



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD CARRERA DE
ODONTOLOGÍA

“ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA “*IN VITRO*” DEL ACEITE
ESENCIAL Y EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL
Cinnamomum verum* “CANELA” SOBRE *Cándida albicans
CEPA ATCC 10231”

Proyecto de Investigación para obtener el título de Odontóloga

AUTORA:

Br. María Andrea Ortiz Timbi

TUTORA:

Ms.C. Silvia Reinoso

RIOBAMBA – ECUADOR

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal del proyecto de investigación de título **“ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA “IN VITRO” DEL ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL *Cinnamomum verum* “CANELA” SOBRE *Candida albicans* CEPA ATCC 10231.**

Una vez revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constado el cumplimiento de las observaciones realizadas, el proyecto de investigación está apto para la defensa pública por lo que remite al coordinador de la Unidad de Titulación Especial de la Carrera de Odontología para que el presente estudiante pueda continuar con su proceso de Titulación.

Para constancia de lo expuesto firman:

Dra. Tania Murillo

Presidente del tribunal



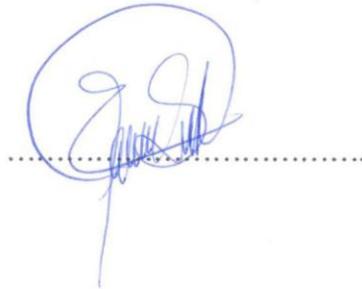
Dra. Sandra Cruz

Miembro del tribunal



Dr. Xavier Salazar

Miembro del tribunal





**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE ODONTOLOGIA**

El suscrito Docente y Tutor de la Carrera de Odontología, de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, MsC. Silvia Reinoso certifico que la Srta. Maria Andrea Ortiz Timbi, con C.I. 171669811-1, se encuentra apta para la presentación del proyecto de investigación; **“ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA “*IN VITRO*” DEL ACEITE ESENCIAL Y EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL *Cinnamomum verum* “CANELA” SOBRE *Cándida albicans* CEPA ATCC 10231”**.

Y, para que conste a los efectos oportunos, expido el presente certificado, a petición de la persona interesada, el 25 de Octubre del 2017, en la ciudad de Riobamba.

Atentamente



Ms. C. Silvia Reinoso

DOCENTE – TUTOR DE LA CARRERA DE ODONTOLOGIA

DERECHO DE AUTORÍA:

Yo, María Andrea Ortiz Timbi, soy responsable de todo el contenido de este trabajo de investigación, los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.



María Andrea Ortiz Timbi

1716698111

AGRADECIMIENTO

Mis agradecimientos sinceros son para el Ingeniero Félix Falconí por su ayuda en el laboratorio de Biología Molecular – Genética e Investigación, en la obtención del aceite esencial, extracto alcohólico y antibiograma del *Cinnamomum verum* (canela) al Ing. Edison Bonifaz por su colaboración con el sistema SPSS y a la Ms.C. Silvia Reinoso por la tutoría del proyecto investigativo.

DEDICATORIA

El presente proyecto investigativo está dedicado primero a Dios por haberme dado la vida, ya que gracias a él he logrado culminar mis estudios. A mis padres, por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo incondicional, sus consejos sabios y por haberme inculcado y transmitido sus valores para hacer de mí una mejor persona, gracias querida madre por ser más que eso y estar el día a día a mi lado sin tu esfuerzo no hubiera sido posible. A mis hermanos y sobrinos por su compañía en mi camino. A mi amado esposo por su confianza, por su amor, por brindarme el tiempo necesario apoyándome para realizarme profesionalmente. A mi amada hija por ser mi fuente de motivación, por ser mi musa de inspiración para no decaer en los obstáculos del diario vivir y salir adelante, en estos momentos sé que no entenderás completamente mis palabras, pero cuando seas capaz te darás cuenta que todo el tiempo que sacrifique lejos de ti fue por el inmenso amor que te tengo para que tengas un futuro mejor; te amo.

RESUMEN

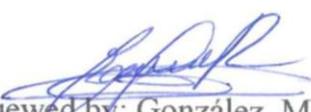
La finalidad del siguiente proyecto investigativo fue determinar la actividad antifúngica “*in vitro*” del aceite esencial y extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* (canela) sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231. El aceite esencial de canela, se obtuvo por el sistema de extracción de aceite; por la trampa de clewenger. Para realizar el estudio microbiológico mediante la técnica de dilución en caldo, se utilizó el aceite esencial de canela a concentraciones de 50.000ppm, hasta 1.500ppm, siendo diluidas en un “mix” Caldo Sabouraud Broth + DMSO+ aceite + *Candida albicans*, para posteriormente ser inoculados en cajas Petri. También se realizó la técnica de Kirby Bauer en concentraciones desde 12.500ppm hasta 2.500ppm diluidas en DMSO. El aceite fue comparado con fluconazol 150mg (Candifix 150mg) como control positivo, y como control negativo se utilizó H₂O destilada con DMSO. El extracto alcohólico de la *Cinnamomum verum* “canela”, se obtuvo por medio de un Rotavapor R-300 a una temperatura de 60°C con una inclinación del balón de 45° en el lapso de 2 horas y se realizaron concentraciones a partir de 50.000ppm hasta 5.000ppm. Luego de realizar las pruebas de sensibilidad “*in vitro*” se obtuvo que el aceite esencial presenta mayor actividad antifúngica frente a *Cándida albicans*, que el extracto alcohólico además presenta mayor actividad antifúngica que el medicamento utilizado como control positivo fluconazol 150mg (Candifix), con respecto al extracto alcohólico el hongo no presento sensibilidad alguna.

Palabras claves: *Cinnamomum verum*, *Cándida albicans*, trampa de clewenger, dimetilsulfòxido, fluconazol, Rotavapor R-300, actividad antifúngica.

ABSTRACT

The purpose of the following research project was to determine the "in vitro" antifungal activity of the essential oil and alcohol extract of *Cinnamomum verum* (cinnamon) on *Candida albicans* strain ATCC 10231. The essential oil of cinnamon was obtained by the oil extraction system; by the Clevenger trap. To perform the microbiological study using the broth dilution technique, the essential oil of cinnamon was used at concentrations of 50,000ppm, up to 1,500ppm, being diluted in a "Broth" Broth + DMSO + oil + *Candida albicans* broth mix, inoculated in Petri dishes. The Kirby Bauer technique was also performed in concentrations ranging from 12,500 ppm to 2,500 ppm in DMSO. The oil was compared with fluconazole 150mg (Candifix 150mg) as a positive control, and distilled H₂O with DMSO was used as the negative control. The alcoholic extract of *Cinnamomum verum* "cinnamon" was obtained by means of a Rotavapor R-300 at a temperature of 60 ° C with a 45 ° tilt of the balloon within 2 hours and concentrations were made from 50,000 ppm to 5,000 ppm. After performing the tests of sensitivity "in vitro", it was obtained that the essential oil has greater antifungal activity against *Candida albicans*, that the alcoholic extract also shows greater antifungal activity than the drug used as a positive control fluconazole 150mg (Candifix), with respect to the alcoholic extract the fungus did not present any sensibility.

Key words: *Cinnamomum verum*, *Candida albican*, clevenger trap, dimethylsulfoxide, fluconazole, Rotavapor R-300, antifungal activity.


Reviewed by: González, Marcela
Language Center Professor



ÍNDICE DE CONTENIDO

PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL	II
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD	III
DERECHO DE AUTORÍA:	IV
AGRADECIMIENTO	V
DEDICATORIA	VI
ABSTRACT.....	VIII
INDICE DE CONTENIDO	IX
INDICE DE TABLAS	XII
INDICE DE FOTOS	XIV
INDICE DE GRÁFICOS	XV
1.INTRODUCCIÒN	1,2,3
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
3. JUSTIFICACION.....	5
4. OBJETIVOS	6
4.1. Objetivo General	6
4.2. Objetivos Específicos.....	6
5. MARCO TEÓRICO.....	7
5.1.2 Descripción general.....	7
5.1.3 Clasificación taxonómica	7
5.1.4 Composición química.....	8
5.1.5 Propiedades medicinales	8
5.1.6 Compuestos Químicos.....	9
5.1.7 Actividad Farmacológica.....	9

5. 1.8	Usos	10
5. 2	<i>Candida albicans</i>	10
5. 2.1	Descripción	10
5. 2.2	Anatomía patológica y patogenia:	10
5. 2.3	Taxonomía	11
5. 2.4	Ecología	12
5. 2.5	Tratamiento	12
5. 3	Aceites Esenciales	12
5.3.1	Propiedades	13
5. 3.2	Importancia	13
5.3.3	Localización y distribución	14
6.	METODOLOGÍA	15
6. 1.	Materiales y Métodos	15
6. 2.	Tipo de Investigación	15
6. 3.	Unidades de Estudio	15
6. 4.	Contexto temporal y geográfico	15
6. 5.	Universo	15
6. 6.	Tipo de muestreo	15
6. 7.	Variables	16
6.7.1.	Operacionalización de variables	16
6.8	Procedimiento y técnicas.....	19
6.8.1	Obtención del extracto alcohólico del <i>Cinnamomum verum</i> (canela)	19
	Recolección de muestras	19
	Procesado de la muestra	19
	Secado y corte de la planta:	19

6.9. Obtención del aceite esencial de <i>Cinnamomum verum</i> (canela)	22
Obtención de la planta:.....	22
6.10. Procesado de la muestra	22
6.11. Obtención de muestra de <i>Candida albicans</i>	23
6.12. Evaluación de la actividad del aceite esencial de <i>Cinnamomum verum</i> (canela) ..	24
6.13. Cultivo y Método de Kirby Bauer (difusión en disco).....	26
8. RESULTADOS.....	32
8.1. CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LA TECNICA DE DILUCION EN CALDO	32
8.2 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE DILUCIÓN EN CALDO	33
8.4 CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LA TECNICA DE KIRBY BAUER ..	34
9. ANALISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE SISTEMA SPSS.....	39
9.1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE DILUCIÓN EN CALDO	40
9.2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER CON SUS 3 REPETICIONES	41
9.3 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE DILUCIÓN EN CALDO	42
9.4 RESULTADOS OBTENIDOS EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL <i>Cinnamomum verum</i> (CANELA).....	43
9.5 RESULTADOS DE HALOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER EN ACEITE ESENCIAL DEL <i>Cinnamomum verum</i> (CANELA).....	44
9.6 RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS MEDIANTE LA TECNICA DE DILUCIÓN EN CALDO	45
9.7 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER EN SU REPETICION 1	46
9.8 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TECNICA DE KIRBY BAUER EN SU REPETICION 2	47

10. DISCUSIÓN	49
11. CONCLUSIONES	53
12. RECOMENDACIONES	54
13. BIBLIOGRAFIA:.....	55
35. ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. Datos generales <i>Cinnamomum verum</i> “Canela”	9
Tabla N° 2. Compuestos Químicos del <i>Cinnamomum verum</i> (canela).....	9
Tabla N° 3. Taxonomía <i>Candida albicans</i>	11
Tabla N° 4. Actividad antifúngica “ <i>in vitro</i> ” del aceite esencial y extracto alcohólico del <i>Cinnamomum verum</i> “canela”	16
Tabla N° 5. <i>Candida albicans</i>	16
Tabla N° 6. Criterios de inclusión y exclusión.....	17
Tabla N° 7. Recursos.....	17
Tabla N° 8. Materiales Generales	17
Tabla N° 9. Materiales para la activación del hongo y antibiograma	18
Tabla N° 10. Características organolépticas aceite extraído:	23
Tabla N° 11. Concentraciones realizadas: extracto alcohólico	26
Tabla N° 12. Concentraciones aceite esencial “canela”	28
Tabla N° 13. Concentraciones aceite esencial a partir de 2.500ppm	28
Tabla N° 14. Fórmula para establecer las concentraciones del aceite esencial.....	29
Tabla N° 15. Actividad de los aceites esenciales según Duraffourd y Lapraz 1983	32
Tabla N° 16. Concentraciones del aceite esencial en caldo sabouraud broth	32

Tabla N° 17. Determinación del grado de sensibilidad frente a diferentes concentraciones	33
Tabla N° 18. Concentraciones del aceite esencial Técnica Kirby Bauer	34
Tabla N° 19. Prueba de actividad del aceite esencial por el método de Kirby Bauer	35
Tabla N° 20. Resultados sensibilidad según Duraffourd y Lapraz	36
Tabla N° 21. Resultados obtenidos del extracto alcohólico.....	38
Tabla N° 22. Valor de las medias en 3 Repeticiones Técnica Dilución en Caldo	39
Tabla N° 23. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 2	41
Tabla N° 24. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 3.....	43
Tabla N° 25. Medición del halo inhibitorio	44
Tabla N° 26. Concentraciones aceite esencial y su nivel de crecimiento	45
Tabla N° 27. Nivel de Crecimiento del halo T2R1	46
Tabla N° 28. Nivel de Crecimiento del halo T2R2	47
Tabla N° 29. Nivel de Crecimiento del halo T2R3	47

INDICE DE FOTOS

Foto N° 1. <i>Cinnamomum verum</i>	19
Foto N° 2. Alcohol 96% en <i>Cinnamomum verum</i>	20
Foto N° 3. Rotavapor de buchi	21
Foto N° 4. Filtrado papel Whatmann	21
Foto N° 5. Aceite esencial Trampa de clevenger	22
Foto N° 6. Colonias de <i>Candida albicans</i>	24
Foto N° 7. Método de Kirby Bauer	25
Foto N° 8. Estudios microbiológicos en la incubadora	27
Foto N° 9. Concentraciones aceite esencial	29
Foto N° 10. Técnica de Kirby Bauer aceite.....	30

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1. Valor de las medias en Repeticiones de Dilución en Caldo.....	39
Gráfico N° 2. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 2	42

INTRODUCCIÓN

La Cavidad oral es una zona anatómica importante con indiscutibles funciones en el organismo, constituye la mayor parte del aparato estomatognático y está sujeta a infecciones micóticas en particular infecciones producidas por *Candida albicans*, microorganismo que lo encontramos en el medio ambiente de forma libre. El hombre se halla formando parte de la microbiota normal de la cavidad oral (lengua, paladar, mucosa oral), el tubo digestivo, la vagina, el tracto respiratorio y también en piel donde anida frecuentemente en los pliegues naturales, considerados sitios de mayor humedad¹.

