



**UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**“EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare*
(ORÉGANO) y *Mentha piperita* (MENTA) FRENTE A CEPAS DE
Cándida albicans. ESTUDIO *IN VITRO*”. LIMA 2016**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA
Presentado por:**

BACHILLER: COLPA ZAMORA, MAX DICKSON.

ASESOR: CD. Esp. CUPÉ ARAUJO, ANA CECILIA

**LIMA – PERÚ
2016**

Dedicatoria

A mis padres que siempre me alentaron a seguir una carrera y no desistir jamás; a pesar de las dificultades y esfuerzo que esta conlleva.

Agradecimiento

A mis maestros por todos los conocimientos brindados durante mi formación profesional.

A mi asesora de tesis la CD Cupé Araujo Ana Cecilia por el apoyo brindado durante la realización de la tesis.

A mis padres por darme el aliento necesario y enseñarme a luchar siempre.

Asesor de tesis
CD. Esp. CUPÉ ARAUJO ANA CECILIA

JURADO

Presiente: Mg. CD. César Augusto, Adrianzen Acurio.

Secretario: Mg. CD. Federico Martin, Malpartida Quispe.

Vocal: CD. Esp. Renzo Nicolás Nazario Riquero.

ÍNDICE

RESUMEN	10
SUMMARY	11
1. CAPITULO I: EL PROBLEMA	12
1.1. Planteamiento del problema.....	12
1.2. Formulación del problema.....	13
1.3. Justificación.....	13
1.4. Objetivo.....	14
1.4.1. General	14
1.4.2. Específicos	14
2. CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	15
2.1. Antecedentes:	15
2.5. Variables	36
3. CAPÍTULO III: DISEÑO Y MÉTODO.....	37
3.1. Tipo y nivel de investigación	37
Tipos de Estudio:	37
Explicativo:.....	38
4. CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1. Resultados	43

4.2. Discusión.....	48
5. CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
5.1. Conclusiones.....	53
5.2. Recomendaciones	54
ANEXO N°1	63
ANEXO N°2.....	64
ANEXO N°3.....	65
ANEXO N° 4.....	66
ANEXO N°5.....	67
ANEXO N°6.....	68
ANEXO N°7: Fotos del procedimiento en Laboratorio:.....	69
ANEXO N°8:.....	71

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. _____	43
Efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> (Orégano) al 25% 50% 75% 100% frente cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 horas.	
Tabla 2. _____	43
Efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> (Orégano) al 25% 50% 75% 100% frente cepas de <i>Candida albicans</i> a las 48 horas.	
Tabla 3. _____	44

Comparación del efecto inhibidor del **Origanum Vulgare (Orégano)** según su concentración a las 24 y 48 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

Tabla 4. _____ 45

Efecto inhibidor del aceite esencial de **Mentha piperita** (Menta) al 25% 50% 75% y 100% frente cepas de **Candida albicans** a las 24 horas.

Tabla 5. _____ 45

Efecto inhibidor del aceite esencial de **Mentha Piperita** (Menta) al 25% 50% 75% 100% frente cepas de **Candida albicans** a las 48 horas.

Tabla 6. _____ 46

Comparación del efecto inhibidor de la **Menta Piperita (Menta)** según su concentración a las 24 y 48 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

Tabla 7. _____ 47

Comparación de la eficiencia inhibitoria entre grupos según la concentración a las 24 horas

Tabla 8. _____ 47

Comparación de la eficiencia inhibitoria entre grupos según la concentración a las 48 horas

Tabla 9. _____ 48

Comparación de la efectividad inhibitoria entre grupos según la concentración a las 24 horas

Tabla 10. _____ 48

Comparación de la efectividad inhibitoria entre grupos según la concentración a las 48 horas

RESUMEN

La *Candida albicans* es un hongo pleomórfico ya que además de levadura produce pseudohifas e hifas verdaderas, en el género *Cándida* hay muchas especies que pueden causar Candidiasis; infección causada por este hongo, también son flora normal en el hombre, ya que se encuentran en la piel, mucosas y el aparato gastrointestinal; pueden colonizar al hombre poco después del nacimiento aunque hay registros de que también en el periodo de gestación se puede presentar la infección por este género. El objetivo de este estudio es determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* en comparación a la nistatina frente a cepas de *Candida albicans*. Se prepararon 80 placas Petri con Agar Sabouraud y se inocularon las cepas de *Cándida albicans*; se dividió en 2 partes de 40 placas para el *Origanum vulgare* y 40 para *Mentha piperita*, se colocaron 4 pozos con las concentraciones (25%, 50%, 75% y 100), 1 pozo de control negativo con agua destilada y 1 pozo de control positivo con Nistatina para cada placa, haciendo un total de 6 pozos por placa Petri; las placas fueron incubadas a 37°C y se midieron los halos de inhibición generados a las 24 y 48 horas. Los datos se procesaron con la prueba estadística de comparación de medias para muestras independientes; con lo que se concluye que el *Origanum Vulgare* presenta un halo de inhibición a las 24 y 48 horas de 45.73mm y 46.35mm respectivamente, mayor que la Nistatina de 17.83mm y 18.20mm respectivamente; y con la *Mentha piperita* de 18.85mm y 19.88mm, muy cercano al de la Nistatina de 19.60mm y 20.30mm.

Palabras Claves: *Candida albicans*, *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, Nistatina

SUMMARY

Candida albicans is a pleomorphic fungus and in addition to yeast produce true pseudohifas and hyphae, in the genus *Candida* there are many species that can cause Candidiasis; Infection caused by this fungus, are also normal flora in man, as it is found in the skin, mucous membranes and gastrointestinal tract; They can colonize the man shortly after birth although there are records that also in the gestation period can present the infection by this genus. The aim of this study is to determine the inhibitory effect of the essential oil of *Origanum vulgare* and *Mentha piperita* compared to the nostalgia against strains of *Candida albicans*. 80 Petri dishes were prepared with Sabouraud Agar and the strains of *Candida albicans* were inoculated; It was divided into 2 parts of 40 plates for *Origanum vulgare* and 40 for *Mentha piperita*, 4 wells were placed with concentrations (25%, 50%, 75% and 100), 1 negative control well with distilled water and 1 well of Positive control with Nystatin for each plate, making a total of 6 wells per petri dish; The plates were incubated at 37 ° C and inhibition halos generated at 24 and 48 hours were measured. The data were processed with the statistical test of comparison of means for independent samples; With this, it is concluded that the *Origanum Vulgare* presents a halo of inhibition at 24 and 48 hours of 45.73mm and 46.35mm respectively, higher than the Nystatin of 17.83mm and 18.20mm respectively; And with the *Mentha piperita* of 18.85mm and 19.88mm, very close to the fog of 19.60mm and 20.30mm.

KEY WORDS: *Cándida albicans*, *Origanum vulgare*, *Mentha piperita*, Nystatin

1. CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Al nacer la cavidad bucal es estéril; sin embargo, el número de microorganismos que ingresan en ella se eleva muy rápidamente (aproximadamente en 8 horas), siendo colonizada entonces por una gran variedad de microorganismos entre los que destacan los estreptococos, lactobacilos, estafilococos, *Veillonella*, *Neisseria* y organismos coliformes. (1); la cual es habitualmente comensal y mantiene un equilibrio armónico con el hombre. (2), pero hay microbiota bacteriana residente que se organiza en ecosistemas donde se encuentran especies que, en ocasiones, pueden comportarse como patógenos. (3)

Los fármacos están ligados a un sistema de salud “moderno”, mientras que las plantas medicinales, en el contexto tradicional, están ligadas a una concepción distinta del ser humano y de la naturaleza; no es sólo que ellas sean menos tóxicas, o más baratas, o más fáciles de conseguir, o incluso sean más eficaces, sino que las plantas medicinales nos devuelven la mirada a la naturaleza, a la armonía del ser humano con su entorno y a una cultura donde lo vegetal, en términos de salud, también tiene algo que ofrecernos. (4) Algunas plantas medicinales en el área de la salud dental están siendo utilizadas en diversas formulaciones farmacéuticas, ya que poseen innumerables sustancias químicas (5, 6), así tenemos: los enjuagues bucales, colutorios, soluciones tópicas, pasta dental, entre otros. (7) Además, la popularidad de las plantas medicinales va en aumento, hoy en día existe más gente que descubre en la fitoterapia una vía muy eficaz y barata de cuidar su salud. (8)

Por todo lo planteado, el presente trabajo pretende determinar el efecto inhibidor de *Mentha piperita* y *Origanum vulgare* en comparación a la nistatina sobre *Candida Albicans*.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál será el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Candida albicans*?

1.3. Justificación

La importancia de una investigación de origen natural y eficaz, radica en que pueda estar a la disponibilidad de toda la población y de poner a demostración el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* sobre las cepas de *Candida Albicans*.

De los resultados que se obtengan en la presente investigación sobre el efecto inhibidor de ambos aceites esenciales, se podrá generar una alternativa nueva de tratamiento o como coadyuvante sobre la candidiasis bucal, al ser de bajo costo y fácil acceso se facilitaría en un futuro a la producción de nuevos colutorios bucales que posean actividad antimicótica sobre la *Candida Albicans*.

El estudio del efecto inhibidor del *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* sería de gran utilidad con el fin de servir como medicación natural ya que no causaría irritación ni

ocasionaría efectos adversos, como si lo hacen otros medicamentos utilizados en la actualidad.

Esta investigación contribuirá como antecedente para que se realicen más investigaciones y poder aplicar la medicina natural clínicamente en contra de patógenos muy comunes encontrados en Odontología.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (menta) en comparación a la nistatina frente a cepas de *Cándida albicans*.

