcus* sp. contiene alrededor de 100 especies, de las cuales solo *C. neoformans* y *C. gattii* se consideran patógeno para los humanos, aunque existen en la literatura otras especies patógenas esporádicamente (*C. albidus*, *C. uniguttulatus*, *C. humicola*, *C. curvatus*, *C. luteolu* y *C. laurentii*,). *Cryptococcus* sp. puede afectar cualquier área anatómica, pero tiene predilección por el sistema nervioso central. La infección cutánea puede ser primaria por inculcación directa del hongo en la piel o secundaria por diseminación hematológica desde otras regiones anatómica, las manifestaciones cutáneas son muy diversas y existen algunas características que distinguen las formas primarias⁴².

C. neoformans se divide en tres serotipos (A, D, AD) mientras que *C. gattii* tiene los serotipos B y C además híbridos de C. Estos patógenos provocan criptococosis que es una infección fúngica mundial que afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos, actualmente su incidencia ha disminuido gracias al tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), sin embargo, la incidencia y aún es alta en regiones sin acceso a TARGA⁴².

***Rhodotorula* sp.**

Es un hongo levaduriforme pertenece a la familia Basidiomycota. Se considera como un contaminante común en los laboratorios que puede causar infecciones sistémicas,

pulmonares, renales y del sistema nervioso central; se ha asociado con catéteres intravenosos o administración intravenosa de soluciones contaminadas, válvulas protésicas o diálisis peritoneal. *Rhodotorula mucilaginosa* está ampliamente distribuido y se aísla de la naturaleza la piel y las membranas mucosas en humanos y animales⁴³.

En cuanto a su morfología macroscópica podemos encontrar colonias de rápido crecimiento (maduración a los 4 días), de 2 a 3 cm de diámetro, de color rosa coral, aunque pueden tornarse rojas o anaranjadas; aspecto suave, liso, húmedo, a veces viscoso, Según su morfología microscópica sus blastoconidios miden de 2-4 μm de diámetro, ovoides o ligeramente alargadas, solitarias, de base estrecha, y sólo en casos excepcionales se forman pseudohifas⁴⁴.

Pruebas de sensibilidad

La prueba de sensibilidad o antibiograma determina la sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos al exponer una concentración estándar de bacterias a estos agentes. Se pueden realizar pruebas de susceptibilidad para bacterias, virus o hongos. Para algunos microorganismos, los resultados obtenidos con un fármaco pueden predecir los resultados obtenidos con fármacos similares. Por lo tanto, no es necesario probar todos los medicamentos potencialmente útiles⁴⁵.

Las pruebas de susceptibilidad se realizan in vitro e ignoran muchos factores que afectan al fármaco in vivo (farmacodinámica y cinética, concentración del fármaco en el sitio de exposición, estado inmunitario del huésped, defensas específicas del sitio) y factores que afectan el éxito. Por lo tanto, las pruebas de susceptibilidad a los medicamentos no necesariamente predicen el resultado del tratamiento. Pueden ser métodos cualitativos, semicuantitativos o basados en ácidos nucleicos. Las pruebas también pueden determinar el efecto de combinar diferentes antimicrobianos (prueba de sinergia)⁴⁵.

Para efectuar las pruebas de sensibilidad, se cuenta con los siguientes métodos.

- Difusión en agar (Técnica de Bauer & Kirby)
- Dilución en agar
- Macrodilución o Microdilución en caldo
- Prueba de Epsilon (prueba E)

- Métodos automatizados
- Pruebas especiales

Difusión en agar (Técnica de Kirby & Bauer)

El método de difusión en agar es cualitativo y los resultados solo pueden mostrarse como susceptibles, intermedios o resistentes y pueden analizarse específicamente contra bacterias de crecimiento rápido como los estafilococos o miembros de la familia Enterobacteriaceae. En esta técnica, se lleva al inóculo bacteriano a una concentración de 1 estándar de McFarland y se esparce con un hisopo sobre la superficie de una placa de agar seco Mueller-Hinton con un pH de 7,2 a 7,4 a temperatura ambiente cuando el medio se ha solidificado, después se insertan los discos según corresponda⁴⁵.

A continuación, la placa se incuba durante un máximo de 18 horas, excepto para los aislados de *Staphylococcus* y *Enterococcus sp*, se recomiendan 24 horas, principalmente para detectar mejor la resistencia a la oxacilina y la vancomicina. Se observa cada placa bajo luz indirecta para medir cada halo de inhibición usando un calibrador o, en ausencia de un marcador de medición, una regla con graduaciones adecuadas. El diámetro alrededor de cada disco se mide e interpreta de acuerdo con las pautas emitidas periódicamente por el NCCLS (Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico) e informa si el organismo es susceptible, intermedio o resistente a los antibióticos probados⁴⁵.

Cada antibiótico tiene su propio anillo inhibidor específico, que depende del tamaño de la molécula del antibiótico y de su polaridad; esto permite que los antibióticos de molécula pequeña como la penicilina migren mucho, por lo que su diámetro de halo será muy grande en el caso de cepas susceptibles. La vancomicina, que tiene una molécula muy grande y muy hidrófoba, tendrá un halo de inhibición muy pequeño. Por lo tanto, no está claro si una cepa en particular es más sensible a la penicilina que a la vancomicina porque la primera tiene un halo de inhibición más grande⁴⁵.

La técnica de difusión en agar tiene varias ventajas como:

- Es fácil de implementar y altamente reproducible.
- No se requiere equipo especial
- Sus resultados pueden ser fácilmente interpretados.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.

Tipo de la investigación

- **Según el nivel**

Descriptiva debido a que se recolecto información en diferentes bases de datos, relacionada con la medicina tradicional y ancestral y las características biológicas antimicóticas de la especie vegetal *Hedyosmum* para el tratamiento de infecciones causadas por hongos.

- **Según el diseño**

El diseño aplicado fue Cuasi experimental ya que se realizaron ensayos microbiológicos utilizando aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia a diferentes concentraciones para la determinación del efecto antimicótico frente a hongos levaduriformes.

- **Según la secuencia temporal**

Corte transversal la investigación se ejecutó con el análisis del efecto antimicótico del aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia durante un tiempo determinado que partió del periodo académico 2022-2S.

- **Según el enfoque**

Mixto ya que se recolecto datos relacionados con la investigación, con el análisis de datos tanto cualitativos (observación de la inhibición mediante los halos de crecimiento) como cuantitativos (medición de los halos de inhibición).

Material biológico

- **Muestra vegetal**

Partes aéreas del árbol de *Hedyosmum luteynii* Todzia que fueron recolectadas de forma manual entre julio y agosto de 2022, en el bosque Jacarón, que se encuentra ubicado en la provincia de Chimborazo, parroquia Juan de Velasco, perteneciente al cantón Colta, Ecuador en las siguientes coordenadas 1°55'16.36158333"S, 78°53'14.99493303"W.

- **Hongos levaduriformes**

Candida albicans, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *Cryptococcus* sp., *Trichosporon* sp. y *Rhodotorula* sp. que fueron facilitadas por la carrera de

Bioquímica y Farmacia de la Universidad Católica de Cuenca y fueron mantenidas en el laboratorio de microbiología de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo .

VARIABLES DE ESTUDIO

- **Variable Independiente:** Concentraciones del Aceite Esencial de *Hedyosmum Luteynii* Todzia.
- **Variable Dependiente:** Actividad antimicótica del aceite esencial en cepas de hongos levaduriformes.

MÉTODOS DE ESTUDIO

El método utilizado en esta investigación fue el método empírico ya que incluyó la observación, medición y la experimentación ya en la aplicación de la investigación se aplicó debido a que se utilizó el aceite esencial extraído de las partes aéreas de *Hedyosmum luteynii* Todzia para la experimentación del mismo a diferentes concentraciones para la observación del efecto antimicótico.

- **Procesamiento de datos**

Se elaboró una base de datos en Excel donde se calculó media y desviación estándar.

- **Consideraciones éticas**

El proyecto de investigación fue aprobado por el Ministerio de Ambiente bajo el código MAAE-ARSFC-2021-1378.

- **Técnicas y procedimientos**

En el caso de la investigación la técnica que se utilizó es la observación directa, en cuanto a los procedimientos se requirió la recolección de la materia prima en este caso fueron hojas, ramas, flores de *Hedyosmum luteynii* Todzia de allí se partió a la extracción y aislamiento del aceite esencial por el método de hidrodestilación, una vez obtenido el aceite se prepararon la solución madre y las diluciones del aceite esencial. Por otra parte, se realizó el pre inóculo de las cepas de las especies que se estudiaron como también la preparación de Agar Müller Hinton Suplementado, siembra, impregnación de discos con las concentraciones del Aceite esencial preparado, pre incubación, incubación de placas, lectura e interpretación de los resultados.

Extracción del aceite esencial de *Hedyosmum lutey nii* Todzia.

- Se recogió *Hedyosmum lutey nii* Todzia de manera manual en el bosque Jacarón del cantón Colta en la provincia de Chimborazo.
- Se realizó la extracción a partir de las partes aéreas de *Hedyosmum lutey nii* Todzia es decir de su tallo, hojas y flores frescas.
- Se peso 2000 g de las partes aéreas de la planta.
- Se procedió a realizar la extracción del aceite mediante el método de hidrodestilación utilizando la trampa de Clevenger por un lapso de 4-5 horas a una temperatura de 50-60 °C.
- El aceite obtenido fue guardado en refrigeración a 4 °C hasta su análisis.

Aceite esencial puro y diluciones

Se peso 1 g de aceite esencial de *Hedyosmum lutey nii* Todzia y se colocó en un tubo Eppendorf estéril de esta solución inicial concentrada se realizaron 8 diluciones seriadas para ello se colocaron 7 tubos Eppendorf estériles con 500 µl de Dimetilsulfóxido (DMSO) cada uno y fueron etiquetados respectivamente, las concentraciones obtenidas son: 1, 0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,031; 0,015 y 0,007 g/mL.