Candida albicans es considerado un factor frecuente de la microflora oral, aislándose entre el 30 al 50 % de la población. Esto ha determinado, estudios sobre este hongo, incluyendo aspectos bioquímicos, microbiológicos y otros factores de orden local como serían las prótesis odontológicas. Es un microorganismo saprofito y pueden causar patología en el hombre dada la capacidad del hongo para colonizar, invadir y multiplicarse en diferentes órganos y tejidos causando un cuadro clínico de micosis dependiendo de las condiciones en el huésped².

La micosis comúnmente las encontramos en la mucosa bucal, siendo causado esencialmente por *Candida albicans*, son raras las veces que son producidas por otras especies de *Candida*, esto se observa particularmente en recién nacidos, infantes y pacientes que presentan factores predisponentes para el desarrollo de la candidiasis siendo la más resaltante una higiene bucal deficiente³.

Cándida albicans es una variedad de hongo muy frecuente, se vuelve patogénico por una serie de factores predisponentes y tiene comportamiento aerobio; son infecciones micóticas orales más habituales. Actualmente su incidencia está en aumento en los países desarrollados debido a diferentes factores como el uso de prótesis dentales, la xerostomía, las múltiples terapias con antibióticos, inmunosupresores etc. e incluso la mayor supervivencia de los pacientes con inmunodeficiencias³.

En el Ecuador alrededor del 70% de la población entre colonos, campesinos, indígenas nativos y pobladores urbanos marginales, recurren al uso de plantas medicinales para

curar las enfermedades y aliviar el sufrimiento físico. A pesar de esta importante tradición farmacológica se desconoce el potencial terapéutico de estos recursos. Existen escasos estudios fitoquímicos y microbiológicos que justifiquen o descarten las prácticas médicas tradicionales empleadas en diversas enfermedades⁴.

Candida albicans, es la especie de mayor importancia clínica y la más comúnmente aislada en la cavidad bucal produciendo candidiasis oral, que es una enfermedad que afecta sobre todo a pacientes inmunosuprimidos (VIH), diabéticos y mujeres embarazadas.^{5,6} La candidiasis oral, fue asociada al primer paciente de VIH, siendo esta la más frecuente infección antifúngica presente a nivel orofaríngeo.^{5,6} La candidiasis hoy en día se la define como “la enfermedad del paciente enfermo”, ya que existen diversos factores que van a facilitar el desarrollo de la enfermedad.^{7,8}

La especie más importante desde el punto de vista médico odontológico como agente etiológico de infección es *Candida albicans*, aunque de la cavidad bucal han sido aisladas otras especies como son: *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*, *C. seudotropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*.⁸

En una boca en perfecto estado higiénico se encuentran un número infinito de bacterias y otros organismos en vida saprofita, y con ellas las distintas especies de *Candida*, pero sin desarrollar alteración patológica, de modo que tienen que incidir elementos anormales para quebrar este estado de acciones y reacciones y se motive la proliferación micótica patógena⁹.

Hoy en día tenemos medicamentos de fácil acceso, pero presentan cierto grado de toxicidad lo que es importante debido a la resistencia, razón por la cual se está procurando indagar en nuevos agentes terapéuticos efectivos³⁵ y que brinden seguridad¹⁰. La naturaleza es importante, hacer uso de ella a través de las plantas medicinales netamente con fines curativos es una práctica que se viene manejando desde tiempos antes de Cristo, ya que estos constituyeron uno de los principales recursos disponibles y en mayor abundancia¹¹.

Muchos compuestos que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de los

microorganismos son obtenidos de fuentes naturales como animales, plantas y microorganismos¹².

Debido a que en diversas investigaciones a nivel mundial se han establecido que muchas plantas aromáticas entre ellas la canela poseen actividad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e inclusive con efectos insecticidas; y considerando que la presencia del compuesto de cinamaldehído en el aceite natural, se analiza diferentes tipos de estudios para comprobar su eficacia^{13, 14}.

Las plantas medicinales son muy importantes, su uso empezó en el siglo V por “Hipócrates y Galeno”, desde épocas antes de Cristo hasta hoy en día, siendo importante debido a la presencia de componentes naturales que sirven para la curación de diferentes tipos de enfermedades, teniendo en cuenta que al igual que los medicamentos fabricados tienen efectos secundarios, de igual forma muchos presentan varios^{15,16}.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La cavidad oral está constituida por un ambiente que favorece a la colonización de microorganismos oportunistas como es el hongo *Candida albicans*, siendo la principal causa de candidiasis oral.¹¹, en estudios realizados en el estado de Yucatán se ha demostrado que *Candida albicans* está presente en la cavidad bucal en pacientes con cáncer , en este estudio se tomó 151 pacientes los cuales se sometieron a exámenes dando como resultado en 90 pacientes un (59,6%) cultivos positivos a *Candida albicans* mientras que los 76 restantes que es un (50,3%) se identificó *C. albicans* por lo cual se demuestra que *Candida albicans* es el principal factor etiológico de cáncer, cabe recalcar que este hongo estaba presente en pacientes sintomáticos y asintomáticos.¹⁷

Existe una gran cantidad de agentes antimicóticos, entre estos tenemos el fluconazol, en estudios realizados por Fernández Carlos, Martínez M Gerardo., Ilnait Z.María, Perurena L. Mayda, Águila S. Adalberto y Brito G. Miguel se ha demostrado su acción efectiva frente a la candidiasis oral.¹³ Por ello es necesario evaluar sustancias a base de aceites esenciales de plantas como *Cinnamomum verum* ya que en investigaciones con otras plantas medicinales se ha logrado comprobar la eficacia de sus propiedades antifúngicas.¹⁴ Es importante el estudio de la Candidiasis oral; para así obtener un adecuado diagnóstico, pronóstico y realizar un buen tratamiento.¹⁵

En esta investigación se analizará si el aceite esencial *Cinnamomum verum* (canela) y el extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* (canela) tiene mayor actividad antifúngica sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231 tanto en su forma concentrada como diluida.

3. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto investigativo es de gran importancia tanto académicamente como a nivel social, logrando aportar el conocimiento científico necesario sobre la importancia del uso de las plantas medicinales, sus propiedades y cada uno de sus beneficios mediante la investigación. Los cuales pueden ser medios alternativos de prevención y tratamiento de las patologías más frecuentes de la cavidad oral; como es la candidiasis oral. Logrando de una manera eficaz la elaboración de fármacos naturales como son colutorios a base de aceites esenciales, los cuales en su composición tengan compuestos químicos propios de esta planta, teniendo en cuenta los beneficios de la medicina empírica. Hay que tener en cuenta sus propiedades antifúngicas sobre hongos existentes¹⁷. Permitiendo llegar a poblaciones de bajos recursos económicos donde el costo sea accesible en el tratamiento para el control adecuado de los microorganismos presentes en la cavidad bucal. El uso de la medicina empírica por medio de plantas naturales data muchos siglos atrás, siendo su uso cada vez más amplio en el día a día, tanto en medicina como en odontología, en la actualidad existe poca información científica acerca de la importancia de las plantas naturales, brindando por medio de esta investigación la información necesaria. Se considera que en la actualidad que “4 pacientes de cada 1000” llegan a la consulta odontológica por la afección conocida como candidiasis oral.¹⁷ La candidiasis afecta a más de 250.000 personas por año en todo el mundo provoca más de 50.000 muertes, La distribución geográfica de esta micosis es universal y más de 70 % de ellas son producidas por *C. albicans*¹⁸. El control de patógenos con aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas es un campo poco explorado en nuestro país, aunque por muchos años haya evidencia del conocimiento en las propiedades de las plantas aromáticas y sus múltiples usos.¹⁹ El empleo de estas plantas y su uso han sido de forma muy artesanal.²⁰ En el Ecuador es indiscutible el papel que desempeña el conocimiento ancestral relacionado con la naturaleza, especialmente por su contribución en el desarrollo sostenible. Es así que se convierte en una prioridad el impedir que este cúmulo de conocimientos tradicionales desaparezca²⁰.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Determinar la actividad antifúngica “*in vitro*” de aceite esencial y extracto alcohólico

de *Cinnamomum verum* “Canela” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231.

4.2. Objetivos Específicos

- Comparar la actividad antifúngica “*in vitro*” del aceite esencial y extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* “Canela” con el flucozanol 150mg sobre *Cándida albicans*

cepa ATCC 10231

- Conocer el grado de sensibilidad que presenta *Cándida albicans* frente al aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela), mediante la técnica de Kirby Bauer.

- Identificar la concentración mínima inhibitoria CMI del aceite esencial y extracto alcohólico *Cinnamomum verum* “Canela” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231.

- Analizar estadísticamente los resultados obtenidos con el aceite esencial y extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* (canela) mediante el sistema SPSS.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 *Cinnamomum verum* (CANELA)

5.1.1 Hábitat y distribución geográfica

Esta planta es originaria de Ceilán y suroeste de la India. Está presente en climas cálidos, semicálidos, semisecos y templados, entre los 100 y 200 msnm. Cultivado en huertos familiares, solares o presente en terrenos de cultivo abandonados, asociada a vegetación secundaria derivada de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio, subperennifolio y perenifolio, además del bosque mesófilo de montaña y bosque de pino.²¹

5.1.2 Descripción general

Cinnamomum verum “Canela” pertenece a la familia Lauraceae es un pequeño árbol que alcanza entre 3 y 10 m. de altura; su tronco suele llegar a los 50 cm de diámetro. Sus ramas no son redondas, sino que presentan cuatro aristas romas, sólo erectas en su parte superior; están recubiertas por dos cortezas: una de color blanco amarillento y otra más esponjosa e intensamente aromática. Sus hojas, de colores verde amarillento, brillantes, ovalados u oblongos, miden 15 a 20 cm de largo; presentan punta algo coriácea y una fina retícula por el envés, sobre todo cuando son jóvenes. Las flores son terminales, blancas o purpúreas, pequeñas y sedosas. Las hojas también presentan aroma y sabor típicos de la canela, mientras que el olor de sus flores resulta desagradable. El fruto es una baya de tamaño de un guisante, de color azul o negro y sabor picante cuando está verde; en su interior contiene usualmente dos semillas.²¹

5.1.3 Clasificación taxonómica

Reino: Vegetal

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dicotiledoneae

Orden: Laurales

Suborden: Magnoliineae

Familia: Lauraceae

Género : *Cinnamomum*

Especie: *Cinnamomum verum*

Nombre Popular: Canela de Ceilán, *cinamomo*. Canyella, Kanelondo, Caneleiro, Canelle, Zimt, *Cinnamon*, Cannella.