1.4.2. Específicos

1. Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por el *Origanum vulgare* (Orégano) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Candida albicans* a las 24 horas.
2. Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por el *Origanum vulgare* (Orégano) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Candida albicans* a las 48 horas.
3. Comparar del efecto inhibidor del aceite esencial generado por el *Origanum Vulgare* (Orégano) según su concentración frente a cepas de *Cándida albicans* a las 24 y 48 horas.

4. Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por la Menta Piperita (Menta) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Cándida albicans* a las 24 horas.
5. Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por la Menta Piperita (Menta) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Cándida albicans* a las 48 horas.
6. Comparar del efecto inhibidor del aceite esencial generado por la Menta Piperita (Menta) según su concentración frente a cepas de *Cándida albicans* a las 24 y 48 horas.
7. Comparar la efectividad inhibitoria entre el aceite esencial generado por el Origanum Vulgare (Orégano) y la Menta Piperita (Menta) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Cándida albicans* a las 24 horas.
8. Comparar la efectividad inhibitoria entre el aceite esencial generado por el Origanum Vulgare (Orégano) y la Menta Piperita (Menta) al 25%, 50%, 75% y 100% frente a las cepas de *Cándida albicans* a las 48 horas.

2. CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes:

Samber N. et al. (2015): Realizaron un estudio con el objetivo de esclarecer la actividad y modo de acción antifúngica del aceite esencial *Mentha piperita*. El aceite esencial *Mentha piperita* y sus compuestos de plomo ejercen actividad antifúngica mediante la reducción de los niveles de ergosterol, la inhibición de PM-ATPasa que conduce a la acidificación intracelular, y muerte celular. Materiales y métodos: Los

componentes químicos del aceite esencial de menta fueron identificados mediante la inyección de 0,1 ml de la muestra en un modo sin división. MIC se determinó por el método de dilución en caldo. Se concluyó que la sinergia con fluconazol se evaluó mediante el ensayo de tablero de ajedrez y FICI. El aceite esencial de *Mentha piperita* y sus componentes son agentes antifúngicos potenciales que presenta sinergismo con el fluconazol. (9)

Felsociová S. et al. (2015) Realizaron un estudio en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Agricultura en Nitra, Eslovaquia. El objetivo fue examinar 15 aceites esenciales de las especies de plantas seleccionadas como *Lavandula angustifolia*, *Carum carvi*, *Pinusvar mugo. pumilio*, *Mentha piperita*, *Chamomilla recutita L.*, *Pinus sylvestris*, *Satureia hortensis L.*, *Origanum vulgare L.*, *Pimpinella anisum*, *Rosmarinus officinalis L.*, *Salvia officinalis L.*, *abietis albia etheroleum*, *Chamomilla recutita L. Rausch*, *Thymus vulgaris L.*, *Origanum vulgare L.* para saber la actividad antifúngica contra cinco especies de *Penicillium*: *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium expansum* y *Penicillium griseofulvum*. El método utilizado fue el método de difusión por disco. El estudio destaca el amplio espectro de actividad antifúngica de aceites esenciales contra los hongos *Penicillium*. Había cinco aceites esenciales de los 15 mencionados anteriormente, que mostraron una actividad antifúngica elevada como la: *Pimpinella anisum*, *Chamomilla recutita L.*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare L.* La actividad antifúngica de mayor efecto letal contra todas las *Penicillia*, resultó ser el *Origanum vulgare L.* y *Pimpinella anisum*. (10)

Samber N. et al. (2014): Realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Mentha piperita* en *Candida spp.* El aceite esencial de *Mentha piperita* mostró un alto contenido de mentol, carvona y mentona, la actividad antifúngica de los cuales se determinó frente a *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. El MIC media del aceite esencial de *Mentha piperita*, carvona y mentol fue 225µg / ml, 248µg / ml y 500µg / ml, respectivamente. A valores de MIC, células mostraron retraso y suprimen la fase exponencial de crecimiento. En MIC, el crecimiento celular fue completamente terminado y no se observaron zonas claras de inhibición en placas de agar en todos los casos. La secreción de enzimas hidrolíticas y levaduras a la transición de las hifas se estudió como factores de virulencia. Estos compuestos mostraron muy baja hemólisis en comparación con fluconazol. Concluyeron que el aceite esencial de *Mentha piperita* y sus componentes inhiben significativamente la virulencia de *Candida* en cepas susceptibles y resistentes. (11)

Mahboubi M., Kazempour N. (2014): Realizaron un estudio con el objetivo de analizar la composición química del aceite esencial de la parte aérea de la floración de la *Mentha piperita* por GC y GC / MS, y evaluar su actividad antimicrobiana contra las bacterias, los hongos y las levaduras por ensayo de microdilución en caldo, en el Departamento de Microbiología, Centro de Investigación de Plantas Medicinales de Barij, Kashan, Iran. *Candida albicans* fue el microorganismo más sensible y *Pseudomona aeruginosa* fue la menos sensible. El aceite mostró actividades

sinérgicas con vancomicina, gentamicina y anfotericina B con el FICI menos de 0,5. Este aceite se podría utilizar como antifúngico natural. (12)

Brum C. et al. (2013): Realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la actividad in vitro del aceite esencial extraído de *Origanum vulgare* contra dieciséis especies de *Candida*. Seis *Candida albicans* aisladas de la mucosa vaginal de las hembras, una cepa aislada de tegumento cutáneo de un perro y un aislamiento de un mono capuchino se probaron en paralelo. Se utilizó una técnica de microdilución en caldo (CLSI), y la concentración de inóculo se ajustó a 5×10^6 CFU ml⁻¹. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación en un aparato de Clevenger y se analizó por cromatografía de gases. La susceptibilidad se expresó como la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la mínima concentración fungicida (MFC). Todos los microorganismos aislados in vitro fueron sensibles al aceite esencial *Origanum vulgare*. El análisis cromatográfico reveló que los principales compuestos presentes en el aceite esencial eran 4-terpineol (47,95%), carvacrol (9,42%), timol (8,42%) y terpineol (7,57%). La actividad antifúngica del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Candida* spp. observado in vitro sugiere que su administración puede representar una alternativa de tratamiento para la candidiasis. (13)

Maravi G. (2012) realizó un estudio en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Cayetano Heredia. El objetivo fue de determinar el efecto antibacteriano y antifúngico de los aceites esenciales de: *Mentha piperita* (Menta), *Origanum vulgare*

(Orégano) y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) mediante el método de difusión en agar con disco, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028. Los aceites esenciales, fueron comparados con Nistatina como control positivo (para los hongos) y Gluconato de Clorhexidina al 0.12% (para las bacterias) y como control negativo se utilizó: agua destilada. De los tres aceites esenciales, el que tuvo mayor efecto sobre *Streptococcus mutans* fue el Orégano, frente a *Lactobacillus acidophilus* fue la hierba luisa, que al 100% causo un halo de inhibición de 20.15 mm a las 24 horas, mientras que la hierba luisa al 50% causo un halo de inhibición de 13.83 mm a las 24 horas, asimismo, la hierba luisa mostro efectividad anti fúngica frente a *Candida albicans*, causando la hierba luisa al 90% un halo de inhibición de 76.15 mm a las 24 horas, y hierba luisa al 50% un halo de inhibición de 19.59 mm. En conclusión 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% que su acción fue menor que los controles positivos. (14)

Saharkhiz M. et al. (2012): Realizaron un estudio con la finalidad de determinar la actividad antifúngica del aceite esencial de *Mentha piperita*, en Universidad de Ciencias Médicas Shiraz, Iran. Se determinaron las variaciones en la cantidad y calidad de aceite esencial a partir de las partes aéreas de *Mentha piperita* cultivada. El aceite esencial de la muestra secada al aire se obtuvo por un método hidrodestilación y se analizó por espectrometría de una cromatografía de gases / masas (GC / MS). La actividad antifúngica del aceite esencial fue investigada por métodos de microdilución

en caldo según lo recomendado por Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. Una inhibición de la formación de biopelículas se midió usando un ensayo de reducción XTT. El mentol (53,28%) fue el compuesto principal del aceite esencial seguido de acetato de mentilo (15,1%) y Mentofurano (11,18%). El aceite esencial exhibe fuertes actividades antifúngicas contra los hongos examinadas en concentraciones que van desde 0,12 hasta 8,0 l / mL. Además, el aceite esencial inhibe la formación de biopelículas de *Candida albicans* y *C. dubliniensis* en concentraciones de hasta 2 l / mL. Teniendo en cuenta la amplia gama de las actividades antifúngicas del aceite esencial examinado, podría utilizarse potencialmente en el tratamiento de infecciones fúngicas o en la extensión de la vida útil de los productos alimenticios. (15)

Moura J. et al. (2011): Realizaron un estudio con el fin de investigar la actividad de los aceites esenciales contra las cepas de *C. tropicalis*, utilizando el método de difusión en disco, la mínima concentración inhibitoria (MIC) y la mínima concentración fungicida (MCF). En el método de difusión en disco, con los aceites esenciales de *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia caryophyllata* y *Origanum vulgare* se obtuvieron mayores valores de inhibición. La MIC y MCF del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* fueron 512 y 1024 µg/mL, mientras que los de la anfotericina B fueron idénticos, 2 µg/mL. Por lo tanto, se puede concluir que el aceite esencial de *E. caryophyllata* y *Origanum vulgare* tienen potente actividad antifúngica y puede ser objeto de nuevos estudios sobre esta actividad. (16)

Castilho P. et al. (2011) realizaron un estudio en el Centro de Química de la Universidad de Madeira en Portugal, para probar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y los extractos de n-hexano del *Origanum vulgare* el cual se utilizó frente a 10 cepas de bacterias y levaduras, que se encuentran como microorganismos patógenos en la descomposición de alimentos humanos. Los extractos de aceites esenciales, n-hexano y compuestos aislados mostraron actividad moderada, en comparación a los antibióticos estándar, probando la inhibición de todas las bacterias ensayadas, excepto *Pseudomonas aeruginosa*. El microorganismo más sensible fue *Mycobacterium smegmatis*, alcanzando una concentración mínima inhibitoria de 25 mg/mL. Los resultados obtenidos sugieren una posible aplicación de estos aceites en la prevención de la patogenicidad y la alimentación humana, debido al crecimiento de microorganismos por el deterioro de los alimentos. (17)