Preparación Agar sabouraud

- Se peso 65 g de Agar sabouraud y se colocó en un matraz Erlenmeyer con un agitador, se adiciono 1000 mL de agua destilada (preparación para 1L, se realizan los cálculos correspondientes si se requiere de menor cantidad de agar).
- Se colocó la preparación en la plancha de calentamiento y agitación hasta que llegue a su punto de ebullición la preparación en un tiempo estimado de 10 a 15 minutos.
- Se coloco el matraz Erlenmeyer en la autoclave hasta que este se esterilice por aproximadamente 1 hora.
- Cuando la esterilización finalizo se dejó reposar la preparación hasta que bajo la temperatura para poder colocar en las cajas Petri.
- Una vez solidificadas por completo estuvieron listas para su uso.

Preparación Agar Mueller Hinton Suplementado

- Se peso 38g de Agar Mueller Hinton y se colocó en un matraz Erlenmeyer con un agitador, se adiciono 1000 mL de agua destilada (preparación para 1L, se realizan los cálculos correspondientes si se requiere de menor cantidad de agar).
- La preparación se colocó en la plancha de calentamiento y agitación hasta que la preparación llego a su punto de ebullición esto sucedió en el tiempo estimado de 10 – 15 minutos
- Se dejo reposar la preparación hasta que baje la temperatura considerablemente para agregar 20g de glucosa y 100 uL de azul de metileno, y se homogenizo.
- Se coloco el matraz Erlenmeyer en la autoclave hasta que este se esterilizó por aproximadamente 1 hora.
- Cuando la esterilización finalizo se dejó reposar la preparación que baje la temperatura para poder colocar en las cajas Petri.
- Cuando se solidifico por completo está listo para el uso.

Replicación de cepas, preparación de Pre-inoculo.

- Se esterilizo el asa dentro de la cámara de flujo laminar para ello se encendió el mechero y se flameo el asa hasta que se vea el rojo vivo.
- De las cepas anteriormente replicadas y conservadas con un asa se recogió una colonia de cada una de las especies de estudio.
- En las placas Petri que contiene agar Sabouraud se procedió a rotular el nombre de la levadura y la fecha de realización del procedimiento.
- A continuación, se procedió a sembrar por agotamiento o rastreo.
- Se incubo a 37°C durante 24 a 48horas transcurrido el tiempo las cepas estarán listas para la realización del inoculo.

Preparación del inóculo

- Se coloco 6 mL de solución de salina en tubos de ensayo de tapa rosca.
- Se llevaron a la autoclave para su esterilización este proceso dura aproximadamente 1 hora hay que recalcar que los tubos no se deben tapar por completo para que se esterilice el tubo con el contenido por completo.
- Se esterilizo el asa al mechero flameándola hasta que se vea el color rojo vivo para asegurar la esterilizar.

- Tomando el asa esterilizada una colonia para colocarla en el tubo de ensayo y se homogenizo hasta llegar a una turbidez McFarland 1 correspondiente a 3×10^8 UFC/mL.
- Se flameo el cuello del tubo de ensayo tapa rosca y sellarlo.

Siembra e impregnación de discos con las diferentes concentraciones del aceite esencial por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).

- Se introdujo el hisopo estéril en el inóculo para tomar la muestra.
- Se Rotularon las placas Petri que se vayan a utilizar según la especie del hongo levaduriforme y el número de discos que se vayan a utilizar.
- Se sembró en placas de Agar Müller Hinton suplementado tratando de llevar el hisopo de extremo a extremo sin dejar espacios.
- Con la ayuda de pinzas debidamente esterilizadas se colocaron los discos impregnados en cada uno la concentración del aceite que se desee utilizar para evitar la unión de los halos solo se colocó 2 hasta 4 discos por placa.

Pre- incubación, Incubación, Análisis de los resultados.

- Pre incubar las placas en refrigeración 4°C durante media hora con la tapa de la caja Petri hacia arriba.
- Se pasaron las placas a la incubadora con la tapa de las cajas hacia abajo y dejarlas incubar a 37 °C por 24 horas.
- Transcurridas las 24 horas se realizó la primera lectura si se observan resultados con ayuda de una regla se miden los diámetros de los halos de inhibición expresados en milímetros (mm).
- Se determinó las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) mediante el análisis de resultados tomando en cuenta a la menor concentración a la cual el aceite presento actividad antimicótica acorde a la medición de los halos de inhibición que se presentó para cada una de las especies de *Candida* y otras levaduras.
- Los resultados fueron tabulados en Excel para su análisis y reporte.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción del aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia.

Se obtuvo 5 mL de aceite de *Hedyosmum luteynii* Todzia mediante el proceso de hidrodestilación (Trampa de Clevenger) a partir de la recolección de 2000 g de partes aéreas de la planta, logrando un rendimiento de 0.25% (0.25 mL/100 g de hojas) que fue calculado a partir del volumen del aceite y el peso de la materia vegetal utilizada para la extracción. El color del aceite esencial obtenido fue amarillo de olor agradable, se colocó en frasco de vidrio oscuro se debe mantener a 4°C hasta su correspondiente análisis¹⁹.

Discusión

Latorre K,⁴⁶ en su estudio “Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum* sp., frente a cepas de levaduras de interés clínico” obtuvo aceite esencial a partir de 2000 g de materia vegetal y logró un rendimiento de 0,09% que coincide con Collaguazo E,⁴⁷ cabe destacar que el rendimiento del esencial de *Hedyosmum* sp. es inferior al rendimiento de *Hedyosmum luteynii* Todzia.

Tomando en cuenta que el método de hidrodestilación fue utilizado para la extracción de los aceites esenciales en los 3 casos anteriores se observan resultados de rendimiento distintos. Sin embargo, Zamora *et al.*⁴⁸ en su estudio Composición química del aceite esencial de hojas de *Hedyosmum translucidum* Cuatrec, Chloranthaceae (Granizo) registra un rendimiento de 1, 2 % pero para la extracción del aceite utilizó hidrodestilación asistida por microondas, este rendimiento supera los rendimientos anteriores por ello se puede mencionar que el porcentaje de rendimiento varía dependiendo de la cantidad de la materia vegetal, la presión y la temperatura a la que está expuesta.

Actividad Antimicótica del Aceite Esencial

La actividad antimicótica del aceite esencial frente a ocho especies de estudio tales como: (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *Rhodotorula*, *Trichosporon* sp. *Cryptococcus* sp.) fue evaluada mediante el método de difusión en disco o Kirby Bauer y se verán plasmadas en las siguientes tablas.

Tabla 2. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmun Luteynii* Todzia en la especie *Candida Albicans* y *Candida glabrata*.

Método por difusión del disco de sensibilidad (Kirby-Bauer).								
Aceite esencial <i>Hedyosmun Luteynii</i> Todzia.								
Concentraciones del aceite g/mL	Levaduras							
	<i>Candida albicans</i>				<i>Candida glabrata</i>			
	Halos de inhibición (mm)							
	R1	R2	M	DS	R1	R2	M	DS
1	14	16	15	1	12	13	12,5	0,5
0,5	12	13	10,5	0,5	10	9	9,5	0,5
0,25	10	11	12,5	0,5	8	8	8	0
0,125	9	8	8,5	0,5	8	7	7,5	0,5
0,062	8	8	8	0	0	0	0	0
0,031	8	7	7,5	0,5	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,007	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0035	0	0	0	0	0	0	0	0
C.P Fluconazol 25 ug	25	23	24	1	33	30	31,5	1,5
C.N DMSO	0	0	0	0	0	0	0	0

R1-2: Repeticiones; **M:** Media; **DS:** Desviación estándar; **C.P:** Control positivo; **C.N:** Control negativo.

En la tabla 2 se observan los resultados obtenidos de la actividad antimicótica a partir del aceite esencial de *Hedyosmun Luteynii* Todzia frente a la especie *Candida Albicans* y *Candida tropicalis* expresados según su concentración (g/mL) donde se obtuvieron halos de inhibición de diferentes tamaños como son: 15; 10,5; 12,5; 8,5; 8; 7,5 mm de diámetro para *Candida albicans* y 12,5; 9,5; 8; 7,5 para *Candida glabrata*. Se puede observar que se realizaron los ensayos por duplicado por lo cual se obtuvo la media de estos resultados y su desviación estándar.

Con los resultados expresados en la tabla se puede manifestar que existe actividad antimicótica del aceite puro de *Hedyosmum Luteynii* Todzia y de acuerdo a la disminución de su concentración disminuye la actividad antimicótica sobre la especie de estudio. Las concentraciones más bajas a la que se pudo observar actividad antimicótica fueron de 0,031g/mL para *Candida albicans* y 0,125 g/mL para *Candida glabrata* sin embargo presentaron halos de un mismo tamaño 7,5 mm.

Como control positivo se ha utilizado Fluconazol ya que se prescribe medicamento para combatir infecciones causadas por esta levadura. A concentraciones de 25 µg de Fluconazol mostró halos de inhibición de una media de (24 -31,5mm). Además, se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo donde no se observan halos es decir se comprueba que no existe actividad frente a las especies de estudio por ello que se puede seguir utilizando como disolvente para el aceite puro.

Discusión

Como lo manifiesta Panizo *et al.*¹⁰ *Candida albicans* es una levadura comensal que reside en las membranas mucosas de las cavidades oral, vaginal y en el tracto gastrointestinal humano. Es inofensiva en huéspedes sanos, pero aumenta patogenicidad en huéspedes inmunocomprometidos. Además, Lobaina *et al.*⁴⁹ considera que las infecciones causadas especialmente por las especies del género *Candida* tienen la prevalencia más alta, y que de ellas *Candida albicans* suele ser la más común, las infecciones están aumentando en la población, la creciente incidencia y gravedad de las enfermedades fúngicas es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la actualidad.

Sánchez *et al.*⁵⁰ refiere que *Candida albicans* es la causa del 75% al 90% de las infecciones por hongos y que el 75% de las mujeres experimentarán una infección clínica en algún momento de su vida para ello uno de los factores que contribuyen al desarrollo de la infección es el clima. Mientras que González *et al.*⁵¹ describe a *C. glabrata* como un patógeno causante de infecciones que en los últimos 30 años ha aumentado su incidencia, es la levadura responsable de al menos el 15 % de los casos candidiasis vaginal además que se ubica con frecuencia en la cavidad oral y vaginal de personas sanas como en personal sanitario.