5.1.4 Composición química

Los principales componentes del aceite esencial (0,5-2%) de la corteza son: Aldehído cinámico (50-80%), eugenol (9- 10%), safrol (0-11%), linalol (10-15%), contiene otros fenilpropanoides (aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, alcohol cinámico y su acetato) y terpenos (limoneno y α -terpineol). Mientras que en las hojas el eugenol está presente en un 80%.²¹

5.1.5 Propiedades medicinales

Según la medicina tradicional *Cinnamomum verum* “canela” es usado como estimulante, aromático, aperitivo, emenagogo, astringente, carminativo, digestivo, para ayudar a la secreción de jugo gástrico, en el tratamiento de náuseas, vómito, reumatismo, gripe, hipertensión y malestares femeninos. También se le atribuyen propiedades afrodisiacas y acción contra las hemorragias, antirreumática, antiséptica, antidiarreica.²²

Asimismo propiedades como espasmolítico, antibacteriano, antihelmítico, dispepsia, flatulencia, anorexia, cólico intestinal, fungicida, antioxidante, antiulcerogénico, inflamaciones de la boca y la faringe, diarreas infantiles, influenza, debilidad, convalecencia y externamente para tratar heridas.²³

Las inhalaciones del vapor de agua hirviendo con 5 gotas de aceite de canela se utilizan para combatir la tos y la irritación respiratoria. La dilución de 10 ml de aceite de canela en 25 ml de aceite de almendras o de girasol aplicada en forma de masaje se emplea

contra cólicos abdominales, enfriamiento estomacal y diarrea. Las compresas con decocción o tintura de canela se usan para aliviar los dolores artríticos y reumáticos.²⁴

Tabla N° 1. Datos generales *Cinnamomum verum* “Canela”

Nombre Botánico: *Cinnamomum verum*

Nombre Comunes: Canela de Ceilán, *Cinnamon tree*, canelo, Canelero de ceilan

Clasificación botánica: : Familia Lauráceae (familia del aguacate)

Origen: China isla (Ceilan) crece espontáneamente en sus bosques. La encontramos en el sur de india y en diversas zonas de América tropical.

Fuente: Plantas medicinales. Manizales: Universidad de Caldas; 2006.
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

5.1.6 Compuestos Químicos

Tabla N° 2. Compuestos Químicos del *Cinnamomum verum* (canela)

Aceites volátiles: cinamaldehido, cinamil-alcohol, o-metoxicinamaldehido, ácido cinámico. Diterpenos: cinnzelanol, cinnzeylanina
Proantocianidinas oligomericas
Hasta 10% de aceites volátiles
Taninos.
Mucilago y Azúcar

Fuente: Plantas medicinales. Manizales: Universidad de Caldas; 2006.
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

5.1.7 Actividad Farmacológica

La canela es muy conocida por sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas, de igual manera como estimulante estomacal; debido a la presencia de cinamaldehido el cual se considera el principal componente farmacológico que permite la presencia de actividad

antifúngica, demostrándose mediante estudios realizados su vital importancia en la inhibición del crecimiento de algunos tipos de hongos como *fusarium moniliforme*, también se ha observado resultados favorables para el *Helicobacter pylori*, de igual forma se ha demostrado su capacidad antioxidante.²⁵

5.1.8 Usos

La principal parte utilizada de la canela es su corteza de la cual se la cultiva de su interior obteniéndose tallitos que sirven para condimentos culinarios; esta puede ser transformada en polvo para un similar uso. De igual manera las raíces, hojas y la misma corteza son utilizadas para la extracción de aceites esenciales para un fin medicinal, comercial y aromático.²⁶

5.2 *Candida albicans*

5.2.1 Descripción

Candida albicans viene del griego Candidus que significa blanco y albicare significa blanca, este es un hongo dimorfo asexual y saprófito, viene de la familia de los Sacaromicetos. Está formando células gemantes subesféricas estas llegan a medir alrededor de 3-7 x 2-6 μm , estas células tienen una función muy importante en la digestión, asimilando y fermentando los azúcares. Se caracteriza por presentar crecimiento rápido, sus colonias presentan forma circular de consistencia pastosa, se caracteriza por su olor a levadura, la encontramos presente en la cavidad bucal en los tractos digestivo y respiratorio al igual que la vemos presente en la vagina.²⁷

5.2.2 Anatomía patológica y patogenia:

Cándida albicans presenta una serie de factores de patogenicidad que facilitan la colonización y la infección del hospedador. Entre ellos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentoso, el cual favorece la evasión de los mecanismos defensivos del hospedador. También existen otros tipos de factores de patogenicidad, tales como²⁷:

a) Adhesinas: Que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos utilizados en medicina, como las prótesis y los catéteres.

b) Proteinasa y fosfolipasas: Las cuales corresponden a enzimas que favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador.

c) Tigmotropismo: Que permite encontrar discontinuidades entre las células y penetrar en los tejidos.

d) Producción de toxinas y sustancias inmunosupresoras.

Cabe señalar que la pared celular de *C. albicans* es esencial para su patogenicidad desde el momento en que esta, es requerida para su crecimiento. Además la pared celular le proporciona rigidez y protección a esta especie. La adherencia de este hongo es superior a la de otras especies de *Cándida* y es aumentada por la existencia de una lesión epitelial por los carbohidratos y por la disminución de la flora bacteriana saprofita. Estos factores de patogenicidad están controlados por diferentes genes que se expresan en un número determinado y momento concreto y que determinan el fenotipo y patogenicidad de cada aislamiento, entre los genes asociados a éstos se encuentra el gen de la hexosaminidasa (HEX1), también se encuentran genes de proteínas aspárticas (SAP1, SAP2, SAP3, SAP4) y un gen que confiere capacidad de producir tubos germinales y aumentar la adhesión.²⁷

5.2.3 Taxonomía

Tabla N° 3. Taxonomía *Candida albicans*

Reino: Fungí
Clase: <i>Saccharomycetes</i>
Orden: <i>Saccharomycetales</i>
Familia: <i>Saccharomycetaceae</i>
Género: <i>Candida</i>
Especie: <i>C. albicans</i>

Fuente: De schimmelgeslachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*.
Elaborado por: (C.P.Robin) Berkhout 1923

5.2.4 Ecología

Candida albicans se presenta en seres vivos de sangre caliente, estando está asociada a pacientes inmunosuprimidos, se la considera de gran importancia por presentarse en el tracto respiratorio al igual que el digestivo, presenta un crecimiento favorable cuando está en una temperatura de 37°C, este hongo no sobrevive en un ambiente seco por lo cual necesita de humedad. ²⁷

La Candidiasis también se produce en personas de la tercera edad las cuales usan frecuentemente prótesis dentales, también en pacientes diabéticos al igual se presenta en mujeres en el aparato genital femenino refiriéndose como candidiasis vaginal, *Candida albicans* suele afectar de igual manera en la piel y uñas. ²⁷

5.2.5 Tratamiento

El tratamiento para las candidiasis va depender de cada tipo de paciente lo importante es eliminar la fuente de la infección, controlando las enfermedades adyacentes que causen este tipo de infección. Un aspecto importante es el uso de antimicóticos, como el flucozanol, el cual es recomendado para el tratamiento de candidiasis invasoras. ²⁷

5.3 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son productos volátiles de naturaleza compleja, elaborados por ciertos vegetales a los que confieren un aroma agradable. Oficinalmente, se denominan aceites esenciales los productos que se pueden obtener por arrastre con corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio de ciertos frutos. Habitualmente, también se denominan esencias, pero esta denominación es mucho más amplia, ya que engloba aceites esenciales y a otras sustancias obtenidas por métodos extractivos bastante diversos. Los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente aunque algunos solidifican a baja temperatura como por ejemplo, la esencia de anís. Algunos aceites esenciales son inflamables. Poseen índices de refracción elevados y

presentan actividad óptica (desvían el plano de la luz polarizada, tienen poder rotatorio).^{28,29}

5.3.1 Propiedades

a) Color: La mayoría son prácticamente transparentes, incoloro o ligeramente coloreados (amarillentos) con excepciones como la esencia de manzanilla, que contiene camazuleno de un intenso color azul.²⁹

b) Olor: El olor de los aceites volátiles es muy variable, es su propiedad más característica; y es muy sensible ante la exposición al aire.²⁹

c) Sabor: Son casi tan variables como sus olores. Algunos son dulces, otros tienen sabores suaves, picantes, ácidos, cáusticos o ardientes.²⁹

d) Densidad: Generalmente, son menos densos que el agua aunque también hay excepciones como las esencias del clavo de olor y de canela que son más densas.²⁹

e) Deterioro: Se oxidan con facilidad y polimerizan dando productos resinosos. La exposición a la luz y el aire deterioran la calidad y destruyen su fragancia. Se deben almacenar en botellas de color ámbar bien llenas tapadas y colocadas en lugar fresco.²⁹

f) Solubilidad: Los aceites esenciales suelen ser insolubles en agua (aunque hay ciertas esencias que son parcialmente solubles porque alguno de sus componentes se solubilizan, como por ejemplo los fenoles). Son lipófilos y solubles en disolventes orgánicos apolares (hexano, éter etílico, etc.). La solubilidad en alcohol es variable y siendo solubles en alcoholes de alta graduación²⁹

5.3.1. Importancia

Los aceites esenciales son de gran importancia a nivel económico, debido al fácil acceso que presentan las plantas en su cosecha. Por lo cual la gente se dedica al cultivo de plantas aromáticas teniendo un buen ingreso por su costo elevado en el mercado. Algunos países se dedican al cultivo exclusivo de estas plantas siendo este uno de los principales ingresos presentes. Resultando más óptimo vender el aceite esencial que una planta aromática; triplicando su precio, logrando buenos recursos.³⁰

5.3.3 Localización y distribución

Se encuentran casi exclusivamente en vegetales superiores, concretamente en ciertas familias de Angiospermas, de las cuales cabe destacar: ³⁰

Coníferas: Pinus sp.

Apiáceas ó Umbelíferas: Anís, hinojo.

Labiadas o Lamiáceas: menta, melisa, lavanda.

Lauráceas: Canela.

Asteráceas ó Compuestas: Manzanilla.

Mirtáceas. Eucalipto, Clavo.

Rutáceas: Cítricos.

Los aceites esenciales se acumulan en cavidades secretoras, en células, en pelos secretores, canales secretores, etc.

6. METODOLOGÍA

6.1. Materiales y Métodos

6.2. Tipo de Investigación

- Observacional-Experimental:** Porque se trata de un análisis “in vitro”, valorando la actividad del aceite esencial y extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* (canela) sobre el hongo.

6.3. Unidades de Estudio

- Biológico: Aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela)
- Microbiano: *Candida albicans* cepa ATCC 10231

6.4. Contexto temporal y geográfico

El siguiente proyecto investigativo será realizado en el laboratorio biología molecular y genética de la Universidad Nacional De Chimborazo, en la ciudad de Riobamba en los meses de enero, febrero, marzo, abril, mayo, junio, julio, agosto, septiembre y octubre del año 2017.

6.5. Universo

La actividad antifúngica “in vitro” del aceite esencial y extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* (Canela), fue valorado a través de la reacción del hongo *Cándida albicans* presente en la cavidad bucal mediante el antibiograma.

6.6. Tipo de muestreo

Cándida albicans cepa ATCC 10231

6.7. Variables

6.7.1. Operacionalización de variables

Tabla N° 4. Actividad antifúngica “*in vitro*” del aceite esencial y extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* “canela”

Conceptualización	Categoría-			
	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
La actividad antifúngica se da por la sustancia que tiene la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos.	Actividad antifúngica “ <i>in vitro</i> ”	Medición de halos inhibitorios	Observación Experimentación	Bitácora de laboratorio
	Aceite	Nada Poco Medio Alto		
	Extracto alcohólico			
		Diluciones		

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Tabla N° 5. *Candida albicans*

Conceptualización	Categoría-			
	Dimensión	Indicador	Técnica	Instrumento
Es un hongo diploide asexual (forma de levadura) y saprófito.	Hongo diploide asexual	Predisposición Factores Humedad	Observación Experimentación	Bitácora de laboratorio
	Produce Candidiasis			

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Tabla N° 6. Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión	Exclusión
Cepas puras de <i>Cándida albicans</i> sin contacto con contaminantes ni fármacos. Aceite esencial y extracto alcohólico de <i>Cinnamomum verum</i> (canela), obtenido en el laboratorio de bioquímica y genética de la UNACH.	Cepas de hongos no pertenecientes a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231 Otro derivado del aceite esencial y extracto alcohólico de <i>Cinnamomum verum</i> (canela).