Tyagi A, Malik A (2010): Realizaron una investigación en el Departamento de Biotecnología y Bioquímica de Ingeniería del Instituto Indio de Tecnología Delhi en Nueva Delhi, India con el objetivo de evaluar el efecto de los aceites esenciales para determinar el efecto inhibitor del aceite de *Mentha piperita* en fase líquida y vapor contra diferentes cepas bacterianas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*) cepas de hongos (*Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Mucor spp* y *Fusarium oxysporum*) y levaduras (*Candida Albicans* y *Sacchromyces cerevisiae*). Se determinó utilizando el método de difusión y el método de volatilización de disco, respectivamente. La concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración

mínima bactericida y fungicida (MCB/MCF) de *Mentha piperita* es de 1,13 – 2,25 mg/ml y 2,25 a 9 mg/ml para las cepas bacterianas, de 1,13 a 2,25 mg/ml y 2,25 a 4,5 mg/ml para las cepas fúngicas; en el caso de levaduras fue de 1,13 mg/ml a 2,25 mg/ml. Los halos de inhibición variaron de entre 13mm. (*P. aeureginosa*) a 35 mm (*B. subtilis*), mientras que casi fue completa la inhibición frente a hongos. (18)

Hofling J. et al. (2010): Realizaron un estudio con el propósito de evaluar al diclorometano y metanol encontrados en los extractos de *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Arrabidaea chica*, *Tabebuia avellanedae*, *Punica granatum* y *Syzygium cumini* contra especies de *Candida* a través del análisis de la concentración mínima inhibitoria (MIC); en la Universidad Estadual de Campinas, Brasil. Las levaduras se cultivaron durante la noche a 37°C en placas de Agar Sabouraud Dextrosa y se prepararon inóculos; luego se añadió extracto diluido y se incubaron a 37°C durante 24 y 48 horas; se utilizó fluconazol como patrón de control en concentraciones que oscilaban entre 64 y 0.125 µg / ml. Las microplacas se incubaron a 37 ° C durante 48 horas. Los resultados obtenidos presentaron actividad de estos extractos frente a especies de *Candida*, especialmente el extracto de metanol. (19)

Carretto C. et al. (2010): Realizaron una investigación en la Escuela de Odontología de la Universidad Estatal de Sao Paulo con el objetivo de investigar in vitro los efectos del extracto hidroalcohólico, infusión y aceite esencial de *Mentha piperita* L. en *Candida* spp. Se evaluaron el extracto hidroalcohólico y aceite esencial con respecto a la actividad microbiana contra 50 cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*,

Candida tropicalis, *Candida parapsilosis* y *Candida krusei*. La concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto hidroalcohólico se determinó por el método de dilución en caldo y la actividad antimicrobiana de aceite esencial se determinó mediante la prueba de difusión en agar. El efecto de la infusión de *Mentha piperita* L. sobre la adherencia de cepas estándar de *Cándida* a resina acrílica se investigó también. Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico de *Mentha piperita* L. mostró actividad fungicida contra las cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*. El aceite esencial mostró una mayor actividad inhibitoria sobre cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. Infusión de *Mentha piperita* L. no inhibe la adherencia de *Cándida* de resina acrílica. En conclusión, *Mentha piperita* L. presentó mayor actividad antimicrobiana frente a las cepas de *C. albicans* y *C. tropicalis*, pero no mostró ningún efecto sobre la adhesión de estos microorganismos a la resina acrílica. (20)

2.2. Base teórica

2.2.1. Infecciones oportunistas

Las infecciones oportunistas son procesos infecciosos invasivos producidos por gérmenes habitualmente no patógenos que se manifiestan en estados de baja inmunidad; siendo los más frecuentes *Pneumocystis jiroveci*, *Aspergillus spp*, *Candida spp*. La *Candida albicans* es la causa más común de infecciones fúngicas en pacientes inmunodeficientes, provocando infecciones que van desde trastornos mucocutáneos hasta enfermedades invasivas. Frecuente también en pacientes inmunocompetentes

en edades extremas de la vida como lactantes y ancianos, además de gestantes. (21-23)

2.2.2. *Cándida albicans*

En el género *Cándida* hay muchas especies que pueden causar Candidiasis, estas son flora normal en el hombre, ya que se encuentran en la piel, mucosas y el aparato gastrointestinal; pueden colonizar al hombre poco después del nacimiento aunque hay registros de que también en el periodo de gestación se puede presentar la infección por este género. Las Candidiasis son las micosis sistémicas en el hombre y los agentes más comunes involucrados en la infección son: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis*. (24, 25)

La *Candida albicans* es un hongo pleomórfico ya que además de levadura produce pseudohifas e hifas verdaderas, esto sucede cuando en medio de agar se dejan crecer a temperatura de 37°C durante 24 horas esta crece en forma de levadura creando colonias de color crema de textura blanda y estas pseudohifas se observan en el medio de cultivo con crecimiento hacia abajo; esta es una prueba común para la diferenciación de la especie más patógena de la candida que es la *Candida albicans*; después de una incubación en suero por casi 90 minutos a 37°C las células de la *Candida albicans* empiezan a generar verdaderas pseudohifas llamadas tubo germinal y en un medio enriquecido lo suficiente produce clamidiosporas grandes y esféricas. Se pueden emplear pruebas como la fermentación y asimilación de carbohidratos para confirmar la identidad de la especie. (26)

2.2.2. Orégano (*Origanum vulgare*)

El término orégano deriva de los vocablos oros (montaña) y ganos (alegría), por la apariencia que da a los lugares donde crece. Con el nombre de orégano se conocen más de 53 especies diferentes e incluso familias, que por sus aceites esenciales de aromas parecidos se han utilizado indistintamente, se han utilizado con fines culinarios y medicinales desde el tiempo de los griegos y romanos; recomendándolo incluso para tratar picaduras de escorpiones. (27-29)

2.2.2.1 Lugar de origen del orégano (*Origanum vulgare*)

Es una planta nativa de Europa y naturalizada en todo el mundo se encuentra distribuido en todo el mundo. (30)

2.2.2.2. Cultivo y recolección del orégano (*Origanum vulgare*)

El orégano se cultiva con fines comerciales en gran parte del mundo pero, la mayor parte de la planta destinada al consumo, procede de plantas silvestres recolectadas en la región mediterránea y, especialmente, en el sur de Italia. El cultivo suele durar de 6 a 8 años, aunque a partir del primer año su rendimiento disminuye. Se multiplica por semillas que germinan fácilmente. La siembra debe hacerse en semillero, previamente abonado, hacia finales de febrero. Se trasplantará al terreno de asiento hacia finales de marzo. (31)

La recolección puede hacerse a partir del primer año. Si se destina a la destilación, la recolección debe hacerse en plena floración. El rendimiento oscila entre 90 a 120 Kilogramos por área de planta fresca, generalmente 100 Kg de planta fresca se reducen a 60 Kg de planta seca. A partir del cuarto año, empieza a descender el rendimiento, por lo cual no es aconsejable mantener la plantación más de cinco años; estas plantas dan por destilación una mayor proporción de aceite esencial, pero el contenido en fenoles, es inferior al del aceite esencial obtenido de una planta sana (32)

2.2.2.3. Composición química del orégano (*Origanum vulgare*)

Está compuesto de: aceite esencial (0,1 a 1%), rico en timol, beta-bisaboleno, cariofileno, p-ci meno, borneol, linalol, acetato de linalilo, alfa y beta-pinenos, alfa-terpineno. Acidos fenolcarboxilicos: caféico, clorogénico, rosmarínico. Flavonoides: derivados del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol. Taninos. Principios amargos. Triterpenos: derivados de los acidos ursólico y oleanólico. (33)

2.2.2.4. Usos de orégano (*Origanum vulgare*)

Se recomienda utilizar en decocción, infusión y preparaciones farmacológicas como jarabe y esencia. Se emplea como excitante, desinfectante, expectorante, antiespasmódico, antiinflamatorio, diurético, tónico, digestivo, estomáquico, vulnerario, emoliente. La planta entera fresca, machacada, aplicada en cataplasma o compresas, es usada como resolutive, para aliviar las inflamaciones de los ganglios y para aliviar

las picaduras de insectos, escorpiones y otros animales ponzoñosos. Sujetadas en la frente calman el dolor de cabeza. La decocción de toda la planta se usa como antidiabético, carminativo y en el tratamiento de la hipertrofia hepática y la obstrucción pulmonar; así como las alergias, erupciones cutáneas y dolor de oído. En infusión se usa en caso de tos persistente, tos ferina, fatiga nerviosa, astenia general del organismo, trastornos sexuales, enfermedades de las vías respiratorias, ronquera, asma, ictericia y menstruación irregular. En la antigüedad se usaba como antídoto para contrarrestar efectos de sustancias tóxicas, venenos, entre ellos la cicuta. En jarabe se considera un eficaz carminativo, tiene la propiedad de expulsar gases y lombrices intestinales, y en dosis pequeñas (una cucharadita cafetera) alivia los cólicos ventosos de los niños. (32, 33)

2.2.2.4. Advertencias y contraindicaciones del orégano (*Origanum vulgare*)

No debe utilizarse durante el embarazo y lactancia, la esencia pura puede tener efectos estupefacientes a altas dosis. (31, 33)