Pineda *et al.*⁵² cree que es posible que la alta prevalencia de *C. glabrata* está relacionada con pacientes que han recibido múltiples tratamientos con antifúngicos y antibióticos prescritos

por diferentes médicos o a su vez se han automedicado por lo que los microorganismos adquieren resistencia y provocar infecciones repetidas.

Estudios realizados por Latorre K,⁴⁶ evaluaron la actividad de aceite esencial de *Hedyosmum* sp. frente a varias especies, entre ellas *Candida albicans* y *Candida glabrata*. Donde se pudo observar para *Candida albicans* resultados que no favorecen a la actividad antimicótica debido a que no existió actividad tanto en el aceite puro como en las diluciones de mayor y menor concentración mientras que a una concentración media se observa actividad es el caso de 1g/mL (10.7 mm) y 0,5g/mL (9.2 mm).

Latorre K,⁴⁶ menciona que en este caso se podría explicar como un problema de difusión tanto en el aceite puro como en las altas concentraciones del aceite en el medio Müller Hinton que no permitieron difundir sus componentes o a su vez podría ser por un antagonismo entre los componentes mientras que para *Candida glabrata*, no se evidencio resultados es decir no existe actividad antimicótica tanto en el aceite puro como en las diluciones.

Existen además otros estudios realizados por Alarcón *et al.*⁵³ de la actividad antimicótica de aceite Esencial *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni* frente a especies de estudio dentro de ellas *Candida albicans* donde se observaron resultados que presentan actividad frente al aceite puro y varias concentraciones como son 1 g/mL (20,67 mm) además 0,5 g/mL (13,33 mm) y 0,25 g/mL (10,67 mm) siendo esta ultima su concentración mínima inhibitoria , estos resultados ponen en manifiesto la actividad del aceite de *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni*, conforme se disminuye su concentración se disminuye su actividad antimicótica.

Con lo mencionado se puede concluir que el aceite de *Hedyosmun luteynii* Todzia presenta una mayor actividad frente a *Candida albicans* y que su actividad es superior a las actividades que presentan el aceite esencial de *Hedyosmum* sp. así como también de *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni* frente a *Candida albicans*. Por otra parte, se sigue exaltando que el aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia debido a que presenta una gran actividad frente a *Candida glabrata* a comparación del aceite esencial de *Hedyosmun* sp. que no presento actividad antimicótica tanto con el aceite puro como en sus distintas concentraciones inferiores.

Por ello el aceite de *Hedyosmun luteynii* Todzia puede ser objeto de nuevo estudios debido a que podría ser un componente de nuevos antimicóticos para el tratamiento de infecciones causadas por levaduras.

Tabla 3. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmun Luteynii* Todzia en la especie *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*.

Método por difusión del disco de sensibilidad (Kirby-Bauer).								
Aceite esencial <i>Hedyosmun Luteynii</i> Todzia.								
Concentraciones del aceite g/mL.	Levaduras							
	<i>Candida tropicalis</i>				<i>Candida parapsilosis</i>			
	Halos de inhibición (mm)							
	R1	R2	M	DS	R1	R2	M	DS
1	25	26	25,5	0,5	12	13	12,5	0,5
0,5	20	18	19	1	9	8	8,5	0,5
0,25	15	14	14,5	0,5	8	8	8	0
0,125	11	12	11,5	0,5	8	7	7,5	0,5
0,062	10	9	9,5	0,5	0	0	0	0
0,031	8	7	7,5	0,5	0	0	0	0
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,007	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0035	0	0	0	0	0	0	0	0
C.P Fluconazol 25 ug	21	23	22	1	30	31	30,5	0,5
C.N DMSO	0	0	0	0	0	0	0	0

RI-2: Repeticiones; **M:** Media; **DS:** Desviación estándar; **C.P:** Control positivo; **C.N:** Control negativo.

Como se puede observar en la tabla 3 se expresan los resultados de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmun Luteynii* Todzia frente a *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* donde se evidencia actividad antimicótica frente a estas 2 especies. Por un lado encontramos a *Candida tropicalis* que presenta actividad tanto en el aceite puro como en sus concentraciones menores hasta 0,031 g/mL siendo además su CMI (25,5; 19; 14,5; 11,5; 9,5; 7,5 mm) halos de inhibición expresados según su concentración. Mientras que para *Candida*

parapsilosis se observa actividad antimicótica en el aceite puro y en sus concentraciones menores hasta 0,125 g/mL siendo esta su CMI (12,5; 8,5; 8; 7,5 mm).

Cabe recalcar que los ensayos se han realizado por duplicado y de aquellos resultados se obtiene la media y su desviación estándar correspondiente, con estos resultados se manifiesta que existe actividad antimicótica del aceite puro de *Hedyosmum Luteynii* Todzia y que de acuerdo a la disminución de su concentración disminuye la actividad antimicótica sobre la especie de estudio. Como en los ensayos anteriores se utilizó Fluconazol de 25 µg para el control positivo ya que es el antimicótico de elección para el tratamiento infecciones causadas por varias levaduras incluyendo *Candida tropicalis* (22mm) y *C. parapsilosis* (30,5 mm) mostrando que las levaduras son sensibles a este antimicótico.

De la misma manera se utilizó DMSO para el control negativo donde se observó que no existe actividad antimicótica por lo que se puede seguir utilizando como diluyente para el aceite puro.

Discusión

Según Santos *et al.*⁵⁴ la incidencia de *Candida tropicalis* ha aumentado significativamente en la actualidad, que al menos el 20 % de las infecciones nosocomiales son producidas por *C. albicans* siendo esta levadura la más aislada seguida de *Candida tropicalis*, debido a la estancia de los pacientes en unidades hospitalarias ya que los pacientes que presentan infecciones causadas por *C. tropicalis* permanecieron más tiempo en la unidad de cuidados intensivos que los infectados por *Candida albicans* y concluyó con que los pacientes inmunocomprometidos y en cuidados intensivos infectados con *C. tropicalis* tenían una mortalidad más temprana y estancias hospitalarias más prolongadas que los pacientes infectados con otras especies de *Candida* (51 días frente a 23 días).

Treviño *et al.*³² considera a *C. parapsilosis* como un patógeno emergente que ha aumentado su diseminación en los últimos años sobre todo en América Latina debido a que forma parte de la flora comensal humana normal y se aísla en la piel y las uñas de las enfermeras incluyendo a otros profesionales de la salud. Además, se aísla en dispositivos médicos como catéteres intravasculares, sondas de alimentación parenteral y otros dispositivos protésicos.

Como lo menciona Roig T,⁵⁵ la población que presenta el mayor riesgo de contraer una infección nosocomial por *C. parapsilosis* se da en neonatos prematuros de bajo peso que

concuerta con Treviño. La colonización de la piel o el tracto gastrointestinal es a menudo el primer paso en la patogénesis de la candidiasis diseminada.

Podemos encontrar además estudios realizados por Latorre K,⁴⁶ evaluaron la actividad de aceite esencial de *Hedyosmum* sp. frente a varias especies, una entre ellas *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*, para la primera especie se observan resultados de la actividad antimicótica tanto en el aceite puro 15mm siendo este uno de los halos de mayor inhibición dentro de este estudio, además se observa actividad antimicótica a las siguientes concentraciones (1; 0,5; 0,25) siendo la concentración 1 la ideal debido a que su halo de 17 mm ha sido el de mayor tamaño en todo el estudio demostrando así sensibilidad por parte de la levadura al aceite de *Hedyosmum* sp.

Frente a *Candida parapsilosis*, se obtuvieron resultados favorables con el aceite puro ya que presento actividad antimicótica además presento actividad antimicótica en 1; 0,5; 0,25 g/mL donde se observan halos de inhibición que demuestran actividad siendo 0,25 g/mL su concentración mínima inhibitoria con un halo de (10mm).

Otros estudios realizados por Alarcón *et al.*⁵³ que buscan actividad antimicótica de aceite Esencial *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni* frente a especies de estudio dentro de ellas *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* donde se observa actividad antimicótica frente al aceite puro y varias concentraciones para la primera especie se observan actividad frente a 1 g/mL (13,33 mm) además 0,5 g/mL (10,66 mm) y 0,25 g/mL (8,66 mm) siendo esta ultima su concentración mínima inhibitoria.

Mientras que para *Candida parapsilosis* sé observa actividad antimicótica frente al aceite puro y a sus dos concentraciones inferiores como son 2 y 1,5 g/mL con halos de inhibición de (19; 17; 9), estos resultados ponen en manifiesto la actividad del aceite de *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni*, conforme se disminuye su concentración se disminuye su actividad.

Con el análisis de estos 3 estudios con diferentes aceites vegetales de *Hedyosmum* de diferente especie (*Hedyosmum* sp.; *Hedyosmum cutrecazanum Occhioni*; *Hedyosmum luteynii* Todzia) se puede concluir que el aceite de *Hedyosmum luteynii* Todzia presenta una mayor actividad antimicótica frente a *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* por lo que el aceite esencial puede ser objeto de nuevos estudios debido a que podría ser un componente esencial para la formación de nuevos antimicóticos para el tratamiento de infecciones causadas principalmente por las levaduras de estudio.

Tabla 4. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum Luteynii* Todzia en la especie *Candida krusei* y *Rhodotorula*.

Método por difusión del disco de sensibilidad (Kirby-Bauer).								
Aceite esencial <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia.								
Concentraciones del aceite g/mL.	Levaduras							
	<i>Candida Krusei</i>				<i>Rhodotorula</i>			
	Halos de inhibición (mm)							
	R1	R2	M	DS	R1	R2	M	DS
1	20	21	20,5	0,5	30	28	29	1
0,5	16	17	16,5	0,5	27	25	26	1
0,25	15	13	14	1	22	20	21	1
0,125	12	11	11,5	0,5	15	13	14	1
0,062	10	9	9,5	0,5	13	15	14	1
0,031	8	7	7,5	0,5	6	7	6,5	0,5
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,007	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0035	0	0	0	0	0	0	0	0
C.P Clotrimazol 1%	30	30	30	0	25	25	25	0
C.N DMSO	0	0	0	0	0	0	0	0

RI-2: Repeticiones; **M:** Media; **DS:** Desviación estándar; **C.P:** Control positivo; **C.N:** Control negativo.

En la tabla 4 se observan los resultados obtenidos de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum Luteynii* Todzia frente a *Candida krusei* y *Rhodotorula* sp. donde se evidencia actividad antimicótica tanto en el aceite puro como en sus diluciones de menor concentración hasta (0,031 g/mL) siendo esta además su concentración mínima inhibitoria. Se pueden observar halos de inhibición de diferentes tamaños como son: 20,5; 16,5; 14; 11,5; 9,5; 7,5 mm para *Candida Krusei* y 29; 26; 21; 14; 14; 6,5 mm de diámetro para *Rhodotorula*.

Demostrando así que existe actividad antimicótica tanto en el aceite puro como en sus concentraciones además que conforme disminuye su concentración disminuye su actividad.

Como control positivo se utilizó Fluconazol de 25 µg pero no se observó actividad antimicótica debido a que estas levaduras poseen resistencia intrínseca a fluconazol por ello se ha cambiado de antimicótico en este caso se utilizó clotrimazol al 1% obteniendo así resultados favorables donde se observó actividad obteniendo halos de 30 mm para *Candida krusei* y 25 mm para *Rhodotorula*. Además, se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo donde no se observan halos es decir se comprueba que no existe actividad y que se puede seguir utilizando como disolvente para el aceite puro.

Discusión

Las infecciones producidas por *C. krusei* se caracterizan por su tasa alta de mortalidad (40-58%). Al igual que *C. albicans*, *C. krusei* muestra termodimorfismo, produciendo blastoconidias y pseudohifas cuando se incuba a temperaturas bajas (menores a 37°) y produce hifas cuando crece a 37 °C Mora *et al.*⁵⁶.

Como lo manifiesta Vásquez *et al.*⁵⁰ *C. krusei* es un patógeno oportunista que forma parte de la flora humana que causa infecciones especialmente en pacientes inmunocomprometidos, y representa un problema de salud mundial debido a su alto índice de riesgo de mortalidad, *C. krusei* es una causa de micosis invasiva que en la actualidad presenta una incidencia creciente.

Según Zurita S,⁵⁷ en sus estudios revela que en América latina *Candida krusei* es frecuentemente aislada en casos de candidemia y que la resistencia a fluconazol se da debido a que esta levadura posee resistencia intrínseca.

Estudios previos realizados por Latorre K,⁴⁶ evaluaron la actividad de aceite esencial de *Hedyosmum* sp. frente a varias especies, una de ella fue *Candida Krusei*, donde se evidencio actividad antimicótica frente al aceite puro como a sus diluciones hasta 0,25 g/mL donde se observan halos de (11; 9; 10; 12; 17; 20) mm de diámetro donde se puede evidenciar que aumenta la actividad a medida que se disminuye la concentración del aceite.

En otros estudios realizados por Alarcón *et al.*⁵³ sobre la actividad antimicótica de aceite Esencial *Hedyosmum cutrecazanum* Occhioni frente a *Candida krusei* se observa que existe actividad antimicótica tanto en el aceite puro como en sus dos siguientes concentraciones

donde se observan halos de (21,30; 18; 9,30) mm de diámetro tomando en cuenta que en este ensayo su actividad directamente proporcional es decir mientras su concentración baja los halos de inhibición disminuyen su tamaño.

Menciona Reyes *et al.*⁴⁴ que *Rhodotorula* sp. forma parte del microbiota comensal de la piel, uñas y membranas mucosas además las podemos encontrar en la naturaleza y alimentos como productos lácteos además pueden aislarse en orina y heces. Pertenecen a este género las especies *R. mucilaginosa*, *R. rubra*, *R. glutinis* y *R. minuta* entre otras donde *R. mucilaginosa* está asociada a infecciones en humanos. Esta levadura se distingue por la producción de pigmentos carotenoides, los cuales producen colonias con una coloración rosada o rojiza. Los pigmentos carotenoides son metabolitos secundarios que protegen a la levadura contra el daño foto-oxidativo debido a sus filtros de absorción UV y sus propiedades antioxidantes.

Con el análisis de 3 estudios de diferentes aceites vegetales de *Hedyosmum* de diferente especie (*Hedyosmum* sp.; *Hedyosmum cutrecazanum* Occhioni; *Hedyosmum luteynii* Todzia) se puede concluir que el aceite de *Hedyosmum luteynii* Todzia presenta una mayor actividad antimicótica frente a *Candida Krusei* debido a que presenta actividad antimicótica hasta 0,031 g/mL en cuanto a *Rhodotorula* sp. no se encuentran estudios que utilicen aceites esenciales para analizar su actividad antimicótica.

Cabe recalcar que *Rhodotorula* sp. es una levadura roja oleaginoso que logra acumular lípidos como β -caroteno como principales carotenoides, y se le atribuyen varias acciones biológicas importantes como antioxidante, provitamina A y a su vez posee actividades anticancerígenas e inmunomodulación, además en cuanto a los ensayos realizados se observó que *Rhodotorula* sp. presenta una gran actividad antimicótica frente al aceite esencial y a la vez el aceite esencial evita la producción de carotenoides (torularodina, toruleno, y β -caroteno) que contribuyen a preservar la viabilidad del envejecimiento de las células mediante la extinción de los radicales de oxígeno esto se ve expresado ya que las colonias normalmente se ven de color naranja, pero con la acción del aceite esencial las colonias pasan a ser de color crema. Por ello el aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia puede ser objeto de nuevos estudios para la formación de nuevos antimicóticos de menor costo debido a que estas las infecciones causadas por estas levaduras son resistentes a fluconazol son tratadas con anfotericina B, pero tiene un costo elevado.

Tabla 5. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum Luteynii* Todzia frente a la especie *Trichosporon* sp. y *Cryptococcus* sp.

Método por difusión del disco de sensibilidad (Kirby-Bauer).								
Aceite esencial <i>Hedyosmum Luteynii</i> Todzia.								
Concentraciones del aceite g/mL.	Levaduras							
	<i>Trichosporon</i> sp.				<i>Cryptococcus</i> sp.			
	Halos de inhibición (mm)							
	R1	R2	Media	DS	R1	R2	Media	DS
1	22	20	21	1	20	22	21	1
0,5	15	17	16	1	12	11	11,5	0,5
0,25	12	10	11	1	8	8	8	0
0,125	9	10	9,5	0,5	9	9	9	0
0,062	8	8	8	0	8	8	0	0
0,031	8	7	7,5	0,5	6	8	7	1
0,015	0	0	0	0	0	0	0	0
0,007	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0035	0	0	0	0	0	0	0	0
C.P Fluconazol 25 ug	30	30	30	0	25	25	25	0
C. N DMSO	0	0	0	0	0	0	0	0

RI-2: Repeticiones; **M:** Media; **DS:** Desviación estándar; **C.P:** Control positivo; **C.N:** Control negativo.

En la tabla 5 se observan los resultados que se obtuvieron de la actividad antimicótica a partir del aceite esencial de *Hedyosmum Luteynii* Todzia frente a *Trichosporon* sp. y *Cryptococcus* sp. donde se observa actividad antimicótica tanto con el aceite puro como en sus concentraciones inferiores hasta 0,031 (g/mL) donde se obtuvieron halos de inhibición de diferentes tamaños como son 21; 16; 11; 9,5; 8; 7,5 mm de diámetro para *Trichosporon* sp. y 21; 11,5; 8; 9; 8; 7 para *Cryptococcus* sp.

Los ensayos se han realizado por duplicado por ello se ha obtenido la media de estos resultados y su desviación estándar correspondiente. Con los resultados expresados en la tabla se puede manifestar que existe actividad antimicótica del aceite puro de *Hedyosmum Luteynii* Todzia y de acuerdo a la disminución de su concentración disminuye la actividad antimicótica sobre la especie de estudio en este caso.

Como control positivo se utiliza Fluconazol debido a que este antimicótico ya se prescribe medicamente para combatir infecciones causadas levaduras incluyendo a *Trichosporon* sp. y *Cryptococcus* sp. en este caso. A concentraciones de 25 µg de Fluconazol mostró gran sensibilidad por ellos se observaron halos de inhibición de una media de 30 mm para *Trichosporon* sp. y 25 mm para *Cryptococcus* sp. Además, como en los anteriores casos se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO) como control negativo y no se observaron halos de inhibición demostrando y a la vez comprobando así que no produce actividad y por ello se puede seguir utilizando como disolvente con el aceite puro de *Hedyosmum Luteynii* Todzia.

Discusión

Valladares *et al.*⁵⁸ manifiesta que la tricosporonosis presenta una alta tasa de mortalidad a pesar del tratamiento antimicótico en un 50-80%, esta es una infección provocada por *Trichosporon* sp., esta levadura se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y forma parte de la microbiota natural de piel, tracto respiratorio, gastrointestinal y vaginal que aumentado su incidencia en las últimas décadas y es causante de infecciones superficiales, pero su importancia clínica es aún mayor debido a que particularmente es capaz de causar infecciones invasivas a pacientes con inmunidad debilitada.

Menciona García *et al.*⁵⁹ que la tricosporonosis es difícil de tratar, algunas de las infecciones sistémicas han sido tratadas con anfotericina B y han presentado muy poca actividad por otra parte se recomienda el uso de triazoles como el fluconazol ya que presenta una mejor actividad antimicótica contra el patógeno. Sin embargo, el voriconazol es el antimicótico de elección ya que presenta una gran eficacia en el tratamiento tricosporonosis.