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Tabla N° 7. Recursos

Recursos Ambientales	Recursos Humanos
Apoyo en la preparación del extracto alcohólico y aceite esencial de <i>Cinnamomum verum</i> (canela) por el Laboratorio de bioquímica y genética de la UNACH	Microbiólogos Odontólogos

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Tabla N° 8. Materiales Generales

Materiales y equipos para extraer el extracto alcohólico	Materiales y equipos para extraer el aceite esencial	Materiales y equipos para la preparación de medios de cultivo
Rotavapor buchi	Olla de presión	Medios de cultivo Agar sabouraud con cloranfenicol
Canela molida	Tallos (Canela)	Gradillas
Balanza	Balanza	Balanza
Botellas ámbar	Botellas ámbar	Mascarillas , guantes
Refrigeradora	Refrigeradora	Refrigeradora
Vasos de precipitación	Refrigerante	Cajas petri
Alcohol industrial 96%	Cocina eléctrica	Esterilizador de calor seco (horno)
Papel filtro	Pipetas	Pipetas, probetas
Equipo de vortex		Autoclave

Matraces de 500ml	Mecheros
Probetas	DMSO
	Estufa (incubadora)
	Agua destilada
	Hisopos de laboratorio
	Triángulos de vidrio
	Asa
	Puntas amarillas, azules

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
 Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Tabla N° 9. Materiales para la activación del hongo y antibiograma

Hongo	Antibiograma
Cajas petri estériles	31 Cajas petris
Agar sabouraud dex. con cloranfenicol	100 Discos blank
Caldo de cultivo sabouraud both	150 Tubos de ensayo
<i>Candida albicans</i> Cepa ATCC10231	150 Hisopos de laboratorio
Mecheros	Aceite esencial de canela
	Extracto alcohólico de canela
	Fluconazol 150mg (Candifix)
	DMSO
	H ₂ O Destilada
	Incubadora

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
 Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

6.8 PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS

6.8.1 Obtención del extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* (canela)

6.8.2 Recolección de muestras

Obtención de la planta:

La planta de estudio, *Cinnamomum verum* “canela” fue adquirida en “San Alfonso” uno de los principales mercados de la ciudad de Riobamba en la provincia de Chimborazo, en una proporción de 3 kg.

Las cortezas fueron analizadas evitando que existan signos de algún tipo de enfermedad, que interfiera en el desarrollo del proyecto investigativo.

Foto N° 1. *Cinnamomum verum*



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Procesado de la muestra

Secado y corte de la planta:

Se procedió a cortar los tallos en pedazos pequeños, para luego dejar secar durante siete días, expuestos a condiciones naturales.

Molido de la planta:

Una vez obtenido los tallos secos de la planta, se procedió al molido de la misma, con un molino de mano. Obteniendo *Cinnamomum verum* (canela) pulverizada, para así colocar el solvente orgánico, colocándose en un frasco de vidrio color ámbar para su posterior utilización.

Colocación del solvente orgánico:

Se procedió a colocar el solvente orgánico agregando 1 litro de alcohol al 96% dejando macerar durante 20 días, agitándolo en los 20 días de maceración, se colocó el frasco en un ambiente fresco y oscuro.

Foto N° 2. Alcohol 96% en *Cinnamomum verum*



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Filtrado de las muestras:

Se filtró 3 veces, con papel filtro Whatmann N° 41, utilizando una bomba de vacío para agitar el filtrado, obteniéndose un extracto purificado sin gérmenes.

Posterior al filtrado se colocó en un recipiente de vidrio de boca ancha colocándose en el Buche Rotavapor a 60°C durante 2 horas, obteniéndose los principios activos totales del extracto puro. Se obtuvo un peso de 20 ml de extracto alcohólico de *Cinnamomum*

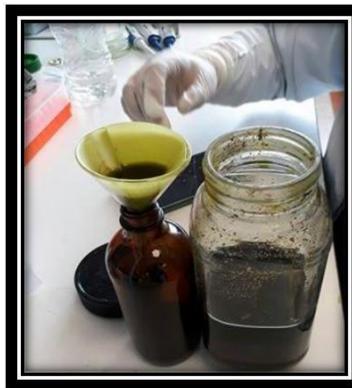
verum (canela), colocándose en un frasco ámbar para su conservación en refrigeración y su posterior utilización.

Foto N° 3. Rotavapor de buchi



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Foto N° 4. Filtrado papel Whatmann



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

6.9. Obtención del aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela)

Obtención de la planta:

La planta de estudio, *Cinnamomum verum* “canela” fue adquirida en “San Alfonso” uno de los principales mercados de la ciudad de Riobamba en la provincia de Chimborazo, en una proporción de 8kg.

Las cortezas fueron analizadas evitando que existan signos de algún tipo de enfermedad, que interfiera en el desarrollo del proyecto investigativo.

6.10. Procesado de la muestra

Corte de la planta:

Se procedió a cortar los tallos en pedazos pequeños, para luego colocarlos en la olla de presión con agua.

Técnica

Una vez colocada la planta en la olla de presión se colocó un refrigerante, el cual permitió obtener el aceite esencial del *Cinnamomum verum* (canela) por medio de la técnica de evaporación de gotas.

Foto N° 5. Trampa de Clevenger



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Extracción del aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela) del refrigerante:

Se procedió a extraer el aceite esencial obtenido por medio de la técnica de evaporación de gotas del refrigerante por medio de una pipeta.

Realizándose la extracción del aceite esencial en el lapso de dos semanas, con una cantidad de 10ml, posterior a esto se colocó el aceite esencial obtenido en un frasco color ámbar y colocándolo en un lugar fresco y refrigerándolo, para su posterior utilización.

Tabla N° 10. Características organolépticas aceite extraído:

ESPECIE VEGETAL	<i>Cinnamomum verum</i> (canela)
Aspecto	Líquido translúcido
Color	Marrón claro
Olor	Característico a la planta
Sabor	Picante

Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

6.11. Obtención de muestra de *Candida albicans*

Recolección

Se utilizó un microorganismo patógeno proporcionado por la Universidad Nacional del Chimborazo por el Laboratorio de Biología molecular y genética e investigación siendo esta *Candida albicans* cepa ATCC 10231

Preparación:

Se preparó agar saboraud colocándose en 9 en cajas Petri, se sacó la muestra de *Candida albicans* cepa ATCC 10231, la cual se encontraba en refrigeración en el laboratorio de bioquímica y genética de la Universidad Nacional del Chimborazo.

Posterior a esto se realizó la descongelación de la muestra de *Candida albicans*, para luego inocularla con un asa previamente esterilizada, colocando las muestras de

Candida albicans en las 5 cajas Petri previamente preparadas con agar sabouraud con cloranfenicol.

Las cajas petri sembradas fueron colocadas en la incubadora a 37°C en un lapso de 24 horas, logrando de esta manera obtener colonias de *Candida albicans*, para su posterior utilización.

Foto N° 6. Colonias de *Candida albicans*



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

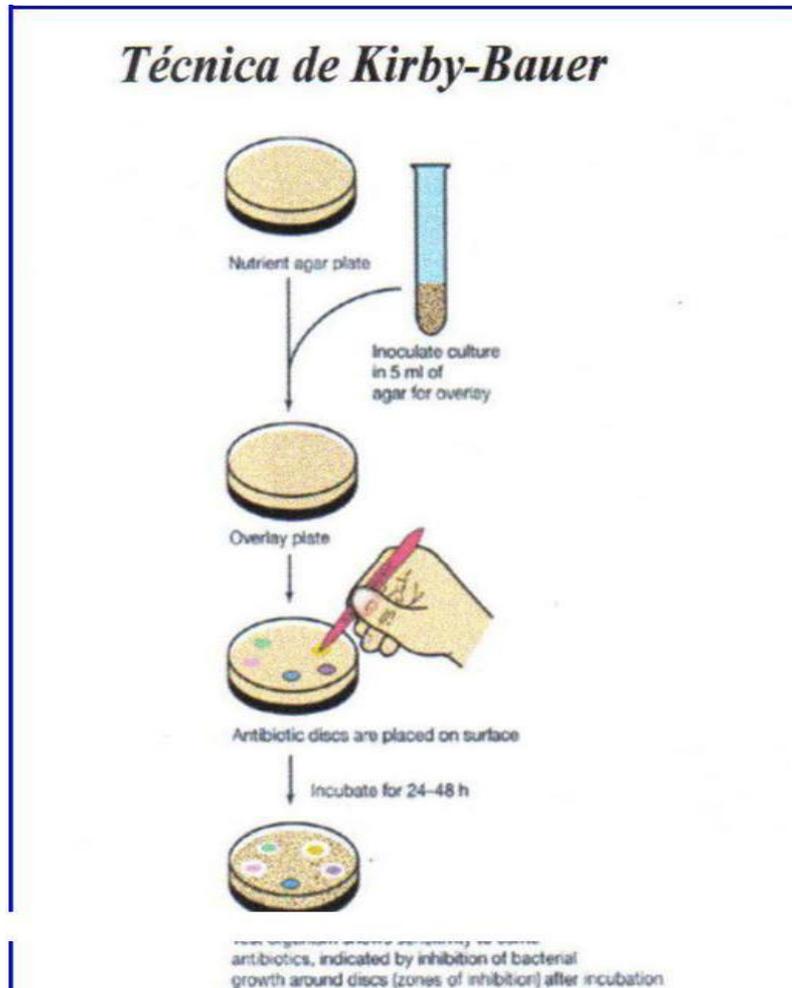
6.12. Evaluación de la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela)

La actividad antifúngica del aceite esencial y extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* (canela) fue evaluada mediante el método de Kirby Bauer o conocido también como antibiograma (difusión en disco).

Foto N° 7. Método de Kirby Bauer



Fuente: BIOMEDICA Vol. 4, No. 3 y 4 - 1984
Elaborado por: MAYE BERNAL R.. * MIGUEL GUZMAN U.**



Fuente: BIOMEDICA Vol. 4, No. 3 y 4 - 1984
Elaborado por: MAYE BERNAL R.. * MIGUEL GUZMAN U.**

6.13. Cultivo y Método de Kirby Bauer (difusión en disco)

Para este paso se esterilizó todos los materiales necesarios en autoclave y se usó una cámara de flujo laminar para asegurar que los procesos no se contaminen. Usando agar Sabouraud con cloranfenicol plaqueamos las 6 cajas Petri.

Se sacó de refrigeración el extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* (canela) en las concentraciones realizadas: 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm y 5.000ppm, las cuales fueron colocadas en discos blank con una absorción estándar por disco, también se preparó discos blank con la dilución del aceite esencial de canela en DMSO (Dimetilsulfóxido).

En las concentraciones realizadas 12.500ppm, 10.500ppm, 8.500ppm, 6.500ppm, 4.500ppm y 2.500ppm y se colocaron en las cajas Petri (inoculadas previamente con 0.1ml).

Los primeros 6 discos de extracto alcohólico los cuales correspondían a:

Tabla N° 11. Concentraciones realizadas: extracto alcohólico

1 disco al 50 µl extracto+950 µl DMSO = 50.000ppm
1 disco al 40 µl extracto+960 µl DMSO = 40.000ppm
1 disco al 30 µl extracto+970 µl DMSO = 30.000ppm
1 disco al 20 µl extracto+980 µl DMSO = 20.000ppm
1 disco al 10 µl extracto+990 µl DMSO = 10.000ppm
1 disco al 5 µl extracto+995 µl DMSO = 5.000ppm

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: Andrea Ortiz

Estos discos fueron impregnados con dichas soluciones para posterior a ellos ser colocados con unas pinzas previamente esterilizadas en 3 cajas petri inoculadas con *Cándida albicans*.

Se realizó al igual la preparación de un disco blank impregnado con un antimicótico Flucozanol 150mg (Candifix) el cual servirá para el control positivo de la experimentación.

1. 1 disco de 100mg fluconazol+900 µl H₂O destilada.

Se realizó al igual la preparación de un disco blank impregnado de DMSO con H₂O destilada el cual servirá para el control negativo

Después de haber colocado los discos impregnados con dichas soluciones se incubó a una temperatura de 37°C para su posterior lectura.

Foto N° 8. Incubación del microorganismo



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Después de haber realizado la técnica de Kirby Bauer en el extracto alcohólico se

realizó la misma técnica en el aceite esencial, se sacó de refrigeración el aceite esencial de canela en las proporciones realizadas:

Tabla N° 12. Concentraciones aceite esencial “canela”

12.500 ppm aceite esencial de Canela.
10.500 ppm aceite esencial de Canela.
8.500 ppm aceite esencial de Canela.
6.500 ppm aceite esencial de Canela.
4.500 ppm aceite esencial de Canela.
2.500 ppm aceite esencial de Canela.

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: Andrea Ortiz

Luego preparamos a partir de la mezcla 6 del aceite esencial 2.500 ppm 7 concentraciones más, debido a la falta de existencia de halos en la siembra realizada, siendo estos los siguientes:

Tabla N° 13. Concentraciones aceite esencial a partir de 2.500ppm

$1/2 = 1+1 \text{ DMSO} = 50 \mu\text{l (20/80)} + 50 \mu\text{l DMSO}$
$1/6 = 1+5 \text{ DMSO} = 50 \mu\text{l (20/80)} + 250 \mu\text{l DMSO}$
$1/32 = 1+31 \text{ DMSO} = 50 \mu\text{l (20/80)} + 1550 \mu\text{l DMSO}$
$1/64 = 1+63 \text{ DMSO} = 50 \mu\text{l (20/80)} + 3150 \mu\text{l DMSO}$

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: Andrea Ortiz

Foto N° 9. Concentraciones aceite esencial



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Luego empleamos la siguiente fórmula, para el cálculo exacto del aceite en discos:

$C_1V_1 = C_2V_2$ 12.500ppm se coge directo la proporción de 25 μ l DMSO en 75 μ l aceite

Aplicamos la fórmula en cada proporción obtenida de la siguiente manera:

Tabla N° 14. Fórmula para establecer las concentraciones del aceite esencial

$C_1 = 12.500\text{ppm}$	$V_1 = ? \quad V_1 = C_2V_2/C_1$
$C_2 = 10.500\text{ppm}$	$10.500\text{ppm} \times 100\mu\text{l aceite} / 12.500 =$
$V_2 = 100 \mu\text{l aceite (constante)}$	$V_1 = 84 \mu\text{l aceite} = 16 \mu\text{l DMSO}$

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: Andrea Ortiz

Las concentraciones se colocaron en tubos eppendorf para su posterior impregnación en los discos blank. Se preparó a continuación el medio de cultivo agar sabouraud con cloranfenicol. Para lo cual antes de la inoculación de *Candida albicans*, se realizó la prueba de Macfarland, siguiendo el siguiente procedimiento: Se preparó un tubo de ensayo con 5ml de suero fisiológico, y con una asa previamente esterilizada al rojo vivo se tomó una muestra de las colonias formadoras de *Candida albicans*, suspendiéndola en la solución, y agitándola en el vortex.

1) Se preparó un tubo de ensayo con 10 ml de H₂O destilada con 5 µl de leche de magnesio, para luego agitar con el vortex.

2) Se realiza una comparación observando que exista homogeneidad en las dos muestras.

3) Se procede a la inoculación en las cajas Petri previamente preparadas.

Luego del procedimiento previamente realizado se comenzó la colocación de los discos blank en las cajas Petri.

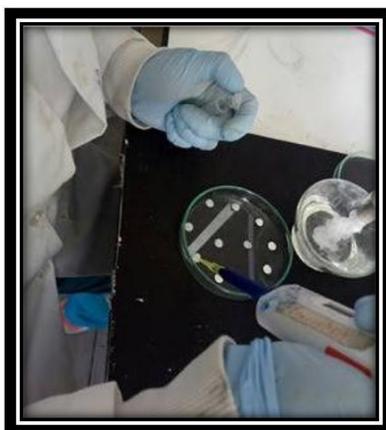
Estos discos fueron impregnados con dichas soluciones para posterior a ellos ser colocados con unas pinzas previamente esterilizadas en 3 cajas Petri inoculadas con *Cándida albicans*, para sus 3 repeticiones (R1, R2, R3)

Se realizó al igual la preparación de un disco blank impregnado con un antimicótico Flucozanol 150 mg (Candifix) el cual servirá para el control positivo de la experimentación.

1 disco de 100mg fluconazol+900 µl H₂O destilada.

Se realizó al igual la preparación de un disco blank impregnado de DMSO con H₂O destilada el cual servirá para el control negativo

Foto N° 10. Técnica de Kirby Bauer aceite esencial nombre *Cinnamomum verum* (canela)



Fuente: María Andrea Ortiz Timbi
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Después de haber colocado los discos impregnados con dichas soluciones se incubó durante 36 horas a una temperatura de 37°C para su posterior lectura.

En el análisis de los resultados se establecerán pruebas estadísticas con el sistema SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), Excel y se utilizaran tablas tomadas de la literatura de Duraffourd y Lapraz (1983)²⁵ de la clasificación de los aceites esenciales.

8. RESULTADOS

Los resultados se basaron en los 3 tratamientos realizados; primero se realizó el tratamiento 1 (T1) el cual se basó en la técnica de dilución en caldo, se empleó 8 diluciones en diferentes concentraciones hasta esperar el crecimiento del hongo. Tabla N°16. El tratamiento 2 y 3 (T2-T3) se basó en la técnica de Kirby Bauer y se tomó en cuenta para el análisis de los resultados la clasificación de la actividad de los aceites propuesta por Duraffourd el cual en el año de 1983²⁵. Tabla N°15.

Tabla N° 15. Actividad de los aceites esenciales según Duraffourd y Lapraz 1983²⁵

Actividad de los aceites esenciales:
Nula (-) si fue inferior o es igual a 8 mm
Sensibilidad limite (Sensible = +) de 9 a 14 mm
Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm
Sumamente sensible (S.S. = +++) si fue igual o superior a 20 mm

Fuente: Aliaga Mamani P²⁵
Autor: Duraffourd y Lapraz 1983

8.1. CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LA TÉCNICA DE DILUCIÓN EN CALDO

Tabla N° 16. Concentraciones del aceite esencial en caldo sabouraud broth

N° Tratamiento y concentración	Volumen (µl) aceite esencial	Solvente (DMSO) (µl)	Mix =Caldo sabouraud (µl) + (aceite+DMSO)
T1= 50.000ppm	300 µl	300 µl	900 µl +100 µl
T2= 40.000ppm	250 µl	250 µl	920 µl +80 µl
T3= 30.000ppm	200 µl	200 µl	940 µl +60 µl
T4= 20.000ppm	150 µl	150 µl	960 µl +40 µl
T5= 10.000ppm	100 µl	100 µl	980 µl +20 µl
T6= 5.000ppm	75 µl	75 µl	990 µl +10 µl
T7= 2.500ppm	60 µl	60 µl	994 µl +6 µl

T8= 1.500ppm	30 µl	30 µl	998 µl +2 µl
--------------	-------	-------	--------------

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: Cada uno de los elementos mostrados en la Tabla N°16 corresponde a las concentraciones realizadas mediante el método en dilución en caldo considerando diferentes tipos de diluciones (mix) en cada concentración,

Análisis e Interpretación: Mediante las concentraciones establecidas de 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm y 1.500ppm se obtuvieron preparaciones (mix) para luego ser inoculadas en cajas Petri.

8.2 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN EN CALDO

Tabla N° 17. Determinación del grado de sensibilidad frente a diferentes concentraciones

N° Tratamiento	Concentración	Crecimiento (+) positivo	Actividad antifúngica	R ₁	R ₂	R ₃
T1	50.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T2	40.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T3	30.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T4	20.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T5	10.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T6	5.000ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T7	2.500ppm		Actividad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
T8	1.500ppm	+	+	+	+	+

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi.

Descripción: La Tabla N° 17 muestra los 8 tratamientos realizados mediante la Técnica de dilución en caldo, se encontró que en los T1 al T7 tuvieron actividad antifúngica debido a la falta de formación de colonias en las muestras realizadas. En el T8 el cual

tuvo una concentración de 1500ppm se observó la presencia de unidades formadoras de colonias (UFC).

Análisis e Interpretación: Se observó que mediante las concentraciones establecidas de 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm y 1.500ppm dio un resultado (+) en su concentración más baja 1.500ppm y en sus concentraciones más altas presento (-) ausencia de crecimiento comprobándose por sus 3 repeticiones experimentales que la Concentración mínima inhibitoria (CMI) corresponde a 1500ppm.

8.4 CONCENTRACIONES UTILIZADAS EN LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER

Tabla N° 18. Concentraciones del aceite esencial Técnica Kirby Bauer

N° Tratamiento y Concentración	Volumen (µl) aceite	Solvente (DMSO) (µl)
T1= 12.500ppm	75 µl	25 µl
T2= 10.500ppm	84 µl	16 µl
T3= 8.500ppm	68 µl	32 µl
T4= 6.500ppm	52 µl	48 µl
T5= 4.500ppm	36 µl	74 µl
T6= 2.500ppm	20 µl	80 µl
T7= 1.250ppm	50 µl	50 µl
T8= 625ppm	50 µl	150 µl
T9= 416ppm	50 µl	250 µl
T10= 312ppm	50 µl	350 µl
T11= 156ppm	50 µl	750 µl
T12= 78ppm	50 µl	1550 µl
T13= 39ppm	50 µl	3150 µl

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: Andrea Ortiz

Descripción: Cada uno de los elementos mostrados en la Tabla N° 18 corresponde a las concentraciones realizadas mediante el método de Kirby Bauer²⁵ considerando diferentes tipos de diluciones en DMSO (Dimetilsulfoxido) en cada concentración.

Análisis e interpretación: Las concentraciones obtenidas por medio de la Técnica de Kirby Bauer.

8.5. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER- MEDICIÓN DE HALOS INHIBITORIOS

Tabla N° 19. Prueba de actividad del aceite esencial por el método de Kirby Bauer²⁵

N° Tratamiento	Volumen (µl) aceite	Solvente (DMSO) (µl)	N° de discos	Halos R1 mm	Halos R2 mm	Halos R3 mm	Promedio final de halos mm
T1= (12.500ppm)	75 µl	25µl	3				
T2= (10.500ppm)	84 µl	16µl	3				
T3= (8.500ppm)	68 µl	32µl	3				
T4= (6.500ppm)	52 µl	48µl	3				
T5= (4.500ppm)	36 µl	74µl	3				
T6= (2.500ppm)	20 µl	80µl	3				
T7= (1.250ppm)	50µl	50µl	3				
T8= (625ppm)	50µl	150µl	3				
T9= (416ppm)	50µl	250µl	3	52 mm	51 mm	51 mm	51,333 mm
T10= (312ppm)	50µl	35µl	3	50 mm	49 mm	51 mm	50 mm
T11= (156ppm)	50µl	750µl	3	30 mm	31 mm	35 mm	32 mm
T12= (78ppm)	50µl	1550µl	3	22 mm	19 mm	19 mm	20 mm
T13= (39ppm)	50µl	3150µl	3	10 mm	14 mm	11 mm	12 mm
CONTROL POSITIVO:	<i>Candida albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presento crecimiento	Halo:	8mm	
CONTROL NEGATIVO:	H ₂ O+ DMSO	No presente	(-)	crecimiento			

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 19, se aprecia los promedios totales de los halos presentes en el método de difusión en disco a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela) frente a *Candida albicans* cepa ATCC 10231. Según los resultados obtenidos de las lecturas realizadas, el halo observado con mayor inhibición es el halo de 12500ppm de concentración con 52mm como promedio total entre sus 3 repeticiones. Por otro lado el de menor inhibición es el halo de una concentración 39 ppm con 12mm.

Análisis e Interpretación: Se observó que mediante las concentraciones establecidas de: 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm no presento ningún tipo de crecimiento; al contrario de las concentraciones más bajas que partieron de una concentración madre 2.500ppm 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm, presentando un crecimiento medio, se tomó como resultado (+) en su concentración más baja 39 ppm y en sus concentraciones más altas presento (-) ausencia de crecimiento .

8.6. RESULTADOS OBTENIDOS UTILIZANDO COMO LITERATURA A DURAFFOURD Y LAPRAZ²⁵

Tabla N° 20. Resultados sensibilidad según Duraffourd y Lapraz²⁵

N° Tratamiento	N° de discos	Halos R1 mm	Halos R2 mm	Halos R3 mm
T1(ppm)	3	+++	+++	+++
T2(ppm)	3	+++	+++	+++
T3(ppm)	3	+++	+++	+++
T4(ppm)	3	+++	+++	+++
T5(ppm)	3	+++	+++	+++
T6(ppm)	3	+++	+++	+++

T7(ppm)	3	+++	+++	+++
T8(ppm)	3	+++	+++	+++
T9(ppm)	3	+++	+++	+++
T10(ppm)	3	+++	+++	+++
T11(ppm)	3	+++	+++	+++
T12(ppm)	3	+++	+++	+++
T13(ppm)	3	++	++	++

CONTROL POSITIVO:	<i>Candida albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presento Halo: 8mm crecimiento
CONTROL NEGATIVO:	H ₂ O DMSO	+ No presento crecimiento	(-)	

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 20 se observa los resultados obtenidos mediante la Técnica de Kirby Bauer (difusión en disco), utilizándose como análisis la literatura de Duraffourd y Lapraz²⁵ los cuales clasificaron la actividad de los aceites esenciales.

Análisis e Interpretación: Se obtuvieron resultados positivos +++ según la literatura utilizada de Duraffourd y Lapraz 1983, resultando halos superiores a 20mm siendo estos según la Tabla N° 15 N= Sumamente sensible. Evidenciando el efecto antifúngico del *Cinnamomum verum* frente a *Candida albicans* cepa ATCC 10231.

8.7. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵

Tabla N° 21. Resultados obtenidos del extracto alcohólico

N° Tratamiento	N° de discos	Halos R1 mm	Halos R2 mm	Halos R3 mm
T1(ppm)	3	-	-	-
T2(ppm)	3	-	-	-
T3(ppm)	3	-	-	-
T4(ppm)	3	-	-	-
T5(ppm)	3	-	-	-
T6(ppm)	3	-	-	-

CONTROL POSITIVO:	<i>Candida albicans</i>	Fluconazol 150mg	(+)	Presento Halo: 7,5mm crecimiento
CONTROL NEGATIVO:	H ₂ O + DMSO	No presento crecimiento	(-)	

Fuente: Datos recopilados de la bitácora de laboratorio
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 21 se observa los resultados obtenidos mediante la Técnica de Kirby Bauer²⁵ (difusión en disco), en las diferentes concentraciones establecidas.

Análisis e Interpretación Se obtuvieron halos menores a 8 mm, siendo un resultado negativo, por lo tanto se puede decir que el extracto alcohólico de *Cinnamomum verum* no presenta actividad frente a *Candida albicans* cepa ATCC 10231

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO MEDIANTE SISTEMA SPSS

Tabla N° 22. Valor de las medias en 3 Repeticiones Técnica Dilución en Caldo

Repeticiones	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típ.
R1T1	0	1	0,125	0,35355
R2T1	0	1	0,125	0,35355
R3T1	0	1	0,125	0,35355

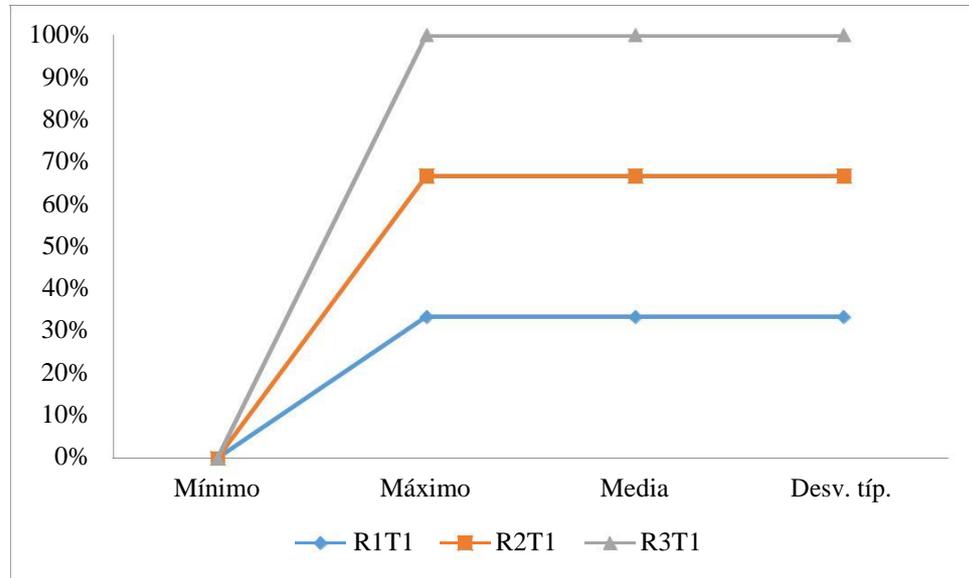
Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi,

Descripción: La Tabla N°22, muestra el análisis estadístico de los resultados obtenidos mediante la Técnica dilución en caldo, en sus diferentes concentraciones: 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm y 1.500ppm

Análisis e Interpretación : Mediante el análisis estadístico realizado de la técnica de dilución en caldo en sus concentraciones 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm y 1,500ppm se describió la estadística obtenida dando como resultado un crecimiento mínimo de 0 en las concentraciones de 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm demostrándose estadísticamente que los resultados obtenidos mediante la técnica aplicada en estas concentraciones hay actividad antifúngica por presentar ausencia en el crecimiento de *Candida albicans* cepa ATCC 10231y en su concentración más baja de 1.500ppm se obtuvo crecimiento dando como resultado un máximo de 1 que equivale a un crecimiento medio, teniendo en cuenta una desviación típica de 0,35355.

9.1. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN EN CALDO

Gráfico N° 1. Valor de las medias en sus 3 Repeticiones Técnica Dilución en Caldo



Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En el Gráfico N°1, se muestra los resultados obtenidos mediante la Técnica de dilución en caldo en las diferentes concentraciones establecidas: 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm y 1.500ppm.

Análisis e Interpretación: En el análisis estadístico realizado se observó gráficamente que en las concentraciones más altas realizadas de 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm, 5.000ppm, 2.500ppm hubo ausencia de crecimiento, al contrario de su concentración más baja de 1.500ppm hubo presencia de crecimiento resultando menos efectiva.

9.2. RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵ CON SUS 3 REPETICIONES

Tabla N° 23. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 2

Repeticiones	N	Mínimo	Máximo	Media
R1T2	13	0	1	0,3846
R2T2	13	0	1	0,3846
R3T2	13	0	1	0,2308

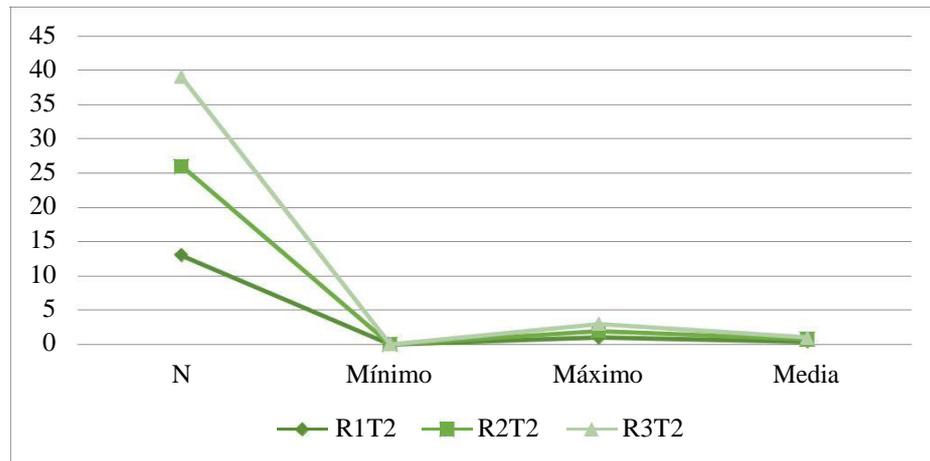
Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: La Tabla N° 23 la actividad antifúngica de las sustancias experimentales del tratamiento 2 frente a la cepa *Cándida albicans* ATCC 101231 se presentó de la siguiente manera; el aceite esencial de Canela a una concentración de 12.500ppm hasta una concentración de 417 ppm, tuvo un promedio en los halos de inhibición de 0 que significa un crecimiento nulo, y a partir de la concentración 312 ppm tuvo un promedio halos de inhibición de 0,3846 ±.

Análisis e Interpretación: El análisis demostró que incluso con concentraciones más bajas del aceite esencial 39 ppm frente a *Candida albicans* hay una variación media de 0,3846 ±, demostrando la efectividad el aceite incluso frente al antimicótico utilizado; el cual presento un promedio de halos de inhibición de 8mm.

9.3 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵

Gráfico N° 2. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 2



Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En el Gráfico N° 2 se estableció que no existe variabilidad en todas sus concentraciones 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm, 1.250 ppm, 625 ppm, 416 ppm, 312 ppm, 156 ppm, 78 ppm, 39 ppm en las 3 repeticiones establecidas de los 13 tratamientos,

Análisis e Interpretación: El análisis demostró que incluso con concentraciones más bajas del aceite esencial 39 ppm frente a *Candida albicans* hay una variación media de $0,3846 \pm$, demostrando la efectividad del aceite incluso frente al antimicótico utilizado; el cual presentó un promedio de halos de inhibición de 8 mm.

9.4 RESULTADOS OBTENIDOS EXTRACTO ALCOHÓLICO DEL *Cinnamomum verum* (CANELA)

Tabla N° 24. Valor de las medias en Repeticiones de Tratamiento 3

Repeticiones	N	Mínimo	Máximo	Media
R1T3	6	1	3	2,3333
R2T3	6	1	3,5	2,4167
R3T3	6	1	3,5	2,4167

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 24 se observa que la actividad antifúngica de la sustancia experimental del tratamiento 3 frente a la cepa *Cándida albicans* ATCC 101231 se presentó de la siguiente manera; el extracto alcohólico de Canela a una concentración de 50.000ppm hasta una concentración de 5000ppm tuvo un promedio en los halos de inhibición de menos del 50% en comparación con las otras sustancias experimentales; teniendo como resultado $2,4167 \pm$.

Análisis e Interpretación: La actividad antifúngica de las sustancias experimentales frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 se presentó de la siguiente manera; el extracto alcohólico de Canela en sus diferentes concentraciones realizadas mediante la técnica de difusión en disco 50.000ppm, 40.000ppm, 30.000ppm, 20.000ppm, 10.000ppm y 5.000ppm. Presento una media en su repetición 1 de $2,3333 \pm$, en su repetición 2 $2,4167 \pm$, y en su repetición 3 $2,4167 \pm$, resultando un mínimo de 1 que significa crecimiento alto en todas sus concentraciones, dando un promedio máximo de 3,50mm de diámetro en los halos encontrados.

9.5 RESULTADOS DE HALOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵ EN ACEITE ESENCIAL DEL *Cinnamomum verum* (CANELA)

Tabla N° 25. Medición del halo inhibitorio

Medición del Halo	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Típ.
MedidaHaloR1T2	22	100	32,8	18,08867
MedidaHaloR2T2	19	100	32,8	16,88787
MedidaHaloR3T2	11	100	33,4	18,24281

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: La Tabla N° 25 del presente estudio se basó en la evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial de canela mediante la Técnica de difusión en disco en concentraciones de 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm, 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm , tomando en cuenta las medidas tomadas de los halos inhibitorios en la experimentación dando como resultado un promedio de media de 32,8mm , un mínimo de 20,00 y un máximo de 100,00 halo inhibitorio

Análisis e Interpretación: El análisis demostró que el halo inhibitorio es mucho más extenso en tamaño con un máximo de 100,00mm y un mínimo de 19,00mm con respecto al flucozanol el cual tiene un precedente estandarizado.

9.6 RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES OBTENIDAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE DILUCIÓN EN CALDO

Tabla N° 26. Concentraciones aceite esencial y su nivel de crecimiento

Concentración T1	Nivel Crecimiento T1R1	
	Ninguno	Crecimiento Alto
1500 ppm	0	1
2500 ppm	1	0
5000 ppm	1	0
10000 ppm	1	0
20000 ppm	1	0
30000 ppm	1	0
40000 ppm	1	0
50000 ppm	1	0
Total	7	1

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: Se observó en la Tabla N° 26 crecimiento en la concentración de 1500 ppm, en cambio en las otras 7 concentraciones 2500 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm, 30000 ppm, 40000 ppm, 50000 ppm no presento crecimiento.

Análisis e Interpretación: El análisis demostró la presencia de crecimiento del hongo en el T8 con una concentración de 1.500ppm, consolidando el resultado positivo a la presencia de actividad en los 7 tratamientos anteriores a este en concentraciones de 2500 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm, 30000 ppm, 40000 ppm, 50000 ppm.

9.7 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵ EN SU REPETICIÓN 1

Tabla N° 27. Nivel de Crecimiento del halo T2R1

Medida del Halo Tratamiento 2 Repetición 1				
Válidos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
10,00	1	7,7	7,7	7,7
22,00	1	7,7	7,7	15,4
30,00	1	7,7	7,7	23,1
50,00	1	7,7	7,7	30,8
52,00	1	7,7	7,7	38,5
100,00	8	61,5	61,5	100,0
Total	13	100,0	100,0	

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: Se observó en la Tabla N° 27 se observó en el tratamiento 2 repetición 1 una frecuencia de 1 en sus 13 tratamientos en las concentraciones de 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm con un 100% de crecimiento en cada una de sus concentraciones; y en las 7 concentraciones de 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm presento un porcentaje de un 61,5%.

Análisis e Interpretación: El análisis demostró la presencia de actividad antifúngica resultando un 100% de eficacia en las concentraciones mayores, de igual manera se demostró la eficacia de la Canela en las otras 5 diluciones, cada concentración represento un 7,7% el cual nos indica que presenta de igual manera actividad antifúngica.

9.8 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵ EN SU REPETICIÓN 2

Tabla N° 28. Nivel de Crecimiento del halo T2R2

Medida del Halo Tratamiento 2 Repetición 2				
Válidos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
14,00	1	7,7	7,7	7,7
19,00	1	7,7	7,7	15,4
31,00	1	7,7	7,7	23,1
49,00	1	7,7	7,7	30,8
51,00	1	7,7	7,7	38,5
100,00	8	61,5	61,5	100,0
Total	13	100,0	100,0	

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS
Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 28 se observó se observó en el tratamiento 2 repetición 2 una frecuencia de 1 en sus 13 tratamientos en las concentraciones de 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm con un 100% de crecimiento en cada una de sus concentraciones; y en las 7 concentraciones de 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm presento un porcentaje de un 61,5%.

Análisis e Interpretación: El análisis demostró la presencia de actividad antifúngica resultando un 100% de eficacia en las concentraciones mayores, de igual manera se demostró la eficacia de la Canela en las otras 5 diluciones, cada concentración represento un 7,7% el cual nos indica que presenta de igual manera actividad antifúngica.

9.9 RESULTADOS OBTENIDOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE KIRBY BAUER²⁵ EN SU REPETICIÓN 3

Tabla N° 29. Nivel de Crecimiento del halo T2R3

Medida del Halo Tratamiento2 Repetición 3				
Válidos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
11	1	7,7	7,7	7,7
19	1	7,7	7,7	15,4
35	1	7,7	7,7	23,1
51	2	15,4	15,4	38,5
100	8	61,5	61,5	100,0
Total	13	100,0	100,0	

Fuente: Datos de Repeticiones en laboratorio procesado en SPSS

Elaborado por: María Andrea Ortiz Timbi

Descripción: En la Tabla N° 29 se observó se observó en el tratamiento 2 repetición 3 una frecuencia de 1 en sus 13 tratamientos en las concentraciones de 12.500 ppm, 10.500 ppm, 8.500 ppm, 6.500 ppm, 4.500 ppm, 2.500 ppm con un 100% de crecimiento en cada una de sus concentraciones; y en las 7 concentraciones de 2.500 ppm, 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm presento un porcentaje de un 61,5%.

Análisis e Interpretación: El análisis demostró la presencia de actividad antifúngica resultando un 100% de eficacia en las concentraciones mayores, de igual manera se demostró la eficacia de la Canela en las otras 5 diluciones, cada concentración represento un 7,7% el cual nos indica que presenta de igual manera actividad antifúngica.

10. DISCUSIÓN

Según estudios realizados por Herrera Arias F. ⁽³⁰⁾, en la canela encontramos varios tipos de componentes como son los taninos, aldehídos y ácidos orgánicos, llegando de esta manera a conocer su composición química, teniendo en cuenta la importancia de los aceites esenciales ya que se encuentran presentes agentes antimicrobianos y antifúngicos en sí.⁽³⁰⁾

Un aspecto que motiva a la investigación en este campo y en especial con los antimicóticos es el desarrollo de mecanismos de resistencia por algunas especies, se explica en parte porque la mayoría de fármacos son fungistáticos y por la administración prolongada de los tratamientos, lo cual permite la aparición de clones resistentes. Por tanto ante este aumento de infecciones por hongos, se lleva a cabo una constante búsqueda de alternativas terapéuticas eficaces entre las plantas medicinales como fuente de nuevos y variados agentes antimicóticos.³¹

Mediante un estudio realizado por Dantas de Almeida , Wanderley Cavalcanti y Dias de Castro ³¹, se demostró que la actividad antifúngica presente en la *Cinnamomum verum* se debe, dando como su principal componente el Aldeo Cinámico el cual está presente en un 83,9%, se analizó varios tipos de antimicóticos como la nistatina y el flucozanol, pudiendo estos llegar a la resistencia debido a su amplio uso, para según los resultados emplearse antifúngicos naturales y de fácil acceso, en este proyecto de igual forma se utilizó la canela la cual sirvió como un excelente antifúngico dando resultados positivos en las concentraciones del aceite esencial y dio resultados negativos con respecto a su extracto alcohólico, en cambio otro estudio publicado por Varadarajan S., Narasimhan M. Malaisamy, M. Duraipandian. ³² basado en extractos hidroalcohólicos, dio como resultado positivo a la actividad antifúngica en extractos hidroalcohólicos, por lo cual se demuestra que es necesaria la dilución del alcohol al 96% que se empleó en el ensayo realizado. En “High Susceptibility Of *Candida albicans* ATCC 10231 to Tetrahydrofuranosyl-1,2,3-Triazoles Obtained by Click Chemistry”.³¹ Se determinó la importancia de los antimicóticos hoy en día; demostrando que las infecciones micóticas han aumentado considerablemente aún más en pacientes con SIDA, pacientes que

realizan quimioterapias y pacientes tratados con esteroides, en estos pacientes se ha evidenciado que existe la disminución en la susceptibilidad de los fármacos como el fluconazol; por lo cual se realizó este estudio para analizar nuevos tipos de antifúngicos a base de elementos naturales que no tengan ningún tipo de resistencia.^{31,32}

Según un estudio publicado por Varadarajan S., Narasimhan M., Malaisamy M., Duraipandian C. el principal componente de la canela es el cinamaldehído, el cual puede considerarse el principal causante de la actividad antifúngica presente en la planta, siendo este uno de los principales componentes fitoquímicos³², con esta base demostrada se observó la sensibilidad cuando el aceite esencial de canela inhibe el crecimiento de la *Candida albicans* cepa ATCC 10231 determinándose por la presencia del halo presente alrededor de los discos en sus diferentes tipos de concentraciones, cada halo observado nos demuestra que no hubo el crecimiento del hongo, por lo que mientras más grande se presente el halo mayor será la sensibilidad de la planta sobre el hongo. Al contrario el extracto alcohólico presentó resistencia permitiendo el crecimiento micótico aún con la presencia de la *Cinnamomum verum*, al igual que el antimicótico utilizado Fluconazol 150mg mostró resistencia.^{33,34}

En la primera prueba para la determinación de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Cinnamomum verum* frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, se prepararon discos de sensibilidad de aceite esencial puro, las cuales tenían concentraciones que inician de 12.500ppm hasta 2.500ppm en este primer ensayo al realizar la lectura se observó que no hubo crecimiento micótico en toda la dimensión de la placa. Posteriormente se volvió a trabajar pero con volúmenes inferiores a los primeros tomando como base madre la concentración de 2.500 ppm y realizando nuevas concentraciones: 1.250ppm, 625ppm, 416ppm, 312ppm, 156ppm, 78ppm, 39ppm de aceite esencial a lo cual paralelamente se trabajó con un control positivo para *Cándida albicans*; es decir a esta placa no se adicionó el aceite esencial para verificar su crecimiento en el medio de cultivo (Agar sabouraud); transcurrido el periodo de incubación de 37°C por 24h se procedió hacer las lecturas de las placas, verificándose que éstas nuevamente estaban exentas de hongos; mientras que en la placa que no se

colocó aceite esencial si se evidenció el crecimiento de las colonias de *Cándida albicans*. Con lo que se pudo determinar que el aceite esencial de *Cinnamomun verum* poseía una alta actividad antimicótica frente a *Candida albicans* ATCC 10231; por lo que se procedió hacer diluciones con DMSO a proporciones de 1/2 con el fin de encontrar el grado de sensibilidad del agente micótico con el aceite esencial y posteriormente hallar su CMI. Partiendo de esta dilución 12.500ppm se procedió con toda la parte experimental, se tomaron volúmenes de dilución de 0,1 µl con concentraciones de 12,500ppm hasta 2,500ppm todos los halos de inhibición obtenidos de éstas concentraciones presentaron un grado de sensibilidad señalados según la escala de Duraffourd y Lapraz²⁵ como sumamente sensible (> 20mm) porque su promedio mínimo fue de 20,00mm y promedio máximo de 100,00mm.³³

En el Tabla N° 23y gráfico N°2 (pág. 40, 41), se puede apreciar la evaluación de la actividad antimicótica del aceite esencial *Cinnamomun verum* frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, por el método de difusión en disco (Kirby Bauer). La sensibilidad de la cepa micótica empieza con el T1 (12.500ppm) con un halo promedio de inhibición de 100,00mm hasta un diámetro de halo en el T1(39ppm) con un halo promedio de 12,00mm en sus 3 repeticiones; lo que indica que es directamente proporcional a la concentración utilizada; a mayor concentración mayor será el diámetro del halo de inhibición, incluso presenta un promedio mayor en comparación con el halo obtenido del fluconazol el cual fue de 8mm.

En la Tabla N° 20 (pág. 37), según la escala de aromatógrama de Duraffourd y Lapraz²⁵ se muestra el grado de sensibilidad micótica en función al halo de inhibición del crecimiento del microorganismo, a la concentración de 12.500ppm del aceite esencial de *Cinnamomun verum* se aprecia un halo de inhibición de 100,00mm y a la concentración final 39ppm el halo de inhibición es de 12mm lo que demuestra que todos los promedios de halos en los 12 tratamientos son sumamente sensibles y el tratamiento 13 es sensible.

Comparando estadísticamente mediante SPSS, con niveles de confiabilidad al 95 % y 99% se demuestra que existe diferencias altamente significativas entre los promedios de los halos de inhibición para las concentraciones utilizadas del aceite esencial de *Cinnamomun verum* a *Cándida albicans* ATCC 10231; con un coeficiente de variabilidad 18,08867 d.t siendo aceptable entre sus 3 repeticiones. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se observa en el tratamiento 13 del aceite esencial de *Cinnamomun verum* con 39ppm esto debido al crecimiento medio obtenido .donde se aprecia la inhibición absoluta del crecimiento de *Cándida albicans* ATCC 10231.

Por último para culminar tenemos que reafirmar el hecho que en una planta existen diferentes principios activos y que muchos de ellos actúan sinérgicamente por lo que su actividad terapéutica no depende solamente de uno, sino de la proporcionalidad de los mismos, y el aceite esencial de la canela no está exento de esta verdad y se constituye en una alternativa terapéutica buena; sin embargo, aún se requieren estudios más específicos para su utilización con fines terapéuticos.

11. CONCLUSIONES

- Se comparó la actividad antifúngica “*in vitro*” del aceite esencial y del extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* “Canela” con el fluconazol 150mg sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231; resultando el aceite esencial efectivo en su actividad antifúngica en comparación con el mismo fluconazol el cual tiene un precedente estandarizado. Con respecto al extracto alcohólico el fluconazol (Candifix 150mg) presentó mayor actividad antifúngica; pero sin presentar relevancia con el extracto alcohólico ya que presentaron halos menores a 8mm dando como resultado actividad nula.
 - La mínima concentración efectiva del aceite esencial mediante la técnica de Kirby Bauer fue 39 ppm dando halos de 12mm dando una sensibilidad limite y mediante la técnica de dilución en caldo dio su concentración mínima inhibitoria fue de 1500ppm con la presencia de crecimiento micótico y el extracto alcohólico *Cinnamomum verum* “Canela” ” sobre *Cándida albicans* cepa ATCC 10231. Su concentración mínima fue de 5000ppm resultando crecimiento total en el medio de cultivo.
 - El grado de sensibilidad que presenta *Cándida albicans* cepa ATCC 10231 con respecto al aceite esencial de *Cinnamomum verum* (canela), mediante la técnica de Kirby Bauer y dilución en caldo se demostró que es sumamente sensible a concentraciones de 50.000ppm hasta 39 ppm .
- Se analizaron los resultados obtenidos del aceite esencial y extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* (canela) mediante el sistema SPSS obteniéndose un promedio de halos de $52,00 \pm mm$ en sus 3 repeticiones mediante la Técnica de Kirby Bauer en el aceite esencial con un promedio estándar de $32,8 \pm mm$, en cambio en el extracto alcohólico del *Cinnamomum verum* (canela) se obtuvo un promedio de $3,5 mm \pm$ en sus repeticiones.

12. RECOMENDACIONES

- Se recomienda valorar la actividad antifúngica presente del *Cinnamomum verum* (canela) realizado en este proyecto investigativo, para futuras investigaciones contra diversos hongos oportunistas.
- Realizar pruebas in vitro para valorar la efectividad y la toxicidad que pueden proporcionar los componentes activos de *Cinnamomun verum* como también poder determinar sus dosis terapéuticas.
- Elaborar diferentes formas farmacéuticas de acuerdo a la vía de administración utilizando aceite esencial de *Cinnamomun verum* (canela) para realizar ensayos clínicos en pacientes con dermatosis por *Cándida albicans*.

13. BIBLIOGRAFÍA:

- 1.** Guilarte C, Pardi G, De Stéfano A, Pacheco A, Dinatale E. Trabajos Originales: Casuística de las micosis de la cavidad bucal, reportadas en el laboratorio de la cátedra de microbiología, Facultad de odontología, u.c.v. (1997-2001). Acta Odontologica Venezolana. 2017; 43(1):1-2-3.
- 2.** Trujillo V, Guilarte C, Pardi G. Pruebas rápidas para la detección de Candida albicans en cavidad bucal. Acta Odontológica Venezolana. 2006; 44(3).
- 3.** Bordoni N, Escobar Rojas A, Castillo Mercado R. Odontología Pediátrica. La salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual. 1st ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2010.
- 4.** Aguirre JM, Bagán JV, Ceballos A. Infecciones micóticas orales. En: Liebana J, Bagán JV (Eds.) Terapéutica antimicrobiana en odontoestomatología. Madrid, Beecham, 1996: 311-331.
- 5.** Hay RJ. Systemic candidiasis in heroin addicts. Brit Med J. (1986): 292: 1.096.
- 6.** Samson J. Candidiosis buccales: Epidémiologie, diagnostic et traitement. Rev Mens Suisse Odontostomatol. . (1990): 100: 548-559
- 7.** Aguirre JM.: Candidiasis orales: Medicina Bucal, Departamento de Estomatología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco, Bilbao, España Rev Iberoam Micol 2002; 19: 17-21
- 8.** Samaranayake LP, Macfarlane TW. Oral Candidiasis. London, Butterworth & Co, 1990.
- 9.** Moromi Nakata H. Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Pionera en el aprendizaje de la Microbiología bucal. Odontología Sanmarquina. 2017; 20(1):5.
- 10.** Delgado W, Aguirre JM. Las micosis orales en la era del Sida. Rev Iberoam Micol

1997; 14: 14-22.

11. Samaranayake LP, Macfarlane TW. Oral Candidiasis. London, Butterworth & Co, 1990.

12. Samaranayake LP. Nuevas perspectivas en la epidemiología y etiopatogénesis de la candidiasis oral. Gac Med Bilbao 2001; 98: E15-E16.

13. Pardi G, Guilarte C, Cardozo E. Detección de *Cándida albicans* en pacientes con candidiasis pseudomembranosa. Rev Odontol Univ São Paulo. 2008; 20(3): 228-36

14. Castro Méndez Irma. Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2006 Jun [citado 2017 Mayo 29] ; 11(2): Disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=

15. Rueda F, Hernández SE. Prevalencia de *Cándida albicans* aislada de la cavidad oral de pacientes con cáncer. Rev Odontol Latinoam. 2008; 0(2): 38-41.

16. Rueda-Gordillo F, Hernández-Solís SE. Prevalencia de *Candida albicans* aislada de la cavidad oral de pacientes con cáncer Departamento de Microbiología Oral y Biología Molecular Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Yucatán. Rev. Odontologica latinoamericana (2008) Vol. 0 Núm. 2 pp 38-41

17. Céspedes J, Huamani Y. Efecto de la Clorhexidina y la nistatina sobre el recuento de colonias aisladas de candidiasis en niños con VIH-SIDA. Rev Odontol Pediátr. 2006; 5(2): 3-6.

18. Alzamora L, Morales L, Armas L, Fernández G. Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. An Fac Med. 2001; 62 (2): 156-161

19. Moromi H, Martínez E, Villavicencio J, Burga J, Ramos D. Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales, Rev Odontol Sanmarquina. 2007; 10(1): 18-20.

20. Arango Mejía M. Plantas medicinales. Manizales: Universidad de Caldas; 2006.

21. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Omega; 2003.
22. MENDES M. 2. “Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Cándida tropicalis* de aislados clínicos”. Brasil: Universidad Federal de Paraiba; 2011.
23. García Barriga H. Flora medicinal de Colombia. Bogotá (Colombia): Imprenta Nacional; 1974.
24. Fonnegra G R, Jiménez R S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín, Colombia: Editorial Universidad de Antioquia; 2007.
25. Sánchez Llambí M. Bazar de Especies. Bloomington, IN: Palibrio; 2013.
26. Núñez Meléndez E. Plantas medicinales de Puerto Rico. Río Piedras, P.R.: Editorial de la Unversidad de Puerto Rico; 1992
27. Pontón J, Moragues MD, Gené J, Guarro J, Quindós G. Revista iberoamericana de micología: Hongos y actinomicetos alergénicos, 2002 1era Edición. España: Bilbao.
28. Padura M. Rehabilitación. Barcelona: Manel Padura; 2006
29. Kuklinski C. Farmacognosia. Barcelona: Omega; 2003.
30. Herrera Arias F C, García - Rico R, Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas 2006 4 13-19
31. Dantas de Almeida L d F, Wanderley Cavalcanti y, Dias de Castro R, de Oliveira Lima E, Atividade Antifúngica e Alterações Morfológicas Induzidas pelo Óleo Essencial de *Cinnamomum cassia* frente Cepas de *Candida albicans* Isoladas de Pacientes HIV Positivos. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada 2012 12 393-398.
32. Layton Tovar C F, Cuevas Yañez E, Velasco Montejo B E, Mendieta Zerón H, High

Susceptibility Of *Candida Albicans* ATCC 10231 to Tetrahydrofuranosyl-1,2,3-Triazoles Obtained by Click Chemistry. *Revista Boliviana de Química* 2014 31 15-21

33. V S. Invitro Anti-mycotic Activity of Hydro Alcoholic Extracts of Some Indian Medicinal Plants against Fluconazole Resistant *Candida albicans*. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2015

34. Aliaga Mamani P. Evaluacion de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. “cedrón”, frente a las bacterias patógenas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Biologo-Microbiologo]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann Tacna; 2013.

35. Cruz Quintana S, Díaz Sjostrom P, Mazón Baldeón G, Arias Socarrás D, María Calderón Paz M, Herrera Molina A. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. *Revista Científica Salud Uninorte*. 2017;Vol 33 No 3 -5,6.

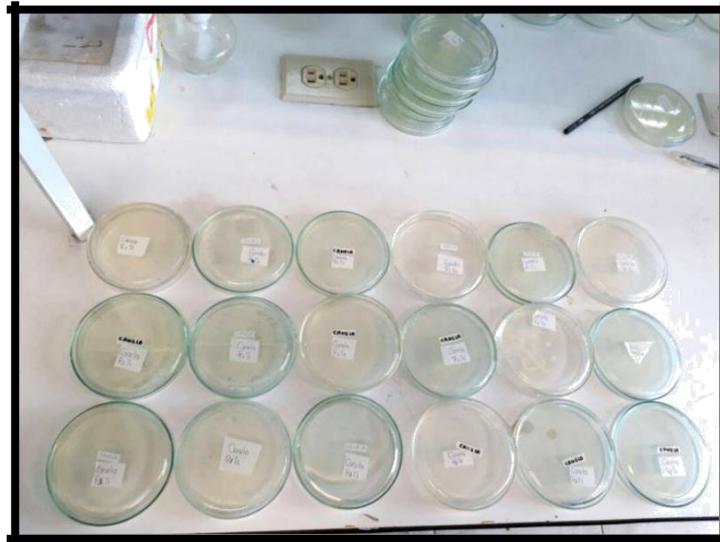
36. ANEXOS



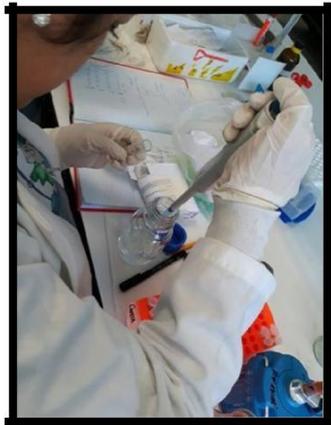
Rotavapor extracto alcohólico



Cajas petri inoculadas con *Candida albicans*



Tratamiento Técnica de dilución en caldo



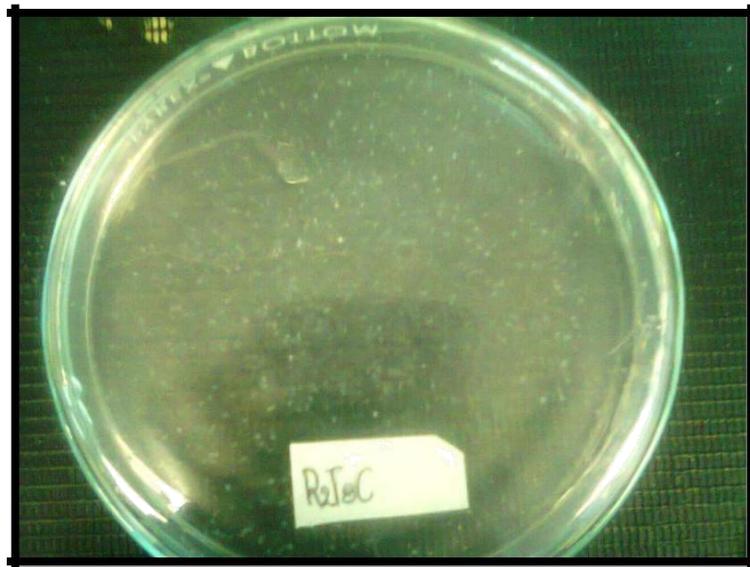
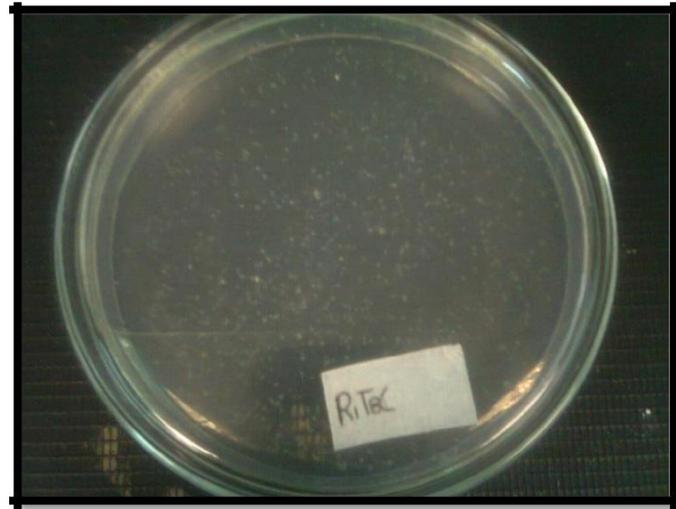
Procedimiento de Macfarland



Extracción del aceite esencial



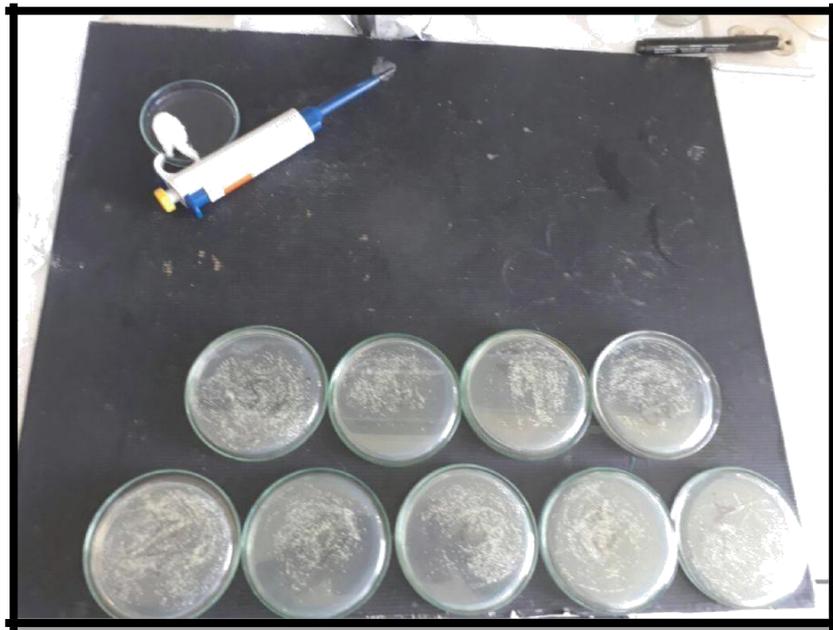
Medios de cultivo en la incubadora



Resultados positivos en sus 3 repeticiones de la Técnica dilución en caldo



Candida albicans



Candida albicans inoculada a las 24 horas



Resultados obtenidos Técnica Kirby Bauer aceite esencial concentraciones 2.500ppm con sus respectivos controles



Resultados obtenidos Técnica Kirby Bauer extracto alcohólico en concentraciones de 50.000ppm hasta 5.000ppm con sus respectivos controles



Agar sabouraud con coranfenicol



Filtrado de extracto alcohólico