2.2.3. *Mentha piperita*

2.2.3.1. Nombre científico y Etimología de la *Mentha Piperita*

Su nombre científico es *Mentha piperita*, el nombre del género *Mentha* proviene del latín *mintha* o *minta*, nombre de una ninfa de la mitología griega, hija de Cocito (humo del infierno), amada por Plutón (*Ades*) y a quien por celos de Proserpina, la

transformaron en una planta de menta. El epíteto piperita se refiere a su sabor picante.
(33)

2.2.3.2. Nombres comunes en algunos países o idiomas de la *Mentha piperita*

Pfeffer-minze (alemán); menta piperita (España); menthe poivrée (francés); brandy mint, peppermint. Mint (inglés); menta pepe, menta peperita, piperina (italiano); hortelá pimenta, hortela pimentosa (portugués). En otras regiones recibe el nombre de pepermin, papamento. (32, 33)

2.2.3.3. Origen y otros aspectos de la *Mentha piperita*

Originaria de Inglaterra. Se cultiva como planta aromática y medicinal. Es un saborizante de uso común en dulces, helados. Aderezos, licores, dentífricos y enjuagues bucales. (33)

2.2.3.4 Descripción botánica de la *Mentha piperita*

Planta herbácea, hasta de 80 cm de altura o algo más, perenne, sabor y olor característicos como a mentol. Tallos cuadrangulares, rojizos, pubescentes. Hojas opuestas, ovales a ovado-oblongas o algo lanceoladas. Flores lila, violeta o morado rojizo, reunidas en racimos compactos axilares y terminales. Fruto tipo tetraquenio, seco indehisciente, con semillas estériles. (28, 33)

2.2.3.5. Composición química de la *Mentha Piperita*

Las hojas de estas especies contienen diversos flavonoides, especialmente flavonas polisustituidas, triterpenos y carotenoides. El aceite esencial representa de 1 a 3 % del peso seco, con una composición muy cambiante que depende de varios factores: clima, cultivo, época de cosecha, etc. Está constituido por mentol (30-40% y en algunos casos más de 50%), mentona (15-25%), mentil acetato (4-10%), mentofurano, isomentona, carvona, pulegona, neomentol, piperitenona, jasmona, cineol, linalol e hidrocarburos variados. (34)

2.2.3.6. Usos de la *Mentha piperita*

La *Mentha piperita* tiene acciones antiespasmódicas, colereticas y carminativas; de utilidad en disturbios gastrointestinales espásticos: Se recomienda preparar el infuso con 1,5 gramos de droga en 150 mililitros de agua caliente, durante 10 minutos y beberlo después de las comidas en caso de gastritis, flatulencia y cólicos digestivos. La droga no debe contener menos de 12 mL/Kg de esencia. (35)

2.2.3.7. Acción farmacológica de la *Mentha piperita*

La farmacología de esta especie no ha sido suficientemente explorada. No obstante, se ha demostrado que el aceite esencial suprime la contracción del esfínter pancreático de cobayos inducido por la morfina, y al igual que el mentol que tiene una acción espasmolítica in vitro. Debido a que una gran cantidad del aceite volátil se pierde en la infusión (55-70%), esta actividad podría estar relacionada con los compuestos fenólicos que tienden a prevenir las contracciones en íleon y tráquea de cobayos, provocadas por histamina, acetilcolina y otras sustancias. Sin embargo la

concentración de fenoles no sería suficiente para dar cuenta de tales actividades; por ello se ha sugerido que los efectos antiespasmódicos estarían relacionados con la presencia de polimetoxiflavonas, las que además son en parte responsables de las acciones antioxidantes de estas plantas. (34, 36)

2.2.3.8. Advertencias, contraindicaciones y toxicidad

- En el embarazo y en el periodo de lactancia no está recomendado ingerir el aceite esencial por ser rico en mentol ni realizar inhalaciones, podría afectar al bebé.
- Cuando se padece de hernia hiatal debido al efecto relajante sobre el esfínter esofágico.
- No se conocen intoxicaciones por la planta. La dosis mínima del mentol es estimada en 2 gramos, aunque algunos individuos han sobrevivido a dosis entre 8 y 9 gramos. Sin embargo, el aceite no debe ser aplicado en la cara de los niños, puede producir espasmo de la glotis, espasmo bronquial, asma aguda y posible fallo respiratorio. (37)
- El aceite esencial no debe ser usado en la cara o cerca de las fosas nasales de infantes o niños, pues el mentol puede causar espasmo de la glotis.
- En oclusión por cálculos biliares por la actividad colerética que posee, puede llevar a cólicos. En el reflujo gástrico por el efecto relajante sobre el esfínter del esófago. (37)

2.2.4. Nistatina

Es un macrólido poliénico tópico análogo a la anfotericina B y con un mecanismo de acción similar a ella, pero con un perfil de toxicidad que impide su administración por vía parenteral. La nistatina es activa contra la mayoría de las especies *Candida* y puede utilizarse para el tratamiento del muguet orofaríngeo, la candidiasis vaginal e intestinal. (38)

2.2.4.1. Mecanismo de acción de la Nistatina

La nistatina se une de manera irreversible a los esteroides de membrana presentes en las especies susceptibles de *Candida*. Las moléculas de polienos presentan mayor afinidad por los esteroides fúngicos, incluyendo el ergosterol, que por los esteroides humanos, lo que permite una toxicidad selectiva relativa. Esta unión irreversible altera la permeabilidad de la membrana y posibilita la salida de componentes intracelulares esenciales y, como consecuencia, la muerte celular. En bajas concentraciones la nistatina es fungistática, mientras que en concentraciones más elevadas tiene actividad antifúngica. (39)

2.2.4.2. Indicaciones de la Nistatina

La nistatina tópica se utiliza para el tratamiento de la candidiasis mucocutánea producida por *Candida Albicans* y otras especies susceptibles como *C. parapsilosis*, *C. Krusei* y *C. tropicalis*. Numerosos estudios han demostrado que los imidazoles tópicos son más efectivos que la nistatina para el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal, por lo que la utilización de nistatina para el tratamiento de dicha infección ha disminuido en los últimos años. La nistatina no es efectiva contra los dermatofitos o el

Pityrosporum, por ende, tampoco está indicado en el tratamiento de las tiñas o de la pitiriasis versicolor. (39)

2.2.4.3. Posología de la Nistatina

Está disponible en forma de polvos, cremas, ungüentos, suspensión y tabletas. Para el tratamiento de la candidiasis oral se utiliza la suspensión o tabletas de disolución local cuatro o cinco veces al día, en general durante dos semanas. Para tratar las infecciones cutáneas se utilizan el polvo, la crema o los ungüentos dos veces por día durante aproximadamente dos semanas. (38, 39)

2.2.4.4. Riesgos y precauciones del uso de la nistatina

Los riesgos son los mismos que se aplican a todo tipo de medicamentos tópicos. Se ha reportado algunos casos de dermatitis de contacto de tipo alergia se han descrito cuadros de anafilaxia con la utilización de supositorios vaginales que contenían nistatina, si bien la reacción se atribuyó a los materiales más que a la nistatina. (39)

2.2.5. Obtención de los aceites esenciales

En la obtención de los aceites esenciales se aprovecha su volatilidad pues al ser arrastrables por vapor pueden obtenerse relativamente libres de otros compuestos liposolubles. Sin embargo, debido a su baja proporción es conveniente utilizar grandes cantidades, aun a escala de laboratorio (20-30 kg), de material fresco u oreado. Este último método es frecuentemente utilizado para la obtención industrial de ciertos componentes de los aceites esenciales, mientras que la obtención de las esencias empleadas en perfumería sigue los caminos tradicionales y arraigados en este arte.

En todo caso, hay que tener en cuenta que el tratamiento prolongado con calor puede fácilmente producir reordenamiento esqueléticos, los cuales son a veces deseables dependiendo de la naturaleza de la esencia. También se utiliza la extracción de solventes orgánicos (éter de petróleo o hexano) o se exprime el material biológico (como es el caso de las cáscaras de cítricos). Estos métodos pueden usarse solo o combinados. La extracción con solventes en condiciones supercríticas (por ejemplo anhídrido carbónico, cuyo punto crítico corresponde a 31°C a 73,8 bar) ha dado excelentes rendimientos y tiene un gran potencial para la obtención industrial de los aceites esenciales. El procedimiento más usado en la actualidad es el de cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas la cual utiliza el impacto electrónico para la fragmentación. (40)

2.2.5 Agar Sabouraud

El agar Sabouraud es un medio de cultivo que por sus características funciona como medio de enriquecimiento para hongos y que en caso de contener cloranfenicol u otro antibiótico, se convierte en un medio selectivo para los mismos. El medio contiene peptonas y una elevada concentración de glucosa que favorece el crecimiento de los hongos sobre las bacterias. Es utilizado para el cultivo de hongos, especialmente dermatofitos, aunque también pueden desarrollarse en él cierto tipo de bacterias filamentosas tales como Nocardia. (41)

Fue utilizado por primera vez por Raymond Sabouraud en 1892. Más tarde Chester W. Emmons mejoró el medio acercando el pH al neutro y disminuyendo el nivel de glucosa para permitir el crecimiento de otros subcultivos de hongos. (41)

2.3 Terminología Básica

1. **Flavonoides:** Grupo de compuestos que contienen pigmentos amarillos, violeta y rojo. Uno de los más importantes es el quercetín hallado en la cebolla roja y amarilla, uva roja, manzana y cereales.(42)
2. **Carvacrol:** Carvacrol, o cymophenol, $C_6H_3CH_3(OH)(C_3H_7)$, es un fenol monoterpenoide. Tiene sabor picante y produce el olor del orégano. (43) Se utiliza de aditivo alimentario para prevenir la contaminación bacteriana. (44)
3. **Prostanoides:** conforman un grupo de autacoides (del griego autos: propio y akos: alivio, sustancia formada metabólicamente por un grupo de células que altera la función de otras células a nivel local). Se encuentran ampliamente distribuidos en el organismo y prácticamente todas nuestras células son capaces de sintetizarlos, pero la misma, se restringe a la forma de tejido-célula-específica. (45)
4. **Hifas:** Son elementos filamentosos cilíndricos característicos de la mayoría de los hongos que conforman su estructura vegetativa. Están constituidos por una fila de células alargadas envueltas por la pared celular que, reunidas, forman el micelio (en sentido amplio). (46)

5. **Clamidosporas:** Son las esporas más resistentes de los hongos. Resisten condiciones desfavorables como el calor y la desecación, por lo que su función es similar a la de las esporas bacterianas es decir, promueven la sobrevivencia en ambientes hostiles, al originar nuevos individuos cuando las condiciones son favorables. (47)

6. **Carminativo:** Medicamento o sustancia que favorece la expulsión de los gases del tubo digestivo y con ello disminuyen las flatulencias y cólicos. (48)

2.4 Hipótesis

La concentración mínima efectiva del aceite esencial de la *Mentha piperita* presenta mayor efecto inhibitor que la concentración mínima efectiva del aceite esencial del *Origanum* frente a cepas de *Candida Albicans*.

2.5 variables

Variable	Tipo de variable	Indicador	Escala de medición	Valor
Efecto inhibitor (Variable dependiente)	Cuantitativo, numérico.	Medición de diámetros de los halos de inhibición	Razón	0 a 59 mm
Sustancia antimicrobiana (Variable independiente)	Cualitativo, categórico.	Características organolépticas de las sustancias.	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>. ✓ Aceite esencial de <i>Mentha piperita</i>. ✓ <i>Nistatina</i>
Tiempo (Variable control)	Cuantitativo, numérico.	Según el registro del investigador.	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> ✓ A las 24 horas ✓ A las 48 horas
Concentración Mínima Efectiva (Variable control)	Cuantitativo numérico.	Resultados del presente estudio	Ordinal	25% 50% 75% 100%

3. CAPÍTULO III: DISEÑO Y MÉTODO

3.1. Tipo y nivel de investigación

Tipos de Estudio:

Según la intervención del Investigador: **Es Experimental:** Son prospectivos, longitudinales, analíticos y de nivel investigativo “explicativo” (causa-efecto); además de ser “controlados”.

Según la planificación de la toma de datos: **Prospectivo:** Los datos necesarios son recogidos de primera mano y a propósito de la investigación.

Según el número de ocasiones en que mide la variable de estudio: **Longitudinal:** La variable de estudio es medida en dos o más ocasiones; por ello, de realizar comparaciones (antes-después) son entre muestras relacionadas.

Según el número de muestras a estudiar: **Analítico:** En el análisis estadístico por lo menos bivariado; porque plantea y pone a prueba hipótesis explicativas (finalidad cognoscitiva); su nivel más básico establece la asociación entre factores (propósito estadístico).

Nivel de Investigación:**Explicativo:**

Su finalidad es explicar el comportamiento de una variable en función de otra; aquí se plantea una relación de causa-efecto, y tiene que cumplir otros criterios de casualidad; requiere de control tanto metodológico como estadístico.

3.2. Población y muestra**Población:**

- ✓ Estará conformada por cepas de *Candida albicans*.

Muestra:

- ✓ Muestreo no probabilístico intencional, se trabajó con 80 placas petri con cepas de *Cándida albicans* (ATCC 90028).

3.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Privada Norbert Wiener, para ello se solicitó una carta de presentación dirigida a la Escuela Académico Profesional de Odontología, solicitando ingresar al laboratorio de microbiología (Anexo I).

Obtención y procesamiento de las muestras vegetales

Los aceites esenciales de *Mentha piperita* (Menta) y *Origanum vulgare* (Orégano) se obtuvieron de la empresa Essential Oils donde refieren (ANEXO 4) que para la toma vegetal se tomaron de las hojas de las respectivas plantas cuyas hojas se encontraron al principio de su floración. Las hojas se desecaron a temperatura ambiente (20°) y fueron conservadas en bolsas de papel Kraft. La obtención de los aceites esenciales se dio mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua mediante el equipo de destilación de acero inoxidable.

El destilado se logró tomando en cuenta las propiedades de diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, esto se logró mediante una pera de decantación, a continuación se deshidrató las impurezas de agua en el aceite esencial con sulfato de sodio anhidro, luego se llevó a filtración para así obtener los aceites esenciales.

El transporte y conservación se realizó siguiendo el siguiente protocolo: se mantuvo en frascos de vidrio de color oscuro (ámbar), con tapón y tapa para evitar la constante entrada de aire, se evitó el contacto de la luz natural y en especial de la luz ultravioleta ya que algunos compuestos son fotosensibles y pueden llegar a oxidarse, también se evitó los cambios bruscos de temperatura enfriamiento y calentamientos continuos.

Análisis microbiológico

Medios de cultivo

El medio de cultivo fue Agar Sabouraud, el cual se preparó en 80 placas petri se dividió 40 placas para cada aceite esencial (100mm x 15mm) a razón de un espesor de 4 mm. por placa.

Se dejó solidificar a temperatura ambiente por 15 minutos, se rotularon las placas Petri en la parte posterior con el nombre de la sustancia a investigar (aceite esencial de *Mentha piperita* y *Origanum vulgare*). Se realizó el control de esterilidad incubando el material a 37°C por 24 horas.

Activación de la cepa *Candida albicans*

La cepa de *Candida albicans* (ATCC 90028) adquirida del Laboratorio de Referencia Nacional de Microbiología y Biomedicina, se realizó su activación por medio del caldo Sabouraud por 24 horas a 37°C, posteriormente se repicó el caldo a dos placas Petri con agar Sabouraud por 24 horas a 37°C para la reactivación de la cepa de *Candida albicans* (ATCC 90028).

Preparación del inóculo

Bajo condiciones estériles se tomó una asada de colonias de cada cepa y se realizó la suspensión directa en 5 ml. de solución salina fisiológica estéril hasta llegar a una concentración equivalente a la turbidez de la suspensión fue estandarizada (para que sea igual) al estándar 0,5 de McFarland (lo que corresponde a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ CFU/ml).

Inoculación

Se inocularon las cepas de *Cándida albicans* en las botellas que contenían agar a temperatura de 45 - 50°C en baño de agua, para asegurar una distribución uniforme del inóculo se realizó el movimiento circular, se distribuyó en placa Petri con 4 mm de profundidad para posteriormente la placa y se dejó secar durante 3 a 5 minutos a temperatura ambiente. Una vez absorbido el inóculo y con la ayuda de una pinza estéril se procedió los pocillos para la inoculación de las concentraciones de aceite esencial a cada placa de agar. Las placas fueron incubadas a 37°C por el resto de la investigación, siendo únicamente retirados de la incubadora para medir los halos de inhibición generados a partir de las 24 y 48 horas.

Evaluación de la actividad antimicótica

El método que se aplicó para el análisis de actividad antimicótica fue realizado por el modificación del método por difusión en agar en el cual en el agar solidificado se inocula la suspensión de microorganismo, utilizando pocillos que consistió en hacer perforaciones en el agar de 6 mm de diámetro utilizando sacabocado estéril y retirando el agar perforado con ayuda de agujas estériles. Se realizaron 6 pozos en cada placa petri, para luego se colocó el aceite esencial *Mentha piperita* (menta) y de *Origanum vulgare* (orégano) en concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, Nistatina en concentración del como control positivo y agua destilada como control negativo manteniéndose como constante 0mm., garantizando la siembra micótica y la formación de halos de inhibición por cada sustancia antimicótica.

Lectura

Se realizó midiendo los halos de inhibición con el calibrador vernier. Estos datos se plasmaron en la ficha de recolección de datos. La susceptibilidad del microorganismo en prueba está relacionada con el tamaño de la zona de inhibición en milímetros. Los microorganismos se denominan susceptibles cuando el diámetro de la zona es mayor a 30-35 mm, intermedios cuando el diámetro de la zona varía entre 20 y 30 mm, o resistentes con una zona cuyo diámetro es menor a 15-20 mm.

3.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico

Para el procesamiento de la base de datos se empleó el programa estadístico SPSS versión 20, para estimar la mediana de la población y compararla con un valor objetivo de referencia se utilizó la Prueba de Wilcoxon (valor objetivo de referencia la Nistatina). Para determinar si las medianas de dos o más grupos difieren con datos no simétricos, se utilizó la Prueba de Kruskal-Wallis.

3.5. Aspectos éticos

Solicitud a la Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad Privada Norbert Wiener y al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Privada Norbert Wiener.

El desecho de las muestras en el presente estudio se basó en las normas dadas por el protocolo de eliminación de desechos biológicos de la oficina de material didáctico y laboratorio de la Universidad Privada Norbert Wiener. (Ver anexo N°3)

4. CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

Tabla N° 1: Efecto inhibitorio del aceite esencial de **Origanum Vulgare (Orégano)** según su concentración a las 24 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

	n	\bar{x} (mm)	DS	Mín.	Máx.
OV 25 %	40	22,30	5,43	14	33
OV 50%	40	27,30	4,91	19	38
OV 75%	40	33,13	4,98	23	46
OV 100%	40	45,73	5,90	32	59
Nistatina 1´ UI	40	17,83	0,96	15	19

El efecto inhibitorio del **Origanum Vulgare** fue mayor que la Nistatina (17.83 mm) en todos las concentraciones, siendo su valor mínimo de 22.30 mm y su valor máximo de 45.73 mm. Su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentó su concentración.

Tabla N° 2: Efecto inhibitorio del **Origanum Vulgare (Orégano)** según su concentración a las 48 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

	n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.
OV 25 %	40	22,65	5,26	14	33
OV 50%	40	27,75	4,95	19	39
OV 75%	40	33,43	5,03	24	47
OV 100%	40	46,35	5,76	33	59
Nistatina 1´ UI	40	18,20	1,14	15	20

El efecto inhibitorio del **Origanum Vulgare** se mantuvo mayor al efecto inhibitorio de la Nistatina a las 48 horas (18.20 mm) en todos las concentraciones, siendo su valor mínimo de 22.65 mm a una concentración del 25% y su valor máximo de 46.35 mm a una concentración del 100%. El efecto inhibitorio **Origanum Vulgare** fue aumentando conforme aumentó su concentración.

Tabla 3. Comparación del efecto inhibitor del **Origanum Vulgare (Orégano)** según Su concentración a las 24 y 48 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

	24 horas			48 horas			P*
	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	
OV 25 %	40	22,30	5,43	40	22,65	5,26	0,00
OV 50%	40	27,30	4,91	40	27,75	4,95	0,00
OV 75%	40	33,13	4,98	40	33,43	5,03	0,00
OV 100%	40	45,73	5,90	40	46,35	5,76	0,00
Nistatina	40	17,83	0,96	40	18,20	1,14	0,00

* Prueba de Wilcoxon

Nivel de significancia 0,05

Para comparar el efecto inhibitorio del **Origanum Vulgare** se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, lo que determinó que la muestra estudiada no presenta distribución normal, por tanto se aplicarán pruebas no paramétricas (Anexo “N”). Se utilizó la prueba de Wilcoxon con un nivel de significancia del 0.05. Los resultados señalan diferencias significativas entre el efecto inhibitorio registrado a las 24 horas con el de 48 horas.

Tabla 4. Efecto inhibitor de la **Menta Piperita (Menta)** según su concentración a las 24 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

	n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.
MP 25%	40	12,55	1,48	10	15
MP 50%	40	14,73	1,52	12	18
MP 75%	40	16,65	1,58	14	20
MP 100%	40	18,85	1,67	15	22
Nistatina	40	19,60	1,34	17	23

El efecto inhibitorio del **Menta Piperita** fue menor que la Nistatina (19.60 mm) en todas las concentraciones, siendo su valor mínimo de 12.55 mm y su valor máximo de 18.85 mm. Sin embargo, el efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentó su concentración.

Tabla 5. Efecto inhibitor de la **Menta Piperita (Menta)** según su concentración a las 48 horas frente a cepas de **Cándida albicans**.

	n	\bar{x}	DS	Mín.	Máx.
MP 25%	40	13,03	1,476	10	15
MP 50%	40	15,38	1,628	12	19
MP 75%	40	17,25	1,463	15	21
MP 100%	40	19,88	1,667	17	23
Nistatina	40	20,30	1,265	18	23

El efecto inhibitorio de la **Menta Piperita** se mantuvo menor que el efecto inhibitorio de la Nistatina a las 48 horas (20.30 mm) en todas las concentraciones, siendo su valor mínimo de 13.03 mm a una concentración del 25% y su valor máximo de 19.88 mm a una concentración del 100%. El efecto inhibitorio de la **Menta Piperita** fue aumentando conforme aumentó su concentración.

Tabla 6. Comparación del efecto inhibitor de la **Menta Piperita (Menta)** según su concentración a las 24 y 48 horas frente a cepas de ***Cándida albicans***.

	24 horas			48 horas			P
	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	
MP 25%	40	12,55	1,48	40	13,03	1,476	0,00
MP 50%	40	14,73	1,52	40	15,38	1,628	0,00
MP 75%	40	16,65	1,58	40	17,25	1,463	0,00
MP 100%	40	18,85	1,67	40	19,88	1,667	0,00
Nistatina	40	19,60	1,34	40	20,30	1,265	0,00

* Prueba de Wilcoxon

Nivel de significancia 0,05

Para comparar el efecto inhibitorio de la **Menta Piperita** se utilizó la prueba de Wilcoxon con un nivel de significancia del 0.05. Los resultados señalan diferencias significativas entre el efecto inhibitorio registrados a las 24 horas con el de 48 horas.

Tabla 7. Comparación de la eficiencia inhibitoria entre grupos según la concentración a las 24 horas

	GRUPO 1			GRUPO 2			GRUPO 3			P
	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	
25%	40	22,30	5,43	40	12,55	1,48	40	17,83	0,96	0,00
50%	40	27,30	4,91	40	14,73	1,52	40	17,83	0,96	0,00
75%	40	33,13	4,98	40	16,65	1,58	40	17,83	0,96	0,00
100%	40	45,73	5,90	40	18,85	1,67	40	17,83	0,96	0,00

* Prueba de Kruskal-Wallis

Nivel de significancia 0,05

Para comparar los promedios de la eficiencia inhibitoria entre los tres grupos según su concentración a las 24 horas, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de 0.05. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

Tabla 8. Comparación de la eficiencia inhibitoria entre grupos según la concentración a las 48 horas

	GRUPO 1			GRUPO 2			GRUPO 3			P
	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	n	\bar{X}	DS	
25%	40,00	13,03	1,476	40,00	22,65	5,260	40,00	19,60	1,336	0,00
50%	40,00	15,38	1,628	40,00	27,75	4,950	40,00	19,60	1,336	0,00
75%	40,00	17,25	1,463	40,00	33,43	5,033	40,00	19,60	1,336	0,00
100%	40,00	19,88	1,667	40,00	46,35	5,763	40,00	19,60	1,336	0,00

* Prueba De Kruskal-Wallis
Nivel De Significancia
0,05

Para comparar los promedios de la eficiencia inhibitoria entre los tres grupos según su concentración a las 48 horas, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de 0.05. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos con un p valor menor a 0.05.

Tabla 9. Comparación de la efectividad inhibitoria entre grupos según la concentración a las 24 horas.

	Grupo 1vs Grupo 2	Grupos 1 vs Grupo 3	Grupo 2 vs Grupo 3
25%	0,00	0,00	0,00
50%	0,00	0,00	0,00
75%	0,00	0,00	0,00
100%	0,00	0,00	0,04

Prueba de U de Mann-Whitney
Nivel de Significancia

Para comparar dos grupos se aplicó la prueba de U de Mann de Whitney encontrándose diferencias significativas en todas las comparaciones de las diferencia concentraciones.

Tabla 10. Comparación de la efectividad inhibitoria entre grupos según la concentración a las 48 horas

	Grupo 1vs Grupo 2	Grupos 1 vs Grupo 3	Grupo 2 vs Grupo 3
25%	0,00	0,00	0,00
50%	0,00	0,00	0,00
75%	0,00	0,00	0,00
100%	0,00	0,00	0,24

Prueba de U de Mann-Whitney

Nivel de Significancia

Para comparar dos grupos se aplicó la prueba de U de Mann de Whitney encontrándose diferencias significativas en todas las comparaciones en todas las concentraciones, excepto entre los grupos de **Menta Piperita** al 100% de concentración con el grupo de **Nistatina**.

4.2. Discusión

En la presente investigación de tipo experimental in vitro se buscó determinar el efecto inhibitor del aceite esencial del *Origanum Vulgare* (Orégano) y *Mentha piperita* (Menta) en 4 concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) comparado con el control positivo Nistatina, que es un agente antifúngico muy utilizado y el control negativo agua destilada frente a cepas de *Cándida albicans* (ATCC 90028).

Muchos estudios a nivel mundial se han efectuado con aceites esenciales obtenidas de diferentes plantas clasificadas como medicinales, la intención de este estudio y de diversos estudios ha sido diferente en el sentido de buscar compuestos que inhiban el crecimiento ya sea de bacterias, hongos, virus, parásitos. En aquellos aceites esenciales se han presentado mayor capacidad inhibitoria, se han encontrado componentes que tienen la capacidad de pasar las membranas celulares, romper polisacáridos, ácidos grasos y lípidos, permeabilizando la membrana celular, la cual conduce a la pérdida de iones, al colapso de la bomba de protones y a la disminución del ATP lo cual conduce a la muerte celular, también se ha encontrado que a nivel citoplasmático puede actuar sobre lípidos y proteínas coagulando dichas moléculas.

(27)

Debido al creciente desarrollo de fármacos, resistencia a patógenos humanos y la aparición de efectos indeseables de ciertos antifúngicos, la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos es de gran preocupación hoy en día, a lo que se suma el incremento de propiedades beneficiosas de las plantas medicinales mediante aceites esenciales de síntesis total o en combinación para buscar el sinergismo de dos o más plantas. (4)

La cepa de *Cándida albicans* ATCC 90028 se ha utilizado en varios estudios *in vitro* con el fin de probar la acción antimicrobiana de diversas plantas medicinales (Samber N. *et al.* 2015, Samber N. *et al.* 2014, Mahboubi M., Kazempour N. 2014, Brum C. *et al.* 2013, Maravi G. 2012, Tyagi A, Malik A. 2010, Hofling J. *et al.* 2010, Carretto C. *et al.* 2010)

La actividad biológica del aceite esencial del *Origanum vulgare* está relacionada con sus principales componentes como es el timol, Eugenol beta-bisaboleno y cariofileno.

El timol es un efectivo agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento de microbios y bacterias por esta razón, el timol se utiliza en productos tales como enjuagues bucales que tienen como objetivo eliminar las bacterias en la boca por sus propiedades antibacterianas y antifúngicas también se utiliza en pastas de dientes, además de tener un sabor agradable.(32,33)

En el caso de la menta su actividad biológica, está relacionada mentol (30-40% y en algunos casos más de 50%), mentona (15-25%), mentil acetato (4-10%), mentofurano, isomentona, carvona, pulegona, neomentol, piperitenona, jasmona, cineol, linalol. Se ha demostrado que el mentol es una sustancia que posee una actividad antimicrobiana, antifúngica, antiviral, actividad antioxidante, además es muy utilizado en productos

farmacológicos, cosméticos y su gran uso en enjuagatorios bucales y cremas dentales.
(15,34)

Para determinar el efecto inhibidor del *Origanum vulgare* (orégano) y *Mentha piperita* (Menta), se obtuvieron los aceites esenciales mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua. El resultado se logró tomando en cuenta las propiedades de diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, mediante una pera de decantación, a continuación se deshidrató las impurezas de agua en el aceite esencial con sulfato de sodio anhidro, luego se llevó a filtración para así obtener los aceites esenciales, siendo este método el más sencillo y más común para extraer aceites esenciales, debido a que no se requiere de ningún disolvente y por ser un método más seguro y que además la extracción del aceite por este método no altera sus propiedades, esto coincide con el estudio de Maravi G. 2012.

Varios estudios han demostrado el potencial antimicrobiano de los aceites esenciales, utilizando diferentes técnicas adaptadas del antifungigrama, como difusión en disco y la técnica de dilución en caldo. Sin embargo, la técnica de microdilución ha proporcionado mejores resultados. (Moura J. *et al.* 2011).

El presente estudio *in vitro* frente a *Candida albicans* mostró que la *Mentha piperita* presenta un efecto inhibidor de hasta 19.88mm, lo que demuestra su actividad antifúngica, lo que coincide con (Samber N. *et al.* 2015, Samber N. *et al.* 2014, Mahboubi M., Kazempour N. 2014, Carretto C. *et al.* 2010); asimismo, el aceite

esencial de *Origanum vulgare* presenta un efecto inhibitor elevado de hasta 46.35mm; lo que coincide con (Brum C. *et al.* 2013, Maravi G. 2012)

El método aplicado, en este estudio, para medir cuantitativamente el efecto inhibitor tanto del *Origanum Vulgare* y la *Mentha Piperita* fue el de difusión en agar por pozos, así como los trabajos realizados por (Maravi G. 2012; Moura J. *et al.* 2011; Tyagi A, Malik A. 2010; Carretto C. *et al.* 2010)

En este estudio al comparar la actividad inhibitoria al 100% del aceite esencial de *Mentha piperita* con el control positivo de Nistatina su acción fue menor 19.88mm luego de pasadas las 48 horas; mientras que el de la Nistatina fue del 20.30mm; lo que coincide con (Maravi G. 2012)

Asimismo, se refiere que los experimentos *in vitro* tienen sus limitaciones en cuanto a la posible eficacia *in vivo*, los resultados de este estudio merecen atención respecto al efecto citotóxico de dichos aceites esenciales. Por lo tanto, se propone realizar futuras investigaciones para evaluar posibles efectos citotóxicos de dichos aceites utilizados en esta investigación.

5. CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. El efecto inhibitorio del *Origanum Vulgare* (Orégano) fue mayor que la Nistatina a las 24 horas, y su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentaba su concentración.
2. El efecto inhibitorio del *Origanum Vulgare* (Orégano) se mantuvo mayor al efecto de la Nistatina a las 48 horas, y su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentaba su concentración.
3. El efecto inhibitorio del *Origanum Vulgare* (Orégano) en diferentes concentraciones obtuvo resultados que señalan diferencias significativas al compararlo a las 24 y 48 horas.
4. El efecto inhibitorio de la *Menta Piperita* (Menta) fue menor que la Nistatina en todas sus concentraciones a las 24 horas, a pesar que su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentó su concentración.
5. El efecto inhibitorio de la *Menta Piperita* (Menta) fue menor al efecto de la Nistatina en todas sus concentraciones a las 48 horas, su efecto inhibitorio fue aumentando conforme aumentó su concentración.
6. El efecto inhibitorio de la *Menta Piperita* (Menta) en diferentes concentraciones obtuvo resultados que señalan diferencias significativas al compararlo a las 24 y 48 horas.

7. Se encontró diferencias significativas al comparar la efectividad inhibitoria del aceite esencial del *Origanum Vulgare* (Orégano) y de la *Menta Piperita* (Menta) en diferentes concentraciones a las 24 horas.
8. Se encontró diferencias significativas al comparar la efectividad inhibitoria del aceite esencial del *Origanum Vulgare* (Orégano) y de la *Menta Piperita* (Menta) en diferentes concentraciones a las 48 horas, a excepción del los grupos de *Menta Piperita* (Menta) al 100% de concentración con el grupo de Nistatina.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar trabajos de investigaciones del efecto inhibitorio de ***Mentha Piperita* y *Origanum Vulgare*** frente a bacterias Gram positivas y negativas.

- Se recomienda realizar trabajos de investigación del efecto inhibitorio de los aceites esenciales de ***Mentha Piperita*** y ***Origanum Vulgare*** al 100% y realizar controles a la hora, a las 8 horas, a las 16 horas y a las 24 horas; frente a cepas de ***Candida Albicans***.
- Se recomienda realizar otros trabajos de investigación del efecto inhibitorio de los aceites esenciales de ***Mentha Piperita*** y ***Origanum Vulgare*** frente a cepas de ***Candida Albicans*** con mayor tamaño de muestra que lo realizado en esta investigación.

6. REFERENCIAS

1. Topazian R, Goldberg M, Hupp J. Oral, and Maxillofacial Infections 4th Edition. Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 2002.
2. Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. J Clin Periodontol. 2009; 36(6):458-67.
3. Peña M. *et al.* Patógenos periodontales y sus relaciones con enfermedades sistémicas. MEDISAN 2012; 16(7):1047.
4. Vander A. Plantas medicinales, las enfermedades y su tratamiento por las plantas, Editorial y Librería Sintet, Barcelona, España; 1972. P. 253.
5. Villanueva V., Moromi H. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major L*, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. Odontol. Sanmarquina. 2010; 13(2): 21-5.
6. Moreno A. *et al.* Uso de la fitoterapia en 3 clínicas estomatológicas de Santiago de Cuba. MEDISAN. 2011; 15(4): 489.
7. Calixto M. Plantas medicinales utilizadas en odontología (Parte I). KIRU. 2006; 2: 80-5.
8. Urióstegui A. Hierbas medicinales utilizadas en la atención de enfermedades del sistema digestivo en la ciudad de Taxco, Guerrero, México. Rev salud pública. 2015; 17(1): 85-96.

9. Samber N. et al. Synergistic anti-candidal activity and mode of action of *Mentha piperita* essential oil and its major components. *Pharm Biol.* 2015; 53(10):496-504.
10. Felsociová S, Kacaniová M, Horská E, Vukovič N, Hleba L, Petrová J, Rovná K, Stricik M, Hajduová Z. Antifungal activity of essential oils against selected terverticillate penicillia. *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(1): 38–42.
11. Samber N. et al. Evaluation of *Mentha piperita* Essential Oil and its Major Constituents for Antifungal Activity in *Candida* spp. *Rev. IJRSET.* 2014; 3(2): 9404-11.
12. Mahboubi M., N. Kazempour N. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 2014; 36 (1): 83-7.
13. Brum C. et al. In vitro activity of *origanum vulgare* essential oil against candida species. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2010; 41: 116-123.
14. Maravi 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 *Cándida albicans* ATCC 90028. [Trabajo para optar el título de Cirujano dentista]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2012.
15. Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharmaceutics.* 2012: 718645. <http://doi.org/10.5402/2012/718645>.

16. Moura J. et al. Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Candida tropicalis* de aislados clínicos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2012; 11: 208-17.
17. Castilho P, Savlichinske S, Weinhold T, Gouveia S. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Rev. Food Control*. 2012; (23):552-8.
18. Tyagi A, Malik A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Rev. Food Control*. 2011; 22(11): 1707-14.
19. Hofling J. et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*. 2010; 70(4): 1065–8.
20. Carretto C. et al. Atividade antimicrobiana de *Mentha piperita* L. sobre *Candida* spp. *Braz Dent Sci* 2010; 13 (1) 4–9.
21. Martin Lasso B. Diagnóstico y tratamiento de infecciones oportunistas en el paciente adulto con infección por VIH/SIDA. *Rev. Chil Infect* [internet]. 2011; [consultado el 30 mar 2015] 28(5): 440-460. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v28n5/art10.pdf>
22. Arenas G. *Micología médica ilustrada*. 4ta edición. México: Editorial Mc Graw Hill; 2011.

23. Longo D, Kasper D, Jameson J, Fauci A, Hauser S, Loscalzo J. Eds. Harrison Principio de medicina interna. 18ava edición. México: Editorial Megraw-Hill, 2012.
24. Ponton J. Microbiological non-culture methods for the diagnosis of invasive candidiasis: usefulness of surrogate markers. Rev. Iberoam Micol. 2001; 23: 20-5.
25. Ascioglu S, Rex J, Pauw B. Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. Clinical Infectious Diseases. 2002; 34:7-14.
26. Tristram P. Inmunología básica y clínica. Manual moderno. 10va Edición. 2002.
27. Berdonces J. Gran enciclopedia de las plantas medicinales. Tikal Ediciones; España; 1998.
28. Pio Q. Plantas medicinales. El dioscórides renovado. Ediciones Península, España; 1999.
29. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Talleres de la editorial universitaria, Guatemala; 1999.
30. Chevallier A. Encyclopedia of herbal medicine Dorling Kinderley. New York; 2000.
31. Madueño M. Cultivo de plantas medicinales. Publicaciones de extensión agraria. Madrid – España; 1973.
32. Batllori. Plantas medicinales y drogas vegetales. Orégano. Offarm 1: 80.1991.
33. Fonnegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia, Editorial Universidad de Antioquía, 2da ed. Colombia; 2007. p. 193-195.

34. Compendio de Fitoterapia. Fundación Herbarium. Idioma Portugués. (1996).
35. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile: química y farmacología. Editorial Universitaria. Chile; 330 páginas; 2001
36. De Vicenzi M, Mancini T, Fitoterapia 67:85; 1996.
37. Brinker F. Herbal contraindications & Drug interactions. Third edition. Eclectic medical Publications, Oregon; 2001. 160-1.
38. Gennaro A. Remington Farmacia. Editorial Médica Panamericana. 2506 páginas; 2003.
39. Fitzpatrick. Dermatología en medicina general. Editorial Médica Panamericana. Volumen 4, p. 800; 2010.
40. Bandoni, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Edit. UNLP-CYTED. Buenos Aires Argentina; 2000.
41. Agar Sabouraud. Artículo de internet. Disponible en: <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/sabouraudgluagar.htm>
42. Velasquez G. Fundamentación de alimentación saludable. Salud: Nutrición y dietética. Universidad de Antioquia. 2006, 281 páginas
43. Ultee A, Slump R, Steging G, Smid E. Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice». J. Food Prot. 2000; 63 (5): 620–4.
44. Ultee A, Smid E. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. Int. J. Food Microbiol. 2001; 64 (3): 373–8.
45. Marcus AJ. Transcellular metabolism of eicosanoids. Prog Hemost Thromb. 1986; 8: 127–142.

46. Madigan M, Martinko J. Brock Biology of Microorganisms (11th ed. edición). Prentice Hall; 2005.
47. García V. Introducción a la microbiología. 2da edición. Editorial Euned; 2004.
48. Ruspoli C. El profesio. Editorial Palibrio. 2012, p. 712.

ANEXOS

ANEXO N°1



Lima, 14 de marzo de 2016


Señor
Colpa Zamora Dickson
Bachiller
Presente.-

Es grato dirigirme a usted para saludarla cordialmente y en referencia a su solicitud presentada sobre la realización de su proyecto de investigación titulado: "EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE Origanum vulgare y Mentha piperita en COMPARACION A LA NISTATINA FRENTE A CEPAS DE Candida Albicans. ESTUDIO IN VITRO. LIMA 2015", hacemos de su conocimiento que la Dirección de la EAP de Odontología, autoriza y brinda las facilidades necesarias para que pueda realizar el levantamiento de información de su trabajo de investigación.

Es propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi especial consideración.

Atentamente,




Mg. Carlos Michell Gálvez Ramírez
Director (e)
Escuela Académico Profesional de
Odontología

ANEXO N°2



Título	Proced. GRADUACIÓN Y TITULACIÓN	Código	Versión - Vigencia	Página
		CV4-GT-11	V10 - Set-16	1 / 2

10.5 SOLICITUD DE DESIGNACIÓN DE ASESOR F-GT-11-5

Lima, 06 de octubre de 2016

Mg. Carlos Michell Gálvez Ramírez

Director (e) de EAP de Odontología
Universidad Privada Norbert Wiener
Presente.-

De mi mayor consideración:

Es grato saludarlo y solicitar la designación del Mg. Cupé Araujo Ana Cecilia como asesor de mi Tesis, tomando en cuenta que para la comunicación de la EAP se utilice el siguiente correo electrónico: Acupe@wienergroup.com.

Asimismo, cabe resaltar que mis datos son:

Nombres y apellidos completos: Colpa Zamora Max Dickson

Título de tesis: EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* EN COMPARACION A LA NISTATINA FRENTE A CEPAS DE *Candida albicans*. ESTUDIO IN VITRO. LIMA 2016"

Carrera profesional: Odontología

Correo electrónico: odonto3002@gmail.com Teléfonos: 5343302 / 966344143

Además, solicito a Ud. el registro de mis datos consignados líneas arriba en la base de datos de la EAP.

Agradeciendo su gentil atención a la presente, me despido de Ud.

Atentamente,



Firma del solicitante
DNI: 42774760

ANEXO N°3



59.6

NORMAS DE ELIMINACIÓN Y DISPOSICIÓN DE RESIDUOS COMUNES Y ESPECIALES.

Normas a cumplir por los usuarios de Laboratorios de ciencias y ambientes afines.

I.- CLASIFICACIÓN Y ELIMINACIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS.

RESIDUOS LÍQUIDOS ESPECIALES

Líquidos orgánicos y otros: Diluir con abundante agua y eliminar directamente al desagüe.

Solventes (tolueno, éter, benceno, metanol, nitrobenzono, acetona): Colocar los solventes en los frascos rotulados correspondientes ubicados en los laboratorios para su desecho respectivo por una empresa autorizada, no mezclar los reactivos.

Líquidos infecciosos (sangre, secreciones, sobrenadantes de los cultivos: bacterias, hongos, virus, mohos): Almacenar los materiales que contengan los microorganismos anteriormente citados en un recipiente que contenga lejía o betagen R82F (4ml en 1 lt de agua) por 10 minutos y eliminar el líquido contaminado al desagüe, embalar el recipiente con cintas de seguridad y desechar.



RESIDUOS SÓLIDOS ESPECIALES

Material de vidrio roto - Triturar el vidrio hasta 10 cm. de diámetro y colocar en el recipiente habilitado para el desecho de vidrios del almacén de reactivos, asegurar con cinta de embalaje.

Material de vidrio contaminado.- Prolongar el proceso de autoclavado por una hora a 121°C y 1.5 atmósferas de presión para volver a utilizar.

Agares, caldos: Autoclavar y colocar los desechos en la bolsa roja y colocar al tacho rojo.

Sales, óxidos, hidróxidos.- las sales se pueden reciclar, separar los residuos de los óxidos e Hidróxidos, colocar en una bolsa y colocarlo en la bolsa amarilla y tacho amarillo.



RESIDUOS SÓLIDOS COMUNES

Plásticos (venoclisis, volutrol, sondas Foley y similares).- Rotular y almacenar en una bolsa de plástico para su desecho en bolsa y tacho rojo.

OBJETOS PUNZANTES Y CORTANTES

Jeringas, agujas, lancetas.- Después de su uso colocar la jeringa en una caja de seguridad tetrapack, sacar el capuchón, para su desecho independiente, asegurar la caja llena con agujas para su desecho.

MATERIAL Y TEJIDOS BIOLÓGICOS

Piezas y tejidos biológicos: Colocar las muestras en frascos de vidrio y tapa hermética ancha con formol al 40 % y después de su uso eliminar a la fosa común.

Animales menores.- Colocar el animal muerto a una bolsa verde con cal para su disposición final en la fosa común por el personal responsable.

Frascos con heces.- Agregarlos formol sal o formol al 10 % para poder hacer el examen, luego del análisis autoclavar y colocarlo en la bolsa roja y tacho rojo.

Algodones usados.- Después de su uso colocar en un recipiente que contenga lejía o betagen R82F (4 mL en L de agua) por 10 minutos, colocarlo en la bolsa roja, tacho rojo.

RESIDUOS COMUNES.- Como son las bolsas plásticas, papeles, etc colocar en una bolsa y tacho azul



II.- DISPOSICIÓN FINAL

- El personal de limpieza recoge los residuos sólidos diariamente y lo traslada al ambiente de bioseguridad N° S 06 ubicado en el sótano.

- La disposición de los tachos es la siguiente:

Lado Derecho: Residuos sólidos especiales de laboratorios.

Lado frontal: Reactivos orgánicos y biológicos (Cafeterías y otros).

Lado Izquierdo: Residuos comunes. Pasadizos, aulas y servicios higiénicos

Los residuos especiales son transportados y tratados por las EPS-ERS

El residuo biocontaminado y tóxico es rotulado por el personal especialista antes de ser trasladado a la zona de residuos.



VICERRECTORADO
LABORATORIO Y MATERIAL DIDACTICO



ANEXO N° 4



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - Camacho
La Molina - Lima
Telf: (051) 736 9840
ventas@eopperu.com
www.AceltesEsenciales-eop.com

Dr. Gálvez Ramírez, Carlos Michell
Director de la Escuela Académica Profesional de Odontología.
Universidad Privada Norbert Wiener
Facultad de Ciencias de la Salud - Escuela académica de Odontología
Presente.-

De nuestra consideración, reciba los saludos cordiales a nombre de Essential Oils Perú.

Por medio de la presente tenemos a bien certificar que el producto ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* (Orégano) y *Mentha piperita* (Menta) es 100% puro, producido utilizando el método de Destilación por Arrastre de vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de Max Dickson Colpa Zamora con DNI N° 42774760 y código de alumno N° a2009100322 para su utilización en la investigación "EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* EN COMPARACION A LA NISTATINA FRENTA A CEPAS DE *Candida albicans*. ESTUDIO IN VITRO. LIMA 2016".

Atentamente,



Ing. Armando Noriega Mangini
Gerente General
Essential Oils Perú

ANEXO N°5



Essential Oils Peru SAC
Calle Los Viñedos 312 - Camacho
La Molina - Lima
Telf: (051) 730 9840
ventas@eopperu.com
www.AceitesEsenciales-eop.com

Protocolo de conservación de aceites esenciales EOP

Los Aceites Esenciales (AE) EOP son 100% puros y naturales. No contienen en su constitución aditivos químicos ni conservantes. Son producidos por medio de destilación por arrastre de vapor y mantenidos en condiciones óptimas de almacenamiento pudiendo tener un tiempo de vida útil de hasta 5 años según sea el caso.

Recomendaciones de almacenamiento y conservación:

- ✓ Mantenerlos en frascos de vidrio de color oscuro, ámbar de ser posible.
- ✓ Mantenerlos con tapón y tapa para evitar la entrada constante de aire.
- ✓ Mantenerlos alejados de la luz natural y en especial de la luz ultravioleta ya que algunos compuestos son fotosensibles y pueden llegar a oxidarse.
- ✓ Se deben conservar en lugares frescos, evitando cambios bruscos de temperatura, enfriamientos y calentamientos continuos.

El tiempo de vida útil promedio es de 5 años. Sin embargo las características aromáticas se mantienen intactas por un tiempo aproximado de 1 año en la mayoría de los casos.

Observaciones:

