

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN
CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO



EFFECTO ANTIMICÓTICO DE HIERBA LUISA (*Cymbopogon citratus*) Y UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) CONTRA *Cándida albicans*.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Autor: Bach. Lucy Janneth Tantaleán Delgado

Asesor: M. Cs. Adán Díaz Ruiz

JAÉN – PERÚ, DICIEMBRE, 2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2018-SUNEDU/CD

FORMATO 03: ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día miércoles 18 de diciembre del año 2019, siendo las... 04:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado:

Presidente: Dr. Segundo Carlos Zapatel Gordillo

Secretario: M.Sc. Wagner Colmenares Mayanga

Miembro: Mg. José Celso Paredes Carranza, para evaluar la Sustentación del Informe Final:

- () Trabajo de Investigación
() Tesis
() Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: "EFECTO ANTIMICÓTICO DE HIERBA LUISA (*Cymbopogon citratus*) Y UÑA DE GATO (*Uncaria tomentosa*) CONTRA *CÁNDIDA ALBICANS*", presentado por la Bachiller Tantalean Delgado Lucy Janneth, de la Carrera Profesional de **Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico**.

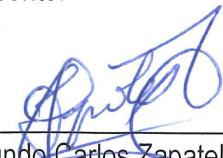
Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

- () Aprobar () Desaprobar () Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

- | | | |
|----------------|------------|---|
| a) Excelente | 18, 19, 20 | () |
| b) Muy bueno | 16, 17 | () |
| c) Bueno | 14, 15 | () |
| d) Regular | 13 | (<input checked="" type="checkbox"/>) |
| e) Desaprobado | 12 ó menos | () |

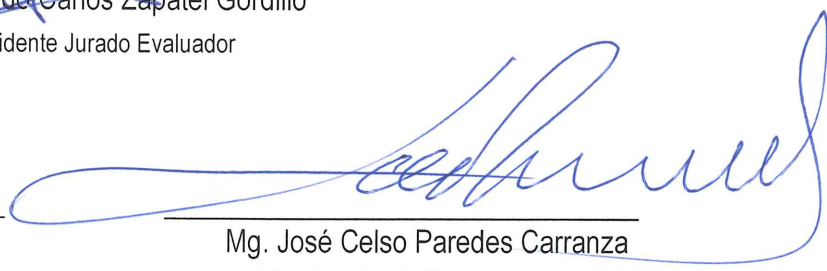
Siendo las ... 04:40 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.



Dr. Segundo Carlos Zapatel Gordillo
Presidente Jurado Evaluador



M.Sc. Wagner Colmenares Mayanga
Secretario Jurado Evaluador



Mg. José Celso Paredes Carranza
Miembro Jurado Evaluador

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE	ii
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS	iii
ÍNDICE DE ANEXOS	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	11
2.1. Objetivo general:	11
2.2. Objetivos Específicos:.....	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	12
3.1. Materiales.....	12
3.2. Tipo y diseño de la Investigación.....	13
3.3. Población, muestra y muestreo.....	14
3.4. Métodos, técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.....	14
IV. RESULTADOS.....	19
V. DISCUSIÓN	26
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	27
6.1. Conclusiones	27
6.2. Recomendaciones.....	28
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
AGRADECIMIENTO.....	31
DEDICATORIA	31
ANEXOS.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Diluciones de aceite esencial de hierba luisa en DMSO.....	14
Tabla 2: Diluciones de extracto alcohólico de corteza de uña de gato en alcohol de 70°	15
Tabla 3: Cuadro elaborado para la medición de halos de acuerdo a los milímetros de inhibición del hongo por medio de los discos en diferentes concentraciones. Según el estándar M27-A3 Y M27-S4 del CLSI.....	19
Tabla 4: Resumen de medias de halos de inhibición para <i>cándida albicans</i> ATCC 90028	20
Tabla 5: Interpretación de la medida de los halos de inhibición de las concentraciones de hierba luisa y corteza de uña de gato según la escala de Duraffourd.....	21
Tabla 6: Prueba que confirmativa la efectividad antimicótica de hierba luisa y corteza de uña de gato contra <i>Cándida albicans</i> aislada de un paciente.....	22
Tabla 7: Resumen de medias de halos de inhibición para <i>Cándida albicans</i> aislada de un paciente	23
Tabla 8: Interpretación de la medida de los halos de inhibición según las concentraciones de hierba luisa y corteza de uña de gato según la escala de Duraffourd.....	24

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Tendencia de la media en la lectura de halos para <i>Cándida albicans</i> ATCC 90028	20
Gráfico 2. Tendencia de la media en la lectura de halos para <i>Cándida albicans</i> aislada de una paciente	23

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Fotografías de los procedimientos experimentales de la extracción de aceite esencial y extracto alcohólico de uña de gato	32
Anexo 2. Fotografías de la determinación de halos de inhibición.....	41
Anexo 3: Equipos empleados en la investigación.....	50
Anexo 4: Certificado de la cándida ATCC 9002 (American Type Culture Collection)	53

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es evaluar y conocer el efecto antimicótico de la hierba luisa y la uña de gato contra *Cándida albicans* ATCC 90028 con el propósito de darle un uso terapéutico como alternativa de solución para las enfermedades ocasionadas por este hongo. El aceite esencial de hierba luisa se extrajo mediante el equipo por arrastre a vapor y el extracto alcohólico de uña de gato se obtuvo mediante el equipo Soxhlet. La evaluación de la actividad antimicótica se realizó por el método de difusión en agar con disco e hisopo y se realizaron con soluciones de aceite esencial de hierba luisa en DMSO (dimetilsulfoxido) y extracto alcohólico de uña de gato de concentraciones 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. Las medidas inhibitorias de los halos formados con ambas sustancias fueron comparadas con nistatina como control positivo y DMSO y alcohol como controles negativos. El mismo procedimiento se realizó con la *Cándida albicans* aislada de un paciente. El aceite esencial de hierba luisa tiene efecto antimicótico contra *Cándida albicans* ATCC 90028 y contra *Cándida albicans* aislada de un paciente en las concentraciones de estudio, el extracto alcohólico de uña de gato tiene efecto antimicótico contra *Cándida albicans* ATCC 90028 en concentraciones mayor de 50 % y contra *Cándida Albicans* aislada de un paciente en las concentraciones de estudio. Así mismo, el aceite esencial de hierba luisa tiene mayor efectividad antifúngica que el extracto alcohólico de corteza de uña de gato.

Palabras clave: *Cándida albicans*, aceite esencial, efecto antifúngico, halo de inhibición.

ABSTRACT

The objective of the present investigation is to evaluate and know the antifungal effect of the lemongrass and cat's claw against *Candida albicans* ATCC 90028 with the purpose of giving it a therapeutic use as an alternative solution for the diseases caused by this fungus. The essential oil of lemongrass was extracted by steam-dragging equipment and the alcoholic extract of cat's claw was obtained by the Soxhlet equipment. The evaluation of the antifungal activity was carried out by the diffusion method in agar with disc and hyssop and they were carried out with solutions of essential oil of lemongrass in DMSO (dimethylsulfoxide) and alcoholic extract of cat's claw of concentrations 25%, 50%, 75% and 100%. Inhibitory measures of the halos formed with both substances were compared with nystatin as a positive control and DMSO and alcohol as negative controls. The same procedure was performed with **Candida albicans** isolated from a patient. The essential oil of boiling luisa has antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 90028 and against *Candida albicans* isolated from a patient in the study concentrations, the alcoholic extract of cat's claw has antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 90028 in concentrations greater than 50% and against *Candida Albicans* isolated from a patient in the study concentrations. Likewise, the essential oil of lemongrass has greater antifungal effectiveness than the alcoholic extract of cat's claw.

Keywords: *Candida albicans*, essential oil, antifungal effect, halo of inhibition.