Según Hurtado *et al.*⁶⁰ la criptococosis es una enfermedad causada por levaduras encapsuladas que se adquiere por inhalación de levaduras infectantes de *Cryptococcus* sp. principalmente por *C. neoformans* y en menor frecuencia por la *C. gatti*. Esta levadura tiene una distribución mundial, pero se encuentra comúnmente en los excrementos de las aves (palomas). Las manifestaciones clínicas de esta enfermedad en el sistema nervioso central

incluyen: dolor de cabeza, alteración del estado mental, fiebre, náuseas, vómitos, alteraciones visuales, parálisis del sexto par craneal y síntomas de irritación meníngea.

Vázquez *et al.*⁶¹ considera a la criptococosis como una de las causas más comunes meningitis, incluso más común que *Streptococcus pneumoniae* o *Neisseria meningitidis*. La criptococosis se consideraba como una infección poco frecuente antes de la pandemia de VIH/SIDA, pero en la década de los 70 esta micosis ya era más reconocida por estar asociada con pacientes con condiciones o tratamientos de inmunosupresión, neoplasias, trasplante de órganos. Los principales tratamientos son la anfotericina B, la flucitosina y el fluconazol.

Con esta información podemos concluir con que tanto *Trichosporon* sp. como *Cryptococcus* sp. son causantes de infecciones superficiales invasivas que afecta principalmente a pacientes inmunodeprimidos en cuanto a su tratamiento se utiliza anfotericina B pero es recomendable utilizar triazoles como el fluconazol que demuestra gran actividad además que para su tratamiento podemos utilizar el aceite esencial de *Hedyosmun Luteynii* Todzia debido a que presento una gran actividad tanto en el aceite puro como en sus concentraciones esto demuestra que podría ser fuente de nuevos estudios para la elaboración de nuevos fármacos que puedan combatir ante la resistencia antifúngica que se está presentando en la actualidad.

Concentración mínima inhibitoria

Tabla 6. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Levaduras	CMI
<i>C. glabrata</i> <i>C. parapsilosis</i>	0,125 g/mL
<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. krusei</i> <i>Trichosporon</i> sp. <i>Rhodotorula</i>	0,031 g/mL

En la Tabla 6, se muestran las CMI alcanzadas con el aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia, frente a 8 levaduras entre ellas 5 especies de *Candida*. Siendo *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Trichosporon* sp., *Rhodotorula* sp. las levaduras más susceptibles con CMI de 0,031 g/mL, seguidas de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* con CMI de 0,125 g/mL.

Discusión

Estudios realizados por Latorre K.⁴⁶ donde describe la actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum* sp., frente a cuatro especies de *Candida* determino las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), donde *C. albicans* presenta la CMI en 0,5 g/mL, mientras que *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* en 0,25 g/mL. Mientras que en el estudio realizado por Alarcón *et al.*⁵³ con el aceite esencial de *Hedyosmum cuatrecazanum* Occhioni, muestra las CMI alcanzadas frente a *Candida albicans* y *Candida tropicalis* siendo estas las levaduras más susceptibles con CMI de 0,25 g/mL, seguidas de *Candida krusei* y *Candida parasilopsis* con CMI de 0,50 g/mL.

Con el análisis de estos estudios se puede concluir que las CMI presentadas son inferiores a las concentraciones presentadas en este estudio es decir que el aceite esencial de *Hedyosmum luteynii* Todzia presenta mayor susceptibilidad por las levaduras de estudio es decir sigue presentada actividad antimicótica a menor concentración del aceite en este caso 0,031 g/mL.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- La extracción del aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia se realizó mediante el método de hidrodestilación usando la trampa de Clevenger a partir de 2 000 g de partes aéreas de la planta que fue recolectada en el bosque Jacarón se obtuvo 5 mL de aceite esencial el mismo que presentó un rendimiento de 0.25%.
- Mediante el método por difusión de disco de sensibilidad (Kirby Bauer) se pudo analizar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia frente a 8 levaduras de estudio entre ellas 5 especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei*) además se incluye *Trichosporon* sp., *Cryptococcus* sp. y *Rhodotorula* sp. donde cada una de las especies presentan diferente susceptibilidad frente al aceite esencial tanto con el aceite puro como en sus diluciones, tomando en cuenta que las levaduras presentan una mayor susceptibilidad al aceite esencial puro y conforme disminuye la concentración del aceite esencial disminuye la susceptibilidad y se expresa en el tamaño decreciente de los halos .
- La determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del aceite esencial de *Hedyosmun luteynii* Todzia, frente a 8 levaduras de estudio ellas 5 especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei*, *Trichosporon* sp., *Cryptococcus* sp., y *Rhodotorula* sp.) utilizando las distintas concentraciones del aceite (1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.062, 0.031, 0.015, 0.007, 0,0035 g/mL), indicaron que las levaduras más susceptibles con CMI de 0,031g/mL, son *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Trichosporon* sp., *Rhodotorula* sp. seguidas de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* con CMI de 0,125 g/mL, demostrando así la actividad antimicótica del aceite esencial diluido frente a todas las levaduras de estudio.

RECOMENDACIONES

- La conservación de los aceites esenciales extraídos de distintas partes de las especies vegetales se debe realizar guardándolos en frascos ámbar bien sellados y en refrigeración a 4°C para evitar la evaporación de compuestos que podrían ser bioactivos, ya que son mezclas volátiles. Es importante la correcta esterilización de los materiales para su utilización y la manipulación idónea de las cepas bacterianas para evitar la contaminación durante los ensayos, tanto con microorganismos del medio ambiente como con aquellos que son comensales de nuestro cuerpo.
- La motivación a los estudiantes para que realicen investigaciones básicas en este campo de estudio, en las que no solo se amplíe la gama de estirpes bacterianas (que incluya también cepas aisladas de pacientes resistentes o multirresistentes a antibióticos), sino que también se realicen estudios con otras especies vegetales de modo consciente (protegiendo los bosques), debido a que Ecuador cuenta con una diversidad de plantas que aún no han sido estudiadas, que poseen un gran potencial y de las que se podrían obtener principios activos para la creación de nuevos medicamentos.
- La Universidad Nacional de Chimborazo podría brindar financiamiento o aporte económico para llevar a cabo más investigaciones de este tipo, logrando así generar nuevos productos que permitan llegar a la solución de problemas relacionados con la salud.
- La concientización a la sociedad a través de redes sociales como Facebook, Twitter, entre otras, realizando campañas y charlas informativas presenciales a los sitios o grupos de personas que no tienen acceso a esta información sobre el uso adecuado de los antibióticos para evitar la resistencia adquiridas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tapia Cecilia. Antifúngicos y resistencia. Revista chilena de infectología [Internet]. junio de 2012 [citado 19 de enero de 2023];29(3):357-357. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182012000300020
2. Barranco Pedraza LM, Batista Hernández IL. Contribución social de la Medicina Tradicional y Natural en la salud pública cubana. Humanidades Médicas [Internet]. 2013 [citado 7 de noviembre de 2022];13(3):713-27. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-81202013000300009
3. Pazos Claribel P, Plain Anisbel P de A, Viera YR. La Medicina Natural y Tradicional como tratamiento alternativo de múltiples enfermedades. Revista Cubana de Medicina General Integral [Internet]. 8 de agosto de 2019 [citado 7 de noviembre de 2022];35(2). Disponible en: <http://www.revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/754/253>
4. Mendoza Murillo XS. Caracterización y estudio de actividades biológicas de los extractos obtenidos a partir del Sambuel (*Hedyosmum luteynii* Todzia) [Internet]. [Ambato]: Universidad Técnica de Ambato; 2019 [citado 7 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30462/1/AL%20716.pdf>
5. Moncayo Diego. “Jacarón” una de las últimas reservas de bosque andino en Chimborazo. [Internet]. Diario de Riobamba. 2019 [citado 7 de noviembre de 2022]. Disponible en: <http://eldiarioderiobamba.com/2019/04/23/jacaron-una-de-las-ultimas-reservas-de-bosque-andino-en-chimborazo/>
6. Cañigüeral S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas Medicinales y Fitoterapia. Acta Farmacéutica Bonaerense. 16 de marzo de 2019;22(3):265-78.
7. López Luegón TM. Los aceites esenciales (Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias). Offarm [Internet]. 1 de julio de 2020 [citado 7 de noviembre de 2022];23(7):88-91. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296>

8. Ruiz C, Díaz C, Rojas R. Composición Química de Aceites Esenciales de 10 Plantas Aromáticas Peruanas. *Revista Social Química Perú* [Internet]. 12 de marzo de 2015 [citado 7 de noviembre de 2022]; 2:81-94. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v81n2/a02v81n2.pdf>

9. Alvarado AC. Los Aceites esenciales se hacen en Ecuador | Últimas Noticias. *El Comercio* [Internet]. 22 de septiembre de 2020 [citado 7 de noviembre de 2022];7-9. Disponible en: <https://www.ultimasnoticias.ec/vida-sana/aceites-esenciales-ecuador-vida-sana.html>

10. Panizo MM, Reviákina V. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* [Internet]. 2020 [citado 7 de noviembre de 2022];21(2):38-45. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000200011&lng=es&nrm=iso&tlng=es

11. Lazo V, Hernández G, Méndez R. Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Médico (Lima)* [Internet]. 31 de diciembre de 2018 [citado 7 de noviembre de 2022];18(1):75-85. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2018000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es

12. Revankar Sanjay G. Candidiasis (invasora) - Enfermedades infecciosas - Manual MSD versión para profesionales [Internet]. Manual MSD. 2021 [citado 7 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/candidiasis-invasora>

13. Reynaud Antonio. Infecciones Vaginales Por *Cándida*. *Rev Per Ginecológica Obstétrica* [Internet]. 23 de junio de 2007 [citado 8 de noviembre de 2022];53(3):159-66. Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53_n3/pdf/a04v53n3.pdf

14. Zurita Jeannete. Estiman que el 3% de la población ecuatoriana podría tener enfermedades micóticas [Internet]. Edición Médica. Quito; 2017 [citado 8 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.edicionmedica.ec/secciones/salud->

publica/estiman-que-el-3-de-la-poblacion-podra-tener-enfermedades-micoticas-89771

15. Lucena ME, Latorre K, Ustáriz FJ, García V, Rojas FL, Monge A, et al. Micología Actividad antifúngica del aceite volátil de *Hedyosmum* sp., frente a especies del género *Candida*. Kasmira [Internet]. 2020;48(2):48231678. Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3951044>
16. Gallegos Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural. An Fac med [Internet]. 12 de septiembre de 2016 [citado 16 de enero de 2023];77(4):327-32. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
17. Mena Patricia. La Medicina Alternativa gana terreno en Ecuador [Internet]. Edición médica. 2016 [citado 16 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.edicionmedica.ec/secciones/profesionales/la-medicina-alternativa-gana-terreno-en-ecuador-88136>
18. Flores Gabriel. Ecuador tiene 2 900 plantas medicinales. El Comercio [Internet]. 5 de noviembre de 2018 [citado 16 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.elcomercio.com/tendencias/ecuador-plantas-medicinales-napo-amazonia.html>
19. Torres Rodríguez SH, Tovar Torres MC, García VJ, Lucena ME, Araujo Baptista L. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Hedyosmum luteynii* Todzia (Chloranthaceae). Rev Peru Biol [Internet]. 30 de mayo de 2018 [citado 31 de octubre de 2022];25(2):173-8. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1727-99332018000200012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
20. Catálogo de la biodiversidad. *Hedyosmum luteynii* [Internet]. SiB Colombia. 2023 [citado 27 de febrero de 2023]. Disponible en: <https://catalogo.biodiversidad.co/file/56d9aafd3c16479905cba9ad/summary>
21. Martínez Alejandro. Aceites esenciales [Internet]. 2001 [citado 13 de noviembre de 2022]. p. 34. Disponible en: <http://www.med->

informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf

22. Rodríguez Álvarez M, Alcaraz Meléndez L, Real Cosío SM. Manual de procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromática [Internet]. SAGARPA-CONACYT. México; 2012 ago.[citado 13 de noviembre de 2022]. Disponible en: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf
23. Cerpa Chávez MG. Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización. [Internet]. [España]: Universidad de Valladolid; 2007 [citado 16 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.anipam.es/downloads/43/hidrodestilacion-de-aceites-esenciales.pdf>
24. Bandoni A, Retta D, Baren C. Son realmente útiles los aceites esenciales. Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat [Internet]. 23 de marzo de 2009 [citado 13 de noviembre de 2022];8(5):317-22. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85611977001.pdf>
25. Mujica M.T, Finquelievich J.L, Jewtuchowicz V, Lovannitti C.A. Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas: Período 1999-2001. Rev Argent Microbiol [Internet]. 16 de junio de 2004 [citado 14 de noviembre de 2022];36(3):107-12. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412004000300003&lng=es.
26. Ajenjo Cristina M., Aquevedo AS, María Guzmán AD, Poggi HM, Calvo MA, Castillo C v, et al. Perfil Epidemiológico De La Candidiasis Invasora. Rev chil infectol [Internet]. mayo de 2011 [citado 14 de noviembre de 2022];28(2):122. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182011000200003#:~:text=La%20epidemiolog%C3%ADa%20de%20las%20infecciones,de%20fluconazol%20en%20UCI13.
27. Pardi Germán, Cardozo Elba Inés. Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. Acta Odontol Venez [Internet]. febrero

- de 2002 [citado 14 de noviembre de 2022];40(1):9-17. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
28. Vircell Microbiologists. *Candida albicans* - Vircell [Internet]. 2020 [citado 14 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.vircell.com/enfermedad/27-candida-albicans/>
29. Tapia Cecilia. *Candida glabrata*. Revista chilena de infectología [Internet]. 2008 [citado 19 de enero de 2023];25(4):293-293. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000400009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
30. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev [Internet]. 1 de marzo de 2012 [citado 14 de noviembre de 2022];36(2):288-305. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsre/article/36/2/288/563981>
31. Sanz Santaefemia FJ, García Talavera ME, González Gonzalo I, Girón del Río R. Nota clínica Dermatocosis por *Candida krusei* simulando herpes cutáneo. Rev Pediatr Aten Primaria. 2015; 17:53-6.
32. Treviño Rangel Rogelio, González González José Gerardo, Garza González Elvira, González Gloria M. *Candida parapsilosis*, una amenaza desafiante. Rev Médica Universitaria [Internet]. 2014 [citado 14 de noviembre de 2022];14(56):157-65. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/288687341_Candida_parapsilosis_una_amenaza_desafiante
33. Castaño Tangarife VJ, Flórez Muñoz S V, Mesa Arango AC. Diagnóstico micológico: de los métodos convencionales a los moleculares. Laboratorio [Internet]. 2015 [citado 16 de enero de 2023];21(110):211-42. Disponible en: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/884119/diagnostico-micologico.pdf>

34. Enlace Hispano Americano de Salud. Procesamiento de muestras vaginales [Internet]. Proyecto AECID 2012. 2012 [citado 29 de marzo de 2023]. p. 9-13. Disponible en: <http://www.telemicroscopia.ehas.org/assets/diagnostico-infecciones-vaginales.pdf>
35. Britania. Sabouraud Glucosado Agar [Internet]. CABA - ARGENTINA; 2023 [citado 16 de enero de 2023]. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5af08a08a7afe.pdf
36. Pontón José. Utilidad de los marcadores biológicos en el diagnóstico de la candidiasis invasora. Rev Iberoam Micol [Internet]. 31 de marzo de 2009 [citado 16 de enero de 2023];26(1):8-14. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-iberoamericana-micologia-290-articulo-utilidad-marcadores-biologicos-el-diagnostico-13135260>
37. Gil Sanchez Pilar. Candidiasis: qué es, tipos, síntomas y tratamiento. Clínica Universidad de Navarra [Internet]. Clínica Universidad De Navarra. 2022 [citado 14 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/candidiasis>
38. Asociación Española de Pediatría. Fluconazol [Internet]. Asociación Española de Pediatría. 2020 [citado 14 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/fluconazol>
39. Tapia Cecilia. Resistencia a antifúngicos. Medwave [Internet]. 1 de mayo de 2005 [citado 19 de enero de 2023];2005(4). Disponible en: <https://www.medwave.cl/puestadia/cursos/3549.html>
40. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [Internet]. ONU. 2020 [citado 14 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
41. Tapia Cecilia. Género *Trichosporon* sp. Revista chilena de infectología [Internet]. abril de 2009 [citado 14 de noviembre de 2022];26(3):263-4. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000400010&lng=es&nrm=iso&tlng=es

42. Tello M, Gutiérrez E, Béjar V, Galarza C, Ramos W, Ortega-Loayza AG. Criptococosis. Revista Médica de Risaralda [Internet]. 2013 [citado 14 de noviembre de 2022];19(2):147-53. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672013000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es
43. Rodriguez Billy. Rhodotorula sp. [Internet]. Atlas de Identificación micológica. 2016 [citado 14 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/03/23/rhodotorula-sp/>
44. Reyes Martínez I, Pérez Morales L, Morffi García M, Barletta Castillo JE, Aldereguía Lima G. Aislamiento de *Rhodotorula*. Presentación de un caso en paciente con leucemia mieloide aguda. Rev Medisur [Internet]. octubre de 2013 [citado 14 de noviembre de 2022];11(5):17-26. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v11n5/ms09511.pdf>
45. Herrera Marco Luis. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [Internet]. enero de 2019 [citado el 16 de noviembre de 2022];33-41. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010
46. Latorre Novillo Katty Guadalupe. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Hedyosmum* sp., frente a cepas de interés clínico [Internet]. [Riobamba]: Universidad Nacional de Chimborazo; 2019 [citado 17 de enero de 2023]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/6113/1/Actividad%20antimic%3%b3tica%20del%20aceite%20esencial%20de%20Hedyosmum%20sp.%2c%20frente%20a%20cepas%20de%20inter%3%a9s%20cl%3%adnico.pdf>
47. Collaguazo Enríquez Erika Gabriela. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Hedyosmum* sp. del bosque natural Jacarón, Provincia de Chimborazo. Octubre 2018 - febrero 2019 [Internet]. [Riobamba]: Universidad Nacional De Chimborazo; 2019 [citado 18 de enero de 2023]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/5533/1/UNACH-EC-FCS-LAB-CLIN-2019-0002.pdf>

48. Zamora Burbano AM, Arturo Perdomo DE. Composición química del aceite esencial de hojas de *Hedyosmum translucidum* Cuatrec., Chloranthaceae (Granizo). Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat [Internet]. 2016 [citado 18 de enero de 2023];15(3):192-8. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/162596292.pdf>
49. Lobaina Rodríguez T, Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Zayas Ruíz Y, Rodríguez Rodríguez A. Identificación de especies de *Candida* de importancia clínica con un método auxonograma modificado. Rev Cubana Med Trop [Internet]. 2010 [citado 17 de enero de 2023];62(1):48-57. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v62n1/mtr08110.pdf>
50. Vásquez RG, Rosales AO, Torres ND, Tapia EZ, Sánchez RC. Neumonía grave por infección con *Candida krusei*: Reporte de caso. Ciencia Digital [Internet]. 11 de julio de 2019 [citado 25 de enero de 2023];3(3):422-30. Disponible en: <https://cienciadigital.org/revistacienciadigital2/index.php/CienciaDigital/article/view/655>
51. Cardenal González IM, Lafuente Salanova F, Barbosa Orellana JL, Lozano Espinosa M, Leal Hernández M. Candidemia por *Candida glabrata* en paciente joven sin enfermedad previa. Medicina de Familia SEMERGEN [Internet]. 1 de septiembre de 2013 [citado 18 de enero de 2023];39(6):339-40. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-candidemia-por-candida-glabrata-paciente-S1138359312003000>
52. Diaz Pineda J, Meraz Gomez Y, Cazares Xoconostle B, Mena Garcia J. Detección de *Candida glabrata* en mujeres mexicanas sanas y con candidiasis vulvovaginal recurrente. Ginecol Obstet Mex [Internet]. 2017 [citado 18 de enero de 2023];82(2):71-9. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412017000200071
53. Alarcón Cabrera Denyse Salomé, Rivera Rodríguez Anthony Damián. Efecto antimicótico del aceite esencial de *Hedyosmum cuatrecazanum* Occhioni recolectada en el páramo Andino del Ecuador [Internet]. [Riobamba]: Universidad Nacional de Chimborazo; 2022 [citado 17 de enero de 2023]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/9573/1/Alarc%c3%b3n%20Cabrera%2c>

%20D%20y%20Rivera%20Rodríguez%20A%202022%29%20Efecto%20antimicótico%20del%20aceite%20esencial%20de%20Hedyosmum%20Ocotea%20occhioni%20recolectada%20en%20el%20páramo%20Andino%20del%20Ecuador%20Tesis%20de%20pregrado%29%20Universidad%20Nacional%20de%20Chimborazo.%20Riobamba%20Ecuador..pdf

54. Santos H E, Mercado M, Luévanos A, Martínez P, Guerrero M. Fungoma vesical por *Candida tropicalis*: un caso clínico pediátrico. Revista chilena de infectología [Internet]. 2017 [citado 18 de enero de 2023];34(2):186-9. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182017000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
55. Roig Álvarez Tania. Infección por especies de *Candida* durante los cuidados intensivos neonatales. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 2008 [citado 19 de enero de 2023];80(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312008000300011
56. Gómez-Gaviria M, Mora-Montes HM. Aspectos Actuales en la Biología, Patogenia y Tratamiento de *Candida krusei*, un Fúngico Patógeno Desatendido. Infect Drug Resist [Internet]. 2020 [citado 25 de enero de 2023];13(1):1689. Disponible en: [/pmc/articles/PMC7293913/](http://pmc/articles/PMC7293913/)
57. Zurita Macalupú S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 1 de enero de 2018 [citado 25 de enero de 2023];35(1):126-31. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019&lng=es&nrm=iso&tlng=es
58. Valladares García Jorge Carlos, Grajeda GAL, Burbano Salado Carlos Jorge, Espinosa Aguilar Luis. Infección por *Trichosporon* sp. asahii. Asociacion Medica Mexico [Internet]. 18 de mayo de 2018 [citado 19 de enero de 2023];63(2):138-41. Disponible en: www.medigraphic.org.mx<http://www.medigraphic.com/analesmedicos>
59. García L, Osorio GF. *Trichosporon* sp. mucoides infecciones en paciente inmunocompetente. Colomb Med [Internet]. 2008 [citado 19 de enero de

2023];39(2):184-8. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/cm/v39n2/v39n2a8.pdf>

60. Hurtado García Steven, Quintero-Cusguen Patricia. Criptococosis meníngea. Acta Neurológica Colombia [Internet]. 21 de marzo de 2021 [citado 24 de enero de 2023];37(1):90-100. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/anco/v37n1s1/2422-4022-anco-37-01-s1-90.pdf>
61. Vázquez Tsuji O, Martínez Barbabosa I, Campos Rivera T. Criptococosis. Acta Pediátrica de México [Internet]. febrero de 2005 [citado 24 de enero de 2023];26(1):18-28. Disponible en: www.revistasmedicas.com.mx

ANEXOS

Anexo 1. Materiales



A. Vasos de Precipitación, Tubos de ensayo



B. Matraz Erlenmeyer

Anexo 2. Equipos.

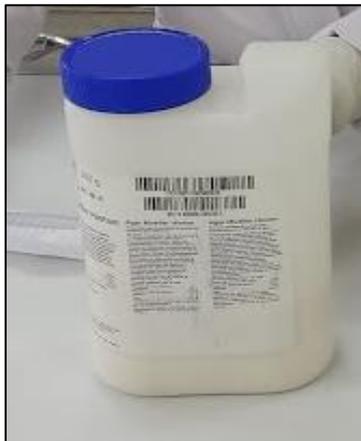


A. Cámara de flujo Laminar

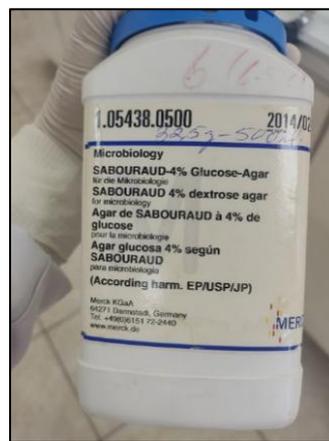


B. Autoclave

Anexo 3. Agares, solventes, entre otros.



A. Agar Müller-Hinton AMH



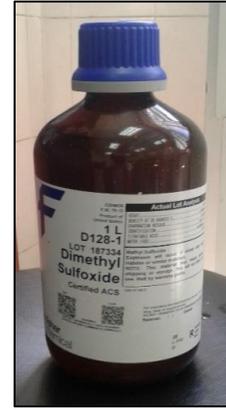
B. Agar Sabouraud Glucosa



C. Azul de Metileno



D. Glucosa



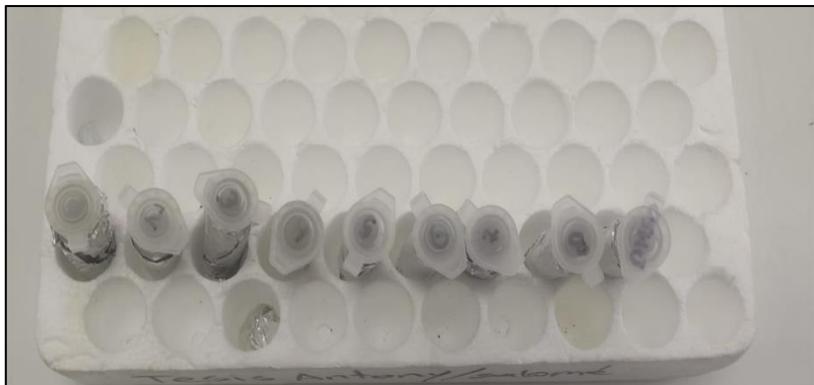
E. DMSO (Dimetilsulfóxido)

Anexo 4. Extracción del aceite.



A. Método de Hidrodestilación (Trampa de Clevenger)

Anexo 5. Diluciones del Aceite.



A. Distintas concentraciones en tubos Eppendorf

Anexo 6. Preparación de Agar Mueller Hilton Suplementado.



A, B. Preparación del AMH suplementado, añadido glucosa y azul de metileno.



C. Colocación del agar en la autoclave para su esterilización.



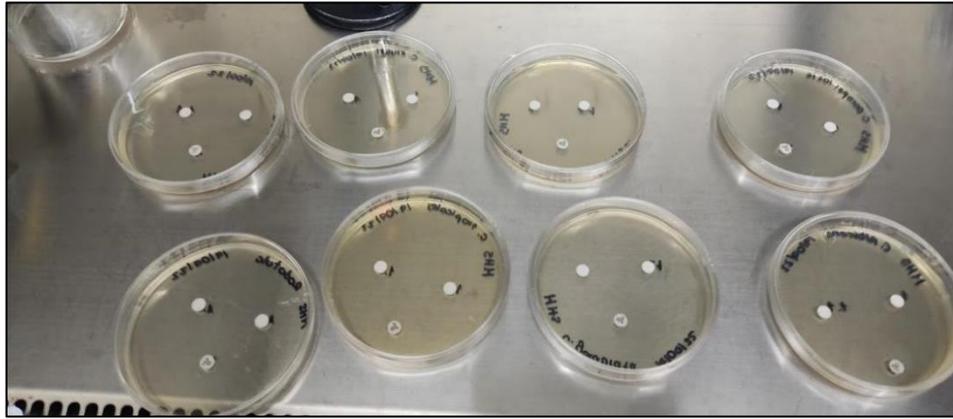
D. colocación del Agar en las placas Petri.

Anexo 7. Patrón McFarland.



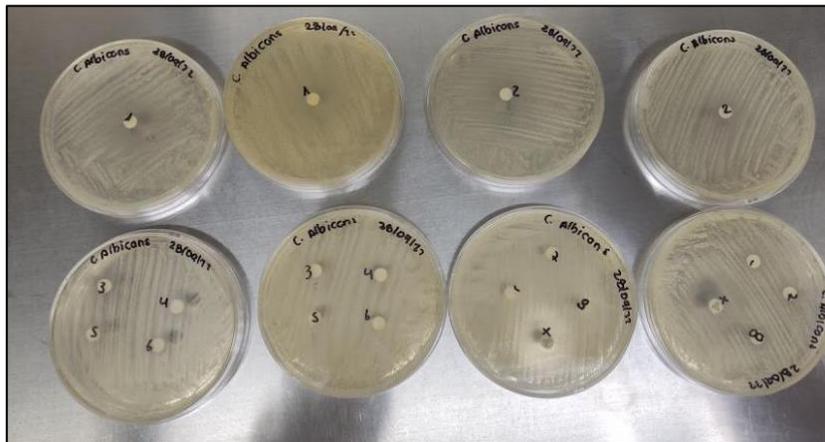
A. McFarland 1

Anexo 8. Impregnación de discos.



A. Impregnación de discos con el aceite esencial

Anexo 9. Halos de Inhibición.



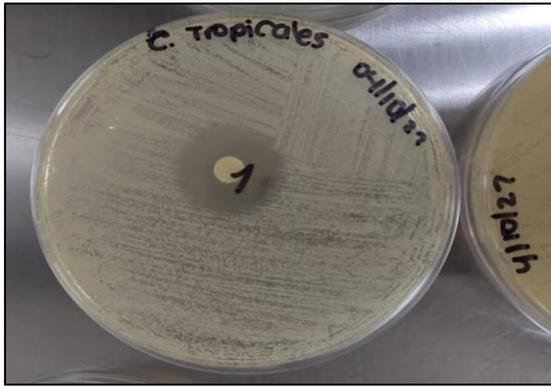
A. Halos de inhibición de *Candida albicans*.



B. Halo de inhibición concentración 1 de *C. glabrata*



C. Halos de inhibición concentración 2 de *C. Krusei*.



D. Halo de inhibición concentración 1 de *C. Tropicalis*.

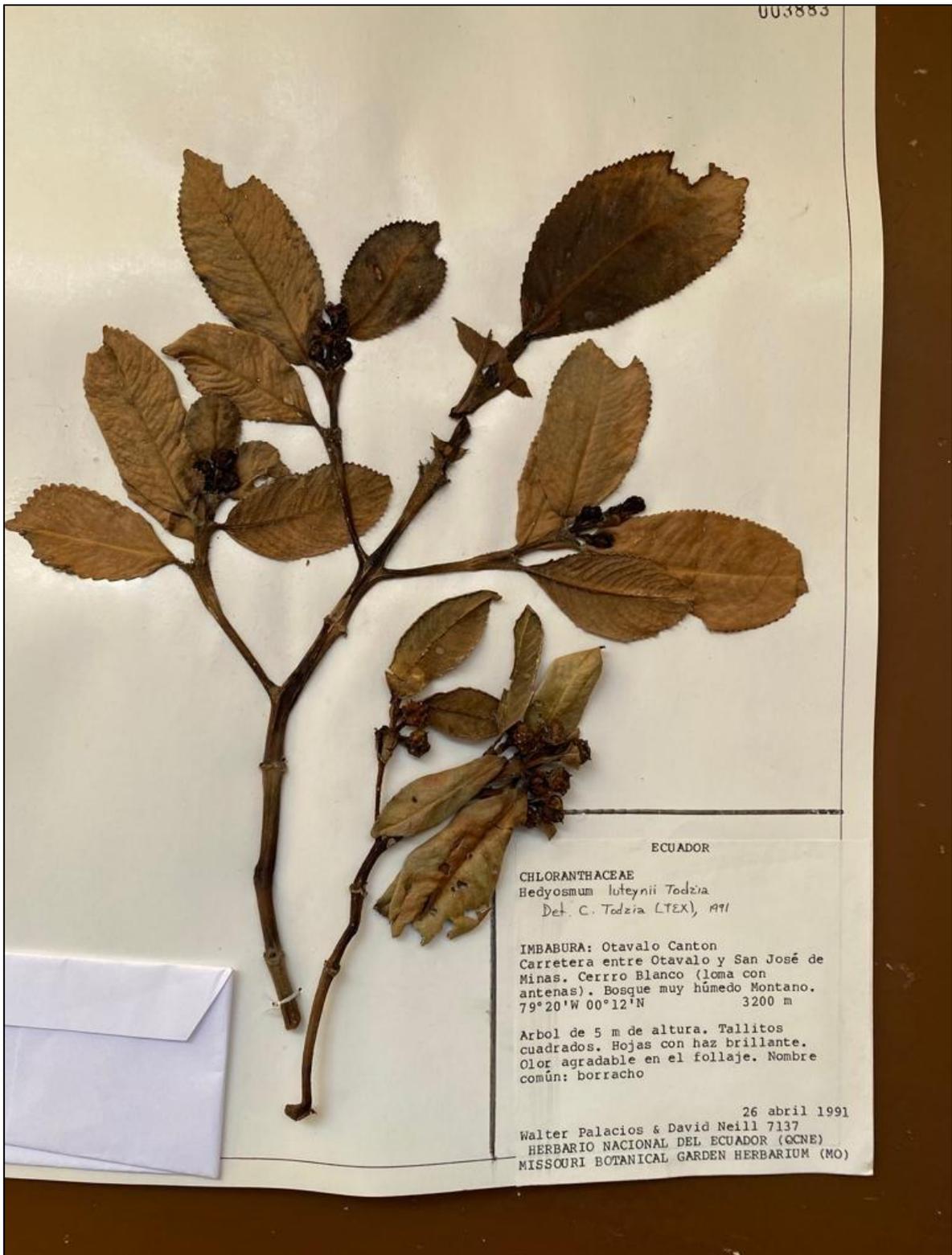


E. Halos de inhibición concentración 7, 8 de *C. Krusei* con resistencia a fluconazol en el control positivo.



F. Halos de inhibición de control positivo (clotrimazol) de *Rhodotorula*.

Anexo 10. *Hedyosmun luteynii* Todzia.



A. Ramas con hojas disecadas de la planta *Hedyosmun luteynii* Todzia.

Anexo 11. Autorización para la recolección de *Hedyosmun luteynii* Todzia.



Ministerio del Ambiente, Agua
y Transición Ecológica

AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA No. 1378

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

2.- CÓDIGO

MAAE-ARSFC-2021-1378

3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2021-06-25	2022-06-25

4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Plantae

El Ministerio del Ambiente y Agua, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C./Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
1600441842	RODRIGUEZ LLERENA MARCO VINICIO	Ecuatoriana	1002-13-1230365	Ingeniero Forestal (8 años)	Magnoliopsida

6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLOGICA:

Nombre del Proyecto: Composición química evaluación antioxidante y antimicrobiana de aceites esenciales de especies del género *Hedyosmun* de los Andes del Ecuador.

7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:

Analizar la composición química de aceites esenciales de especies del género <i>Hedyosmun</i> endémicas del Ecuador y determinar la

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía Código postal: 170525 / Quito-Ecuador
Teléfono: 593-2 398-7600 - www.ambiente.gob.ec

actividad antioxidante y antimicrobiana.
Obtener los aceites esenciales de las distintas especies vegetales de la planta Hedyosmum endémicas del Ecuador
Determinar la composición fitoquímica de los aceites esenciales de las distintas especies vegetales de Hedyosmum por cromatografía de gases acoplado a masas
Determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana de los aceites esenciales de las distintas especies vegetales de la planta Hedyosmum endémicas del Ecuador.

8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
CHIMBORAZO	PARQUE NACIONAL SANGAY	SUBCUENCA ALTA DEL RIO BLANCO

9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Magnoliopsida	Chloranthales	Chloranthaceae	Hedyosmum	NA	Hojas	6	

10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO

FASE DE RECOLECCIÓN:	El momento de la recolección condiciona notablemente la calidad y la cantidad de principio activo de la especie recolectada; es por esta razón que se debe tomar en cuenta los siguientes factores: Edad de la especie vegetal: hay especies vegetales que tienen que ser recolectadas a una edad precisa para obtener mayor cantidad de principios activos. La época del año: las estaciones y el clima influyen sobre la cantidad de principio activo que pueda tener una planta. Parte de la planta a recolectar: las plantas pueden concentrar el principio activo en toda la planta o en partes de ella. Momento del día: hay especies que deben ser recolectadas en distintos momentos del día para asegurar la concentración y calidad del principio activo.
FASE DE PRESERVACIÓN:	Se mantendrán refrigeradas hasta llegar al Laboratorio para su lavado y pesado de las hojas

11. METODOLOGÍA APLICADA EN LABORATORIO

MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:	Extracción y aislamiento del aceite esencial hidrodestilación mediante la utilización de la trampa de Clevenger, durante 4-5 horas a una temperatura entre 60-70 °C. Determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Hedyosmum Se realizará utilizando el método de difusión en agar (Kirby Bauer). Actividad Antioxidante Se realizará por el Test de Actividad Secuestrante de Radicales Libres (DPPH).
---	---

12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCIÓN.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Magnoliopsida	PAPEL ALUMINIO, FUNDAS ZIPLOC, TIJERAS, NAVAJA, ETIQUETAS, ROTULADORES, CAJAS DE CARTON, LIBRETA DE CAMPO	Equipo en Campo
Magnoliopsida	BOTAS DE CAUCHO, GUANTES DE TELA, CUADERNO Y LÁPIZ, TIJERA MANUAL DE PODA, PRENSA, CONDENSADOR, FRASCOS DE VIDRIO, SACO DE TELA.	Material en Campo

13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Magnoliopsida	Herbario Escuela superior Técnica del Chimborazo
---------------	--

14.- RESULTADOS ESPERADOS

Se realizará una revisión bibliográfica sistemática sobre la actividad antiviral y las plantas de uso medicinal en los Andes Ecuatoriano - 2.-Obtener los aceites de las diferentes especies vegetales de Hedyosmum, y determinar la composición fitoquímica de cada uno de ellos. Realizar una base de datos sobre la composición fitoquímica de cada uno de los aceites esenciales de las diferentes especies de Hedyosmum. 3.- Evaluar de la actividad antioxidante de los aceites esenciales de las diferentes especies de Hedyosmum y de esa manera conocer si sus componentes químicos presentan esta actividad biológica. 4.-Determinar la actividad antibacteriana frente a bacterias grampositivas y gramnegativas de interés clínico y calcular su concentración mínima inhibitoria, que indicarían la presencia de compuestos químicos secundarios con actividad biológica que ejercen una acción específica sobre las especies microbianas, produciendo la inhibición del crecimiento. Este resultado podría tener una orientación del uso de la planta, en dónde se podría elaborar fórmulas farmacéuticas o antisépticos industriales. 5.- Con los resultados obtenidos se procederá analizarlos y realizar la redacción de artículos científicos, que serán publicados en revistas indexadas de alto impacto.

15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Meta04.19.01 Para el 2021, el Ecuador implementa a agenda nacional de investigaciones, con el involucramiento de la academia, sector público, privado, pueblos y nacionalidades.	De obtener resultados favorables en cuanto a la actividad antioxidante y/o antimicrobiana se podría continuar con la investigación aislando del aceite esencial él o los componentes bioactivos, los cuales podrían utilizarse en la elaboración de fórmulas farmacéuticas o industriales. Para garantizar la sostenibilidad del proyecto se dispone de: a) la capacidad técnica y de gestión necesaria para mantener las actividades o bienes generados por el proyecto

DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

1. Solicitud de: LUCENA DE USTARIZ MARIA EUGENIA

2. Institución Nacional Científica : **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**
3. Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2022/06/10**
4. Valoración técnica del proyecto: **TELLO RAMOS FANNY ELIZABETH**
5. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**
6. Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.
7. Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de **BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.**
8. Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.

9. Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del ministerio del ambiente y agua, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
 - Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
 - Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).
10. Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio del Ambiente y Agua, con el que se recolecto el material biológico.
 11. Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.



12. Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

13. Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

14. Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a **LUCENA DE USTARIZ MARIA EUGENIA**.

DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD
LAGLA CHIMBA BYRON ADRIAN
2021-07-13