I. INTRODUCCIÓN

Las patologías ocasionadas por hongos han aumentado su frecuencia y su relevancia clínica, *Cándida albicans* es uno de los más importantes causantes de micosis en humanos, causando desde alteraciones superficiales como rash leve hasta infección invasiva y rápidamente fatal en pacientes con inmunidad deprimida. El género *cándida* comprende aproximadamente 200 especies siendo el más importante patógeno *Cándida albicans*, estas levaduras son productoras de micosis oportunistas en el organismo causando muy variadas manifestaciones clínicas, el espectro de manifestaciones clínicas causadas por esta especie incluye muguet, vaginitis, infecciones cutáneas, afectación pulmonar, enteritis, endocarditis, cistitis y algunas otras (3).

El Perú, posee miles de especies de origen vegetal con propiedades medicinales que conforman el principal acceso terapéutico en medicina tradicional o alternativa, la flora peruana nos brinda grandes posibilidades para la investigación e identificación de nuevos componentes con actividad antifúngica que serían de mucha utilidad (4).

Por lo tanto es necesario conocer y evaluar dicha actividad antifúngica con sustancias a base de aceites esenciales y extractos de plantas medicinales que se pueden encontrar en la zona de Jaén y alrededores, estos productos naturales pueden ser una alternativa de tratamiento económico y efectivo que estarían al alcance de la comunidad por su fácil acceso, bajo costo y también porque no presentan efectos adversos como en el caso de algunos tratamientos medicamentosos, por todo lo expuesto, el propósito de la presente investigación es determinar la actividad del aceite esencial de hierba luisa y extracto alcohólico de corteza de uña de gato contra *Cándida albicans*.

Cerna (2), en la Universidad Privada Antenor Orrego, realizó la investigación llamada “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175” se utilizaron diferentes concentraciones de aceite esencial *Cymbopogon citratus* (hierba luisa): 5 %; 2.5 %; 1.25 %, 0.625 %; 0.312 %; 0.078 %; 0.039 % a los que se le inoculó 0.1ml *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se evaluó la CMI por medio de la espectrofotometría a una longitud de onda de 620 nm; y CMB mediante la observación del crecimiento de colonias. El resultado de CMI y la CMB fue de 1.25%, atribuyéndole al citral que contiene el *Cymbopogon citratus*, como posible efecto antibacteriano frente al *Streptococcus mutans* ATCC 25175(2).

Cabanillas (4), en la Universidad Cesar Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, en la tesis denominada “Eficacia antimicótica del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) comparada con Clotrimazol, sobre *Cándida albicans*. Estudio in vitro determinó la actividad antimicótica del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Cándida albicans*, en esta investigación obtuvo información a partir de 16 repeticiones de extracto acuoso de hierba luisa en diferentes concentraciones contra una cepa de *Cándida Albicans*. Además, se puso a prueba la acción antimicótica del Clotrimazol frente a la misma cepa en mención. Los resultados indican que el extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* tiene efecto inhibitorio in vitro sobre el crecimiento de *Cándida albicans*, el cual es mayor cuando aumenta su concentración (4).

Cadena (5), en la Universidad Central del Ecuador, en la tesis denominada “Efecto antimicótico del extracto de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) contra *Cándida albicans*. Estudio in vitro”, elaboró un extracto hidroalcohólico por maceración, utilizando 75 g de planta y 250 ml de alcohol etílico de 70°, se obtuvo 150 ml de extracto, el mismo que fue diluido para obtener tres concentraciones secundarias al 75 %, 50 % y 25 %; se utilizó Nistatina como control positivo y alcohol etílico de 70 ° como control negativo. Los resultados de las pruebas de disco difusión fueron: La concentración al 25 % logró un halo promedio de 6.46 mm, al 50 % logró un halo promedio de 10.96 mm, al 75 % logró un halo promedio de 14.75 mm, y al 100 % logró un halo promedio de 16,5 mm, demostrando así la efectividad de

la *Uncaria tomentosa* frente a *Cándida albicans*, siendo la concentración al 100 % la más efectiva (5).

Meza y Vargas (6), en la Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito de Ecuador, en la tesis “Evaluación de la Actividad Antibacteriana in Vitro del Aceite Esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*)” realizaron una formulación cosmética con finalidad antiácnica. Obtuvieron los aceites por medio de la hidrodestilación por arrastre a vapor. Los resultados de esta investigación demuestran una actividad antibacteriana significativa en concentraciones de 0.05 % a 5 %, estos resultados permitieron la formulación de una loción tópica que fue sometida a un estudio de eficacia *in vitro* para determinar la disminución de porfirinas. Mediante este estudio indicaron que la loción puede utilizarse de manera confiable en patología cutánea debido a que tiene efecto antibacteriano contra *P. acnes* (6).

Valverde (7), en la Universidad Técnica de Machala de Ecuador, en la tesis denominada “Composición química, potencial antimicrobiano y letal de los aceites esenciales de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), Mastrante (*Ageratum conyzoides*), Guabiduca (*Piper carpunya*), Ajenjo (*Artemisia absinthium*) y Cedrón (*Lippiacitriodora*), cultivados en la República del Ecuador”. En esta investigación se evaluó la actividad antibacteriana de los aceites esenciales frente a cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, obteniéndose halos inhibitorios variables para cada especie, presentando estos cinco tipos de aceites esenciales actividad antimicrobiana contra las cepas mencionadas. La actividad antifúngica de los aceites esenciales fue evaluada frente a cepas de *Cándida albicans*, obteniéndose halos de inhibición variables para cada especie, presentando estos cinco tipos de aceites esenciales, bioactividad contra *C. albicans* (7).

Maraví (8), En la Universidad Wiener, Facultad de Ciencias de la Salud, ejecuto la tesis “Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028, en dicha investigación al realizar las pruebas de sensibilidad *in vitro* se obtuvieron los

siguientes resultados de los tres aceites esenciales, el que tuvo mayor efecto sobre *Streptococcus mutans* fue el orégano. Frente a *Lactobacillus acidophilus* y a *Cándida albicans* el mayor efecto lo tuvo la hierba luisa. El aceite esencial de orégano y hierba luisa tienen mayor efectividad antibacteriana y antifúngica que los controles positivos clorhexidina al 0,12 % y nistatina, a excepción de la *Mentha piperita* (menta) al 50 %, cuya acción fue menor que los controles positivos (8).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

Evaluar la actividad antimicótica del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y el extracto alcohólico de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) contra *Cándida albicans* mediante estudio in vitro.

2.2. Objetivos Específicos:

- a) Obtener aceite esencial mediante arrastre de vapor de las hojas de la hierba luisa y un extracto alcohólico de la corteza de uña de gato.
- b) Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de hierba luisa y extracto alcohólico de uña de gato e identificar mediante la medición de halos la actividad antimicótica sobre *Cándida albicans*.
- c) Comparar la eficacia antimicótica de la hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa*) contra *Cándida albicans*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Material biológico:

- Hojas frescas de hierba luisa.
- Corteza de uña de gato.
- Cándida albicans ATCC 90028.
- Cándida albicans aislada de un paciente.

Insumos:

- Medios de cultivo (Agar Sabouraud, Chromagar, Mueller Hinton).
- DMSO (dimetilsulfóxido).
- Discos de Nistatina.
- Discos de Fluconazol.

Equipos:

- Incubadora
- Autoclave
- Horno
- Balanza analítica
- Equipo de arrastre a vapor de acero inoxidable
- Equipo extractor Soxhlet

Materiales:

- Papel filtro

- Placas Petri
- Pipetas
- Frascos de vidrio
- Tubos tapa rosca 16 x 150 mm
- Guantes
- Mascarilla
- Alcohol
- Mechero
- Gradillas
- Tijera
- Papel molde
- Hisopos estériles
- Viales

Hipótesis

El aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y extracto alcohólico de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) poseen efecto antimicótico significativo contra *Cándida albicans*.

3.2. Tipo y diseño de la Investigación

Objeto de estudio

Actividad antimicótica del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y el extracto alcohólico de corteza de uña de gato (*Uncaria tomentosa*) contra *Cándida albicans* mediante un estudio in vitro.

Alcance: Explicativo, se estudió la actividad inhibitoria del aceite esencial y extracto alcohólico de las muestras biológicas contra *Cándida albicans*.

Diseño: Experimental puro, se manipuló intencionalmente las concentraciones del aceite esencial y extracto alcohólico y se evaluó la actividad antifúngica.

Enfoque: Cuantitativo, se midieron los halos de inhibición.

3.3. Población, muestra y muestreo

Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén.

Población

La población está conformada por:

- Hojas frescas de hierba luisa y corteza secas de uña gato obtenidas en la zona de Jaén y Oracuza.
- Cepas de *Cándida albicans* ATCC 90028 (American Type Culture Collection).
- Cepas de *Cándida albicans* extraídas de un paciente en el Hospital General de Jaén identificado previamente por el personal autorizado con una infección por levaduras.

Muestra

La muestra está constituida por todos los elementos que forman la población.

3.4. Métodos, técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.

3.4.1. Extracción del aceite esencial de hierba luisa por arrastre de vapor de agua

- Se recolectó las hojas frescas de la hierba luisa en la ciudad de Jaén en horas de la mañana.
- Se acondicionó apropiadamente las hojas en el equipo extractor de aceite esencial (Anexo 1) y se procedió con la extracción.
- Los destilados se colectaron en una pera de decantación, se dejó en reposo 2 horas, se descartó la fase acuosa y el aceite se recogió en un vaso de precipitados de 20 mL.
- Se eliminó los restos de agua con sulfato de sodio (Na₂SO₄) anhidro, el aceite deshidratado se guardó en un frasco ámbar, Díaz (17).
- Se determinó las principales características físicas del aceite esencial extraído.

- El aceite esencial deshidratado obtenido es tomado como el 100 %.

3.4.2. Obtención del extracto de uña de gato

- Se recolectó cortezas de uña de gato en la localidad de Oracuza, se secó al medio ambiente, se trituró en un molino corona.
- La muestra triturada se acondicionó en un saquito de tela.
- Se instaló el equipo extractor Soxhlet (Anexo 1) y se procedió a la extracción con 250 mL de alcohol 96 grados.
- El extracto alcohólico se concentró por destilación hasta un volumen de 40 mL, se almacenó en un frasco ámbar.
- Se determinó las principales características físicas del extracto alcohólico obtenido.
- Este extracto alcohólico obtenido es tomado como el 100 %.

3.4.3. Preparación de diluciones y agares

a) Diluciones de aceite esencial de hierba luisa.

Se preparó las diluciones de aceite esencial de hierba luisa en DMSO según se indica en la tabla 1.

Tabla 1. Diluciones de aceite esencial de hierba luisa en DMSO

Concentración	Volumen de aceite esencial	Volumen de DMSO
25 %	250 uL	750 uL
50 %	500 uL	500 uL
75 %	750 uL	250 uL

b) Diluciones de extracto alcohólico de uña de gato

Se preparó las diluciones de extracto alcohólico de uña de gato según se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Diluciones de extracto alcohólico de uña de gato en alcohol

Concentración	Volumen de extracto	Volumen de alcohol
25 %	250 uL	750 uL
50 %	500 uL	500 uL

75 %

750 uL

250 uL

c) Preparación de los medios de Cultivo

- Se pesó 16.25 gramos de agar Sabouraud y se mezcló con 250 mL de agua destilada, se dejó reposar durante 10 minutos.
- Posteriormente se sometió a ebullición durante 1 minuto para homogeneizar la preparación.
- Luego se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos.
- Se realizó el enfriamiento a temperatura ambiente y se colocó la preparación en las cajas Petri estériles, a cada caja se le colocará un promedio de 3 mm de espesor.
- Se pesó 8,5 g de Chromagar y se disolvió en 200 mL de agua destilada se calentó suavemente hasta 50 °C, luego se vertió en placas Petri estériles.
- Se pesó 38 gramos del agar Mueller Hinton en polvo y se disolvió en un litro de agua destilada. Se sometió un minuto a ebullición para disolver completamente el agar, luego se llevó a la autoclave a 121 °C por 15 minutos, se deja enfriar a temperatura ambiente, se sirvió en las placas Petri estériles.

3.4.4. Activación de la cepa fúngica

- La activación de la cepa de *Cándida albicans* ATCC 90028 se hizo de acuerdo a las instrucciones del distribuidor. Se tomó una muestra de la misma y se procedió a formar un inóculo en un tubo de ensayo con 10 mL de caldo Sabouraud, el tubo se incubó por un periodo de 24 horas a temperatura de 37 °C, el cambio en la turbidez de una solución transparente a una solución turbia, nos indicó la viabilidad.
- Luego se procedió a sembrarlos en Chromagar y Sabouraud con la finalidad de aislar el microorganismo.

a) Obtención de la cepa fúngica de *Cándida Albicans*.

La cepa fúngica de ATCC 90028 de *Cándida albicans* se obtuvo de un distribuidor certificado y se hizo la verificación del microorganismo por el

método directo de tinción Gram mediante el examen microscópico se observó las levaduras y para la identificación fúngica, se sembró en Chromagar.

b) Preparación el inóculo fúngico de *Cándida albicans* ATCC 90028

- Se estandarizó la turbidez del inóculo basándose en la escala de Mc. Farland 0,5 de la medida con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm. Se colocó el inóculo en cada una de las cajas Petri que contenían el agar Mueller Hinton, se utilizó la técnica de siembra por agotamiento o de extensión en superficie por hisopo.

c) Consideraciones para el manejo de muestras microbiológicas

- Se debe proceder a la correcta obtención, manipulación, almacenamiento y conservación de cada uno de los materiales biológicos.
- Las placas de Petri con los cultivos micóticos utilizados en la investigación fueron inactivados en autoclave antes de ser eliminados como residuos biocontaminados.

3.4.5. Colocación de los discos en las placas inoculadas

- Se procedió a colocar 5 discos de difusión en las placas Petri estériles del primer ensayo y rotuladas como: 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, control negativo de acuerdo a la sustancia empleada para las concentraciones como el DMSO y alcohol. Posteriormente mediante una micropipeta manual, se colocó 21 μ L de cada concentración a cada una de las sustancias empleadas en los discos y se colocó en la incubadora.
- En el segundo ensayo se colocó un total de 4 discos de la misma concentración de 21 μ L en cada placa Petri con agar Mueller Hinton que contenía el inóculo de *Cándida albicans*. Y en el tercer ensayo se procedió a poner un disco de cada concentración de hierba luisa y uña de gato en cada placa Petri inoculada con *Cándida albicans* ATCC 90028.
- Se realizó un total de 10 ensayos para validar los resultados obtenidos.

3.4.6. Aislamiento de la cepa *Cándida albicans* de un paciente

- Se sembró la orina del paciente en agar Sabouraud y Chromagar para la identificación de *Cándida albicans*.
- Se puso las placas a incubar durante 24 – 48 horas, se examinó visualmente el crecimiento de las colonias, se identificó mediante sus características del color, olor, forma de las colonias crecidas en cada agar y mediante coloración Gram, se confirmó en el microscopio el crecimiento de levaduras de *Cándida albicans*.
- Se hizo el inóculo según la escala de Mc. Farland con una turbidez de 0,5 y se sembró en agar Mueller Hinton, la técnica de siembra fue de extensión en superficie por hisopo, se puso los discos de control positivo con nistatina y 4 discos con las concentraciones de la hierba luisa y uña de gato.
- En el segundo y tercer ensayo se puso solo un disco en cada placa Petri de agar Mueller Hinton inoculado con la *Cándida albicans* para obtener una mejor medida del halo de inhibición.

3.4.7. Periodo de incubación de las cepas

- El periodo de incubación fue de 48 a 72 horas, a temperatura estándar de 37 °C, proceso necesario para el desarrollo de la *Cándida* y de la formación de halos de inhibición.

3.4.8. Lectura de halos de inhibición.

- Después de la incubación, cada placa es examinada y se procedió a la lectura de los diámetros de los halos de inhibición, los cuales fueron medidos individualmente cada halo de inhibición en milímetros, formados en cada uno de los discos embebidos con hierba luida y uña de gato en sus diferentes concentraciones presentes en las placas sembradas.

IV. RESULTADOS

4.1. Obtención del aceite esencial de hierba luisa

Peso de hierba luisa	1860 g
Peso de aceite esencial	4.2 g
Rendimiento	0.226 %

Principales características físicas del aceite esencial de hierba luisa

Apariencia	Oleosa
Olor	Característico
Color	Amarillo claro
Índice de refracción	1.4845-1.4850 (26 °C). Línea espectral D del sodio.
Densidad promedio	0.9584 g/ml (26 °C)

4.2. Obtención del extracto alcohólico de uña de gato:

Peso de corteza seca de uña de gato	47.7 g
Volumen de alcohol 96°	250 mL
Volumen de extracto alcohólico concentrado	40 mL

Apariencia	Resinosa
Olor	Característico a madera
color	Caramelo
Índice de refracción	1.457 (26 °C). Línea espectral D del sodio.
Densidad promedio	1.0512 g/mL (26 °C)

4.3. Actividad inhibitoria del aceite esencial de hierba luisa y extracto alcohólico de uña de gato

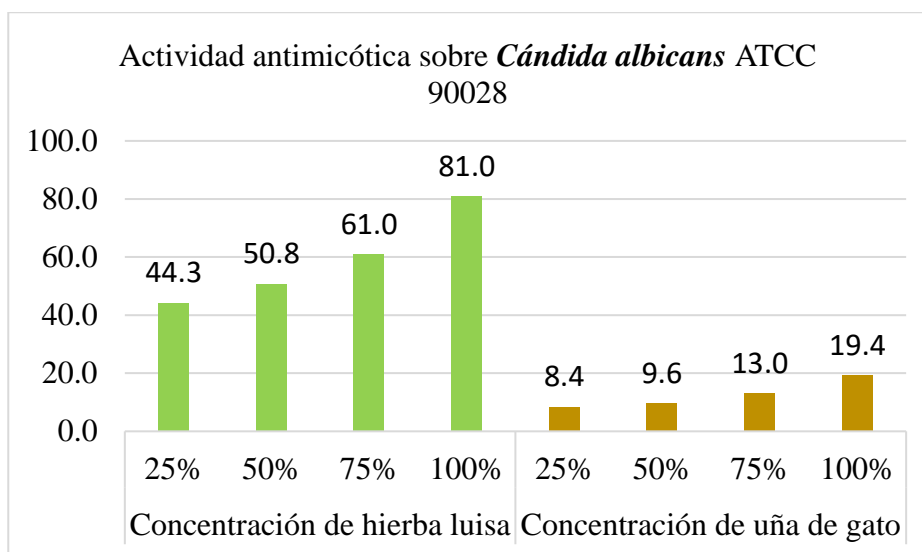
Tabla 3. Cuadro elaborado para la medición de halos de acuerdo a los milímetros de inhibición del hongo por medio de los discos en diferentes concentraciones M27-A3 Y M27-S4 del CLSI.

<i>Cándida albicans</i> ATCC 90028	Lectura de halos								Control positivo Nistatina
	Concentración de uña de gato				Concentración de hierba luisa				
	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	
Ensayo 1	8 mm	10 mm	13 mm	20 mm	45 mm	50 mm	61 mm	81 mm	50 mm
Ensayo 2	8 mm	10 mm	12 mm	20 mm	45 mm	50 mm	62 mm	82 mm	50 mm
Ensayo 3	8 mm	10 mm	12 mm	16 mm	45 mm	50 mm	60 mm	80 mm	50 mm
Ensayo 4	8 mm	9 mm	13 mm	16 mm	43 mm	50 mm	60 mm	80 mm	50 mm
Ensayo 5	9 mm	10 mm	12 mm	20 mm	43 mm	52 mm	60 mm	80 mm	50 mm
Ensayo 6	9 mm	9 mm	13 mm	18 mm	45 mm	50 mm	61 mm	81 mm	50 mm
Ensayo 7	9 mm	9 mm	13 mm	20 mm	45 mm	52 mm	62 mm	82 mm	50 mm
Ensayo 8	9 mm	9 mm	14 mm	20 mm	44 mm	52 mm	60 mm	80 mm	50 mm
Ensayo 9	8 mm	10 mm	14 mm	22 mm	43 mm	52 mm	62 mm	82 mm	50 mm
Ensayo 10	8 mm	10 mm	14 mm	22 mm	45 mm	50 mm	62 mm	82 mm	50 mm
Suma	84	96	130	194	443	508	610	810	
Media	8.4 mm	9.6 mm	13.0 mm	19.4 mm	44.3 mm	50.8 mm	61 mm	81 mm	
Des. Están.	0.516398	0.516398	0.816497	2.1187	0.948683	1.032796	0.942809	0.942809	

Tabla 4. Resumen de medias de halos de inhibición para *Cándida albicans* ATCC 90028

	Concentraciones	Media	Desviación Estándar
Uña de gato	25%	8,4 mm	0,51
	50%	9,6 mm	0,51
	75%	13.0 mm	0,81
	100%	19,4 mm	2,11
Hierba luisa	25%	44,3 mm	0,94
	50%	50,8 mm	1,03
	75%	61.0 mm	0,94
	100%	81.0 mm	0,94

Gráfico N° 1. Tendencia de la media en la lectura de halos para *Cándida albicans* ATCC 90028



Al comparar los halos de inhibición de las dos sustancias empleadas en sus diferentes concentraciones contra la cepa de *Cándida albicans* ATCC 90028 se observó diferencias entre el aceite esencial de hierba luisa y el extracto alcohólico de uña de gato al 25% de concentración la hierba luisa tuvo un halo de inhibición de 44.3 mm \pm 0.94 y la uña de gato tuvo un halo de inhibición de 8.4 mm \pm 0.51, al 50% hierba luisa presento un halo de inhibición de 50 mm \pm 1.03 y la uña de gato 9,6 mm \pm 0.51, al 75% la hierba luisa tiene un

halo de inhibición de $61.0 \text{ mm} \pm 0.94$ y la uña de gato $13.0 \text{ mm} \pm 0.81$ y al 100% la hierba luisa tuvo un halo de $81.0 \text{ mm} \pm 0,94$ y la uña de gato $19.4 \text{ mm} \pm 2.11$.

Tabla 5. Interpretación de la medida de los halos de inhibición de las concentraciones de hierba luisa y uña de gato según la escala de Duraffourd.

Fungigrama ATCC 90028 según la escala de Duraffourd			
		Sensible	Intermedio
	Concentraciones	Rango $\geq 13 \text{ mm}$	Rango $\geq 9 \text{ mm}$
			Rango $\leq 9 \text{ mm}$
Hierba luisa	25 %	44.3 mm	
	50 %	50.8 mm	
	75 %	61 mm	
	100 %	81 mm	
Uña de gato	25 %		8.4 mm
	50 %		9.6 mm
	75 %	13 mm	
	100 %	19.4 mm	

Con escala de Duraffourd se puede comparar la efectividad de la actividad antifúngica basándose en los rangos establecidos de sensibilidad donde el aceite esencial de hierba luisa tiene mayor actividad inhibitoria desde su concentración al 25 % y va aumentando el diámetro de inhibición conforme aumentan las concentraciones, mientras que el extracto alcohólico de uña de gato según el rango establecido de la en su concentración al 25 % su rango es resistente, al 50 % de concentración nos da un halo de inhibición de rango intermedio y en las concentraciones al 75 % y 100 % nos da resultados favorables obteniendo sensibilidad inhibitoria en el diámetro del halo contra la cepa *Cándida albicans* ATCC 90028.

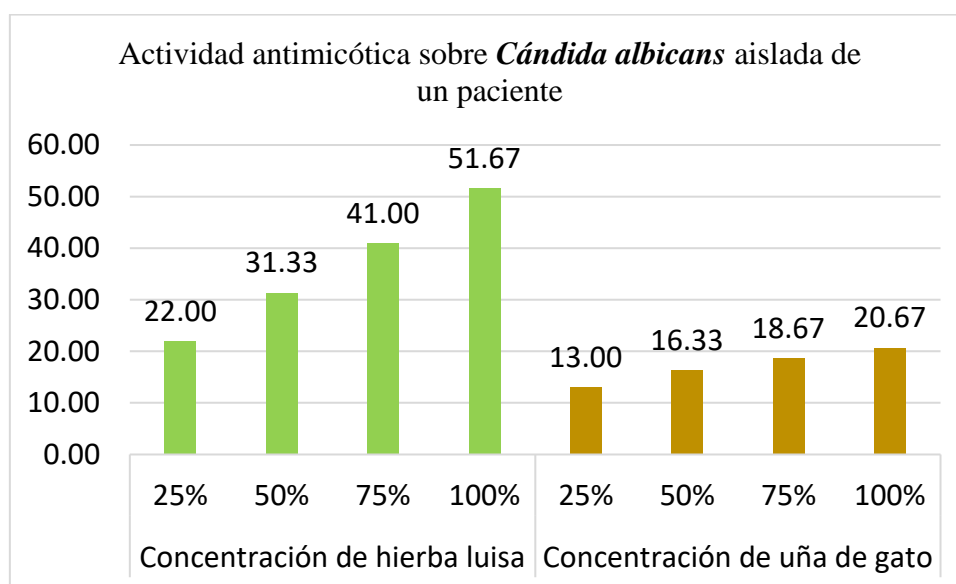
Tabla 6. Prueba que confirmativa la efectividad antimicótica de hierba luisa y uña de gato contra *Cándida albicans* aislada de un paciente.

<i>Cándida albicans</i> ATCC 90028	<i>Cándida albicans</i> aislada de un paciente								Control positivo	
	Concentración de hierba luisa (mm)				Concentración de uña de gato (mm)				Nistatina	Fluconazol
	25 %	50 %	75 %	100 %	25 %	50 %	75 %	100 %		
Ensayo 1	21 mm	32 mm	40 mm	51 mm	12 mm	15 mm	17 mm	19 mm		
Ensayo 2	22 mm	30 mm	41 mm	52 mm	14 mm	16 mm	19 mm	21 mm	28 mm	0 mm
Ensayo 3	23 mm	32 mm	42 mm	52 mm	13 mm	18 mm	20 mm	22 mm		
Suma	66 mm	94 mm	123 mm	155 mm	39 mm	49 mm	56 mm	62 mm		
Media	22.0 mm	31.3 mm	41.0 mm	51.6 mm	13.0 mm	16.3 mm	18.6 mm	20.6 mm		
Desviación estándar	1.0	1.1	1.0	0.52	1.0	1.52	1.52	1.52		

Tabla 7. Resumen de medias de halos de inhibición para *Cándida albicans* aislada de un paciente

	Concentraciones	Media	Desviación Estándar
Hierba luisa	25%	22.0 mm	1.0
	50%	31.3 mm	1.1
	75%	41.1 mm	1.0
	100%	51.6 mm	0.52
Uña de gato	25%	13.0 mm	1.0
	50%	16.3 mm	1.52
	75%	18.6 mm	1.52
	100%	20.6 mm	1.52

Gráfico N° 2. Tendencia de la media en la lectura de halos para *Cándida albicans* aislada de una paciente



La actividad antimicótica al 25 % de la hierba luisa tuvo un halo de inhibición de 22.0 mm \pm 1.0 y la uña de gato de 13.0 mm \pm 1.0, al 50 % hierba luisa presento un halo de inhibición de 31.3 mm \pm 1.1 y la uña de gato 16.3 mm \pm 1.52, al 75 % la hierba luisa tienen un halo de inhibición de 41.0 mm \pm 1.0 y la uña de gato 18.6 mm \pm 1.52 y al 100 % la hierba luisa tuvo un halo de 51.6 mm \pm 0.5 y la uña de gato 20.6 mm \pm 1.5 y la nistatina como control positivo

tuvo una medida de inhibición de 28 mm mientras que el Fluconazol no tuvo actividad antifúngica dando un halo de inhibición de 0 mm.

Tabla 8: Interpretación de la medida de los halos de inhibición según las concentraciones de hierba luisa y ña de gato según la escala de Duraffourd

Fungigrama para <i>Cándida albicans</i> aislada de un paciente según la escala de Duraffourd			
		Sensible	Intermedio
	Concentraciones	Rango ≥ 13 mm	Rango ≥ 9 mm
			Resistente
			Rango ≤ 9 mm
Hierba luisa	25 %	22.0 mm	
	50 %	31.3 mm	
	75 %	41.0 mm	
	100 %	51.6 mm	
Uña de gato	25 %	13.0 mm	
	50 %	16.3 mm	
	75 %	18.6 mm	
	100 %	20.6 mm	

Ambas sustancias tienen actividad inhibitoria contra *Cándida albicans* semejante al control positivo con Nistatina y se demostró el efecto antifúngico con resultados mejores de cepas aisladas que son resistentes al Fluconazol.

Si comparamos los gráficos 1 y 2 se observa que el aceite esencial de hierba luisa tiene mayor eficacia antimicótica que el extracto alcohólico de cortezas de ña de gato y ambos tienen acción inhibitoria sobre *Cándida albicans* aislada de un paciente en todas las concentraciones de estudio.

V. DISCUSIÓN

El extracto de corteza de uña de gato en bajas concentraciones tuvo un menor efecto inhibitorio, sin embargo, presenta una mayor actividad antifúngica cuando aumenta la concentración, resultado que coinciden con los obtenidos por Cadena (5) que utilizó un extracto hidroalcohólico e indica que la concentración al 100 % es la más efectiva al igual de los resultados que se reportan.

Respecto al efecto inhibitorio del aceite esencial de hierba luisa y extracto alcohólico de corteza de uña de gato frente a *Cándida albicans* aislada de una paciente, éstos presentan actividad antifúngica en todas las concentraciones de estudio donde se observa que el halo de inhibición de la hierba luisa tiene una medida semejante y hasta mayor que la Nistatina cuando se aumenta la concentración. Mientras que el Fluconazol no tuvo actividad ni efecto inhibitorio en la cepa aislada del paciente, siendo resistente a ese fármaco. Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Valverde (7) que indica que el aceite esencial de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), tiene halos inhibitorios con actividad antifúngica presentando bioactividad contra *Cándida albicans*. Resultados similares también obtuvo Cabanillas (4), que determinó la actividad antimicótica del extracto acuoso de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) sobre *Cándida albicans*.

El aceite esencial de hierba luisa a partir de la concentración del 50 % tiene un halo de inhibición mayor que la Nistatina. En los ensayos realizados se observó que inhibe el crecimiento de la *Cándida albicans* ATCC 90028 en todas sus concentraciones y al 100% inhibe el crecimiento de la cepa casi por completo. Estos resultados coinciden con la investigación de Maraví (8), que realizó pruebas de sensibilidad in vitro cuyos resultados muestran mayor efecto del aceite esencial de la hierba luisa frente a *Cándida albicans* y también tiene mayor efectividad antifúngica que el control positivo Nistatina.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

Se obtuvo aceite esencial de hierba luisa mediante extracción de arrastre de vapor con un rendimiento de 0,226 %, índice de refracción entre 1,4845-1,4850 y extracto alcohólico de corteza de uña de gato con índice de refracción igual a 1,457.

El aceite esencial de hierba luisa tiene efecto antimicótico contra *Cándida albicans* ATCC 90028 y contra *Cándida albicans* aislada de un paciente en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, el extracto alcohólico de corteza de uña de gato tiene efecto antimicótico contra *Cándida albicans* ATCC 90028 en concentraciones de 75 % y 100% y contra *Cándida albicans* aislada de un paciente en todas las concentraciones de estudio.

El aceite esencial de hierba luisa tiene mayor efectividad antifúngica que el extracto alcohólico de uña de gato contra *Cándida albicans*.

6.2. Recomendaciones

Realizar estudios de la actividad antifúngica de la hierba luisa y cáscara de uña de gato contra a otros tipos de hongos y microorganismos de interés para comparar la acción inhibitoria que generan frente a otro tipo de fármacos de elección.

Emplear los resultados de la investigación sobre la actividad inhibitoria de los principios activos que tienen la hierba luisa y uña de gato contra *Cándida albicans* en la elaboración de fitofármacos naturales antisépticos como cremas y jabones entre otros productos como una alternativa de tratamiento a las patologías ocasionadas por este hongo.

A la Universidad Nacional de Jaén, promover investigaciones sobre las propiedades antimicrobianas, antivirales, antifúngica y antiparasitarias de diversas plantas medicinales.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-Flores M. Investigación de los Aceites Esenciales, sus Características y Finalidad de Uso. [Online]; 2010 Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2010/qf-flores_mc/html/index-frames.html <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105352>.
- 2.-Cerna Chuquipoma V. Efecto antibacteriano in vitro del Aceite Esencial de *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Online].; 2016 Disponible en: repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/2785.
- 3.-Olea D. Presencia de *Candida Albicans* y su Relación con los Valores de CD4+ en Pacientes con Infección por VIH. España: Editorial Universidad de Granada; 1995.
- 4.-Cabanillas Espinoza D. Eficacia antimicótica del extracto acuoso de *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa” comparada con Clotrimazol, sobre *Candida albicans*. Estudio in vitro. [Online]. Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/549>.
- 5.-Cadena U. Efecto Antimicótico Del Extracto de *Uncaria Tomentosa* (Uña De Gato) Contra *Cándida Albicans*. Estudio in Vitro. [Online]. Ecuador; 2017 Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9436>.
- 6.-Meza K, Vargas G. Evaluacion de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hierva luisa(*Cymbopogon Citratus*, en una formulacion cosmetica con finalidad antiacneica. [Online].; 2013 Disponible en:<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6005/1/UPS-QT03735.pdf>.
- 7.-Valverde P. Composición Química, Potencial Antimicrobiano y Letal de los Aceites Esenciales de lasHojas de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), Mastrante (*Ageratum conyzoides*), Guabiduca (*Piper carpunya*), Ajenjo (*Artemisia absinthium*) y Cedrón (*Lippia citriodora*), C. [Online].; 2015. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2799>.
- 8.-Maraví G. Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de *Mentha piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Candida albicans* ATCC 90028. [Online].; 2012 Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/48>.

- 9.-Hernández A. Fitoterapia. Bases científicas y legales para su aplicación Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. [Online].; 2005 Disponible en: www.redalyc.org/revista.oa?id=856.
- 10.-Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. [Online].; 2016 Disponible en : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002.
- 11.-Manizales G. Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas. [Online].; 2004 Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/.
- 12.-Casado I. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. [Online].; 2018. Disponible en: <http://oa.upm.es/49669/>.
- 13.-Contreras D, Ruiz D. Estudio comparativo de dos métodos de extracción para el aceite esencial presente en la cáscara de Pomelo (Citrus Maxima). [Online].; 2012 Disponible en: http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/108/1/Proyecto%20final%20de%20grado%20_14-11-2012_.pdf.
- 14.-Paredo H. Aceites esenciales : Métodos de extracción. [Online].; 2009. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf).
- 15.-García Bermejo M, Silva García M. Manual del técnico superior de laboratorio de análisis clínicos. Módulo II México: MAD.S.L; 2004.
- 16.-Hernández R. Metodología de la Investigación. 6 ed. México DF: Mc Graw Hill Education; 2014.
- 17.- Díaz, A. Caracterización de los componentes volátiles del aceite esencial de la lima (citrus aurantifolia (Christm.) Swingle) [Tesis]. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Escuela Profesional de Química; 2008.

AGRADECIMIENTO

A mi familia y amistades que estuvieron presentes en todas las etapas de mi vida y por estar siempre conmigo dispuestos ayudarme cuando lo necesite.

A mi asesor M. Cs. Adán Díaz Ruiz por su paciencia y ayuda en todo el proceso de elaboración y ejecución de la presente investigación.

DEDICATORIA

En especial a mi madre por su esfuerzo, amor, paciencia y todo el apoyo que me brinda, a mis hermanos Ariadna y Neyser que son el motivo para seguir adelante, a mis abuelos Milciades y Graciela por haber estado conmigo gran parte de mi vida, a mis tías Angelica y Lucy que siempre me dieron ánimos, cariño y que están conmigo cuando las necesito. A mis tíos Carlos, Pablo y Noe.

ANEXOS

Anexo 1. Fotografías de los procedimientos experimentales de la extracción de aceite esencial y extracto alcohólico de uña de gato

a) Extracción del aceite esencial de hierba luisa



Seleccionando las hojas frescas de hierba luisa



Extracción por arrastre de vapor de agua



Recolección de aceite esencial de hierba luisa



Determinación del índice de refracción del aceite esencial de hierba luisa

b) Extracción alcohólica de la uña de gato en equipo Soxhlet



Preparando las cortezas de uña de gato



Extracción Soxhlet con alcohol 96°



Extracto alcohólico concentrado por
destilación

c) Preparación de diluciones



Solvente dimetilsulfoxido (DMSO)



Concentraciones al 25, 50, 75 y 100 % de aceite esencial de hierba luisa



Solvente alcohol etílico 70°



Concentraciones al 25, 50, 75 y 100 % de extracto alcohólico de uña de gato

d) Activación de la cepa *Cándida albicans* ATCC 90028



Cepa estandarizada de *Cándida albicans* ATCC 90028



Agar Caldo Sabouraud inoculado con la cepa activada para confirmar su viabilidad de la cepa

e) Sembrado de la cepa



Sembrado de la cepa en Chromagar para aislar las colonias de *Cándida albicans*



Aislamiento de la *Cándida albicans* ATCC 90028 en Chromagar

f) Preparación de medios de cultivo y placas Petri

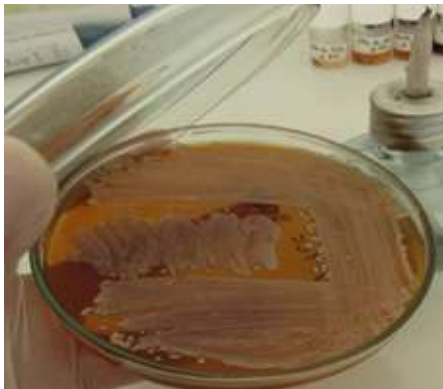


Agares



Placas Petri servidas con agar Mueller Hinton

g) Preparación del inóculo



Colonias aisladas de *Cándida albicans*



Tubos tapa rosca



Cloruro de sodio



Medida de la turbidez según la escala de Mc Farland



h) Siembra por agotamiento de hisopo en agar Mueller Hinton



Sembrado del inóculo de *Cándida albicans*

i) Discos embebidos y puestos en las placas



Discos antifúngicos



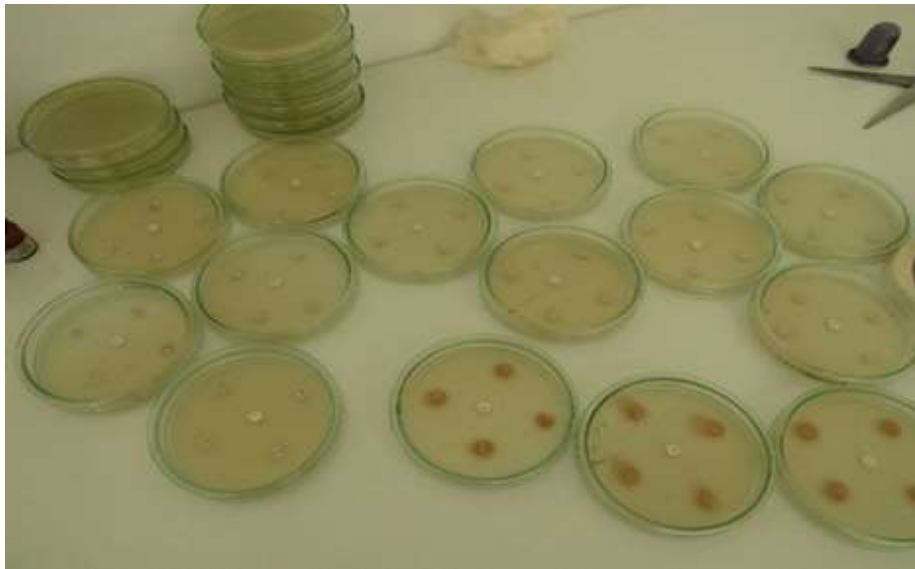
Discos vacíos estériles



Embebiendo el disco con las sustancias con ayuda de una micropipeta



Colocando el disco de control positivo con una aguja estéril



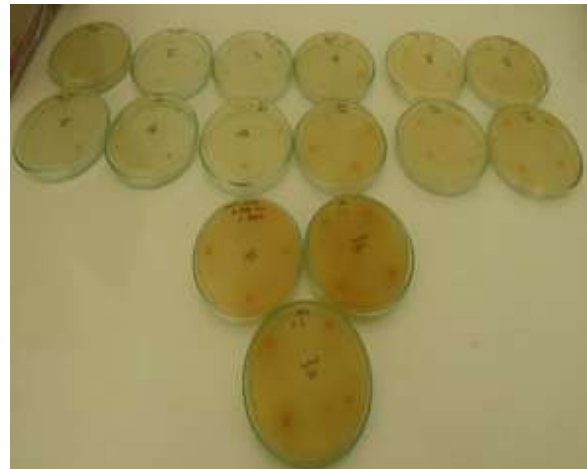
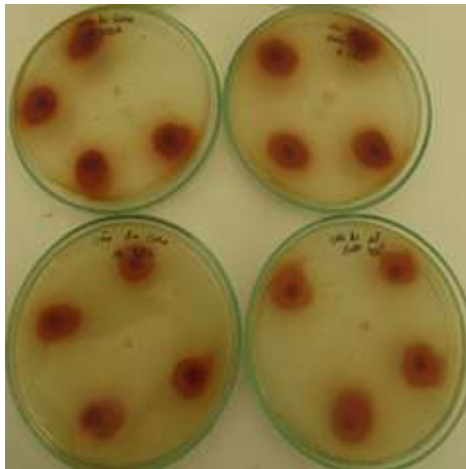
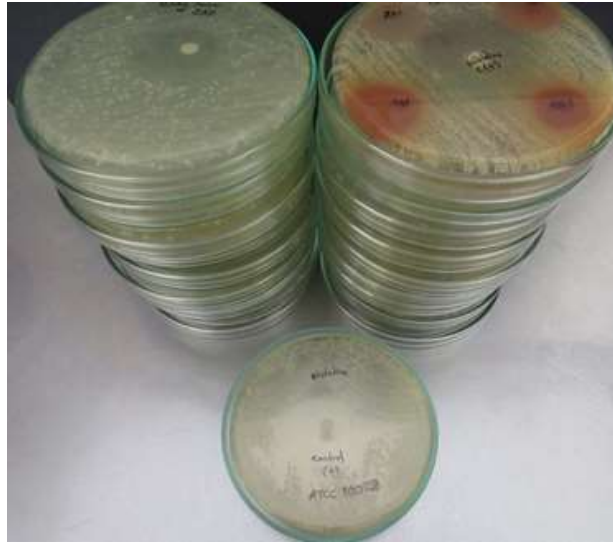
Discos embebidos y puestos en placas en sus diferentes concentraciones

j) Incubación de todas las placas Petri



Anexo 2. Fotografías de la determinación de halos de inhibición.

a) Examinado del crecimiento de microorganismos



Placas inoculadas con *Cándida albicans*

b) Lectura de halos de inhibición contra *Cándida albicans* ATCC 90028



Controles negativos con DMSO y alcohol en placa inoculada con *Cándida albicans*



Control positivo con disco de Nistatina



Concentración de aceite esencial de hierba luisa al 25 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028





Concentración de aceite esencial de hierba luisa al 50 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028



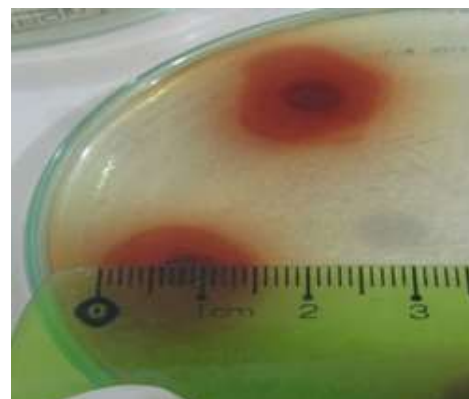
Concentración de aceite esencial de hierba luisa al 75 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028



Concentración de aceite esencial de hierba luisa al 100 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028



Concentración de extracto alcohólico de uña de gato al 25 % y 50 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028



Concentración de extracto alcohólico de uña de gato al 75 % y 100 % contra *Cándida albicans* ATCC 90028

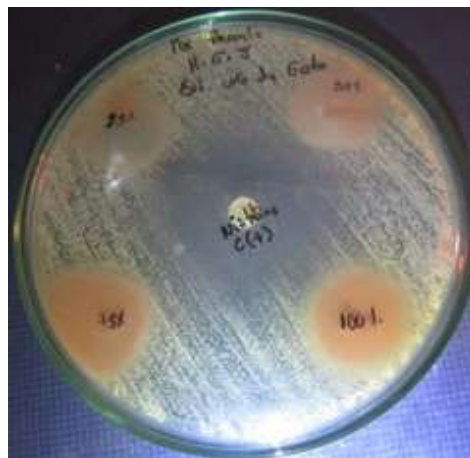
c) Lectura de halos de inhibición contra *Cándida albicans* de muestra de paciente



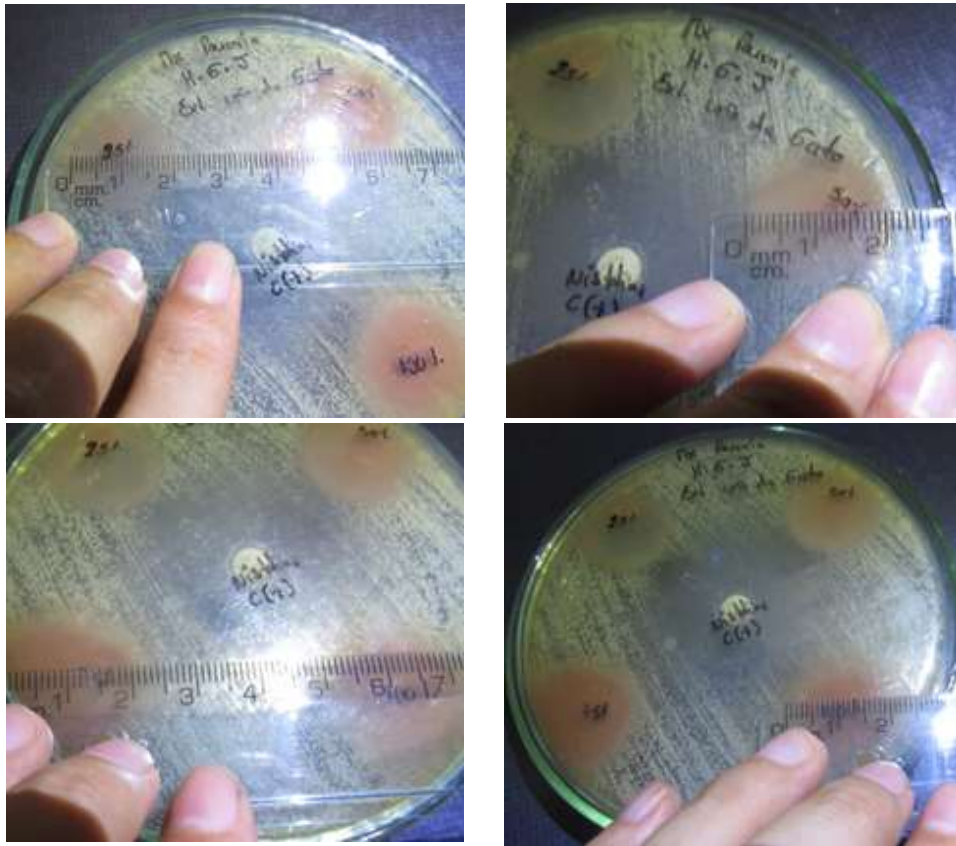
Muestra de orina



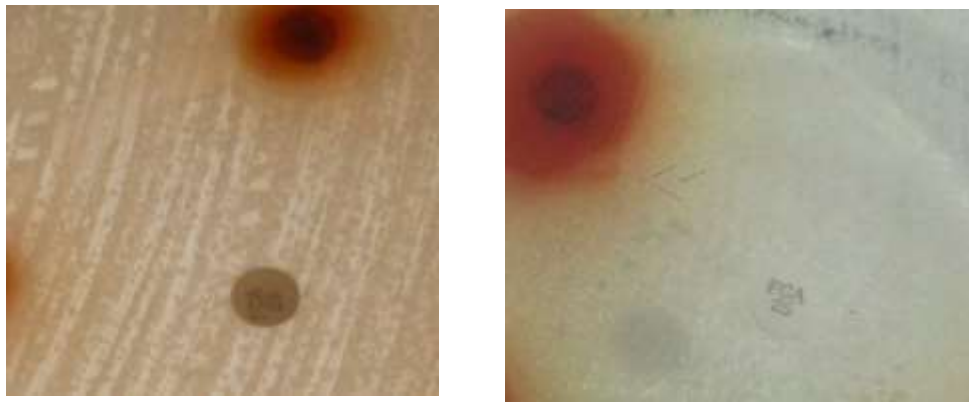
Crecimiento de las colonias de *Cándida albicans* en Chromagar y agar Sabouraud



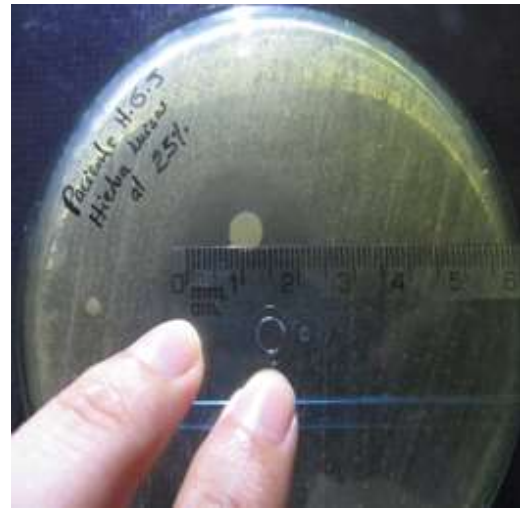
Medición del diámetro del halo de inhibición del control positivo con Nistatina



Ensayos con extracto alcohólico de uña de gato al 25 %, 50 %, 75 %, 100 %



Medición de halos de inhibición de uña de gato con Fluconazol
 (No hubo halo de inhibición en los ensayos del paciente con los discos de Fluconazol)



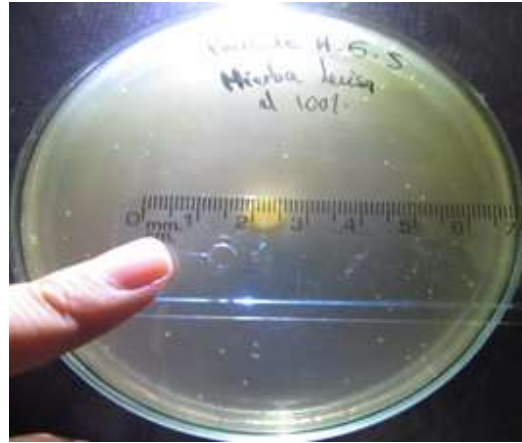
Ensayos con aceite esencial de hierba luisa concentración al 25 %



Ensayos con aceite esencial de hierba luisa concentración al 50 %



Ensayos con aceite esencial de hierba luisa concentración al 75 %



Ensayos con aceite esencial de hierba luisa concentración al 100 %
(Inhibe casi por completo el crecimiento de la *Cándida albicans* aislada de un paciente)

Anexo 3: Equipos empleados en la investigación



Equipo de extracción de aceites esenciales por arrastre de vapor de agua



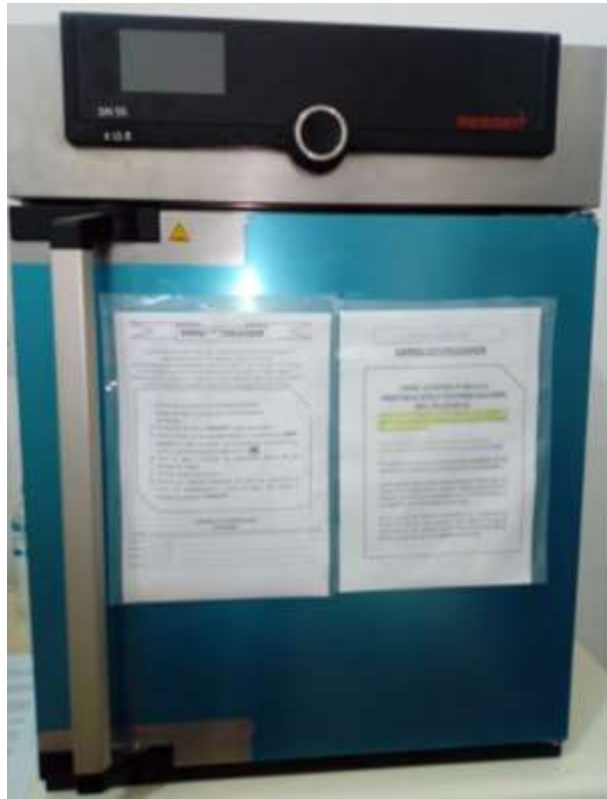
Equipo extractor Soxhlet.



Autoclave



Incubadora



Horno esterilizador


Anexo 4: Certificado de la Cándida ATCC 90028 (American Type Culture Collection)



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0264 Lot Number: 264-32** Reference Number: ATCC® 90028™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2018/5/31
--	---

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, circular, convex, entire edge, cream, glistening, opaque. Microscopic Features: Gram positive, ovoid, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive Fluconazole (Etest MIC - mcg/mL): 0.125 - 0.5  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
---	--

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. as licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0264
 Sample ID: 264-32
 Sample Creation Date/Time: 2018-05-14T17:08:28.237 TB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E3 (+++)(A)	264-32	Candida albicans	2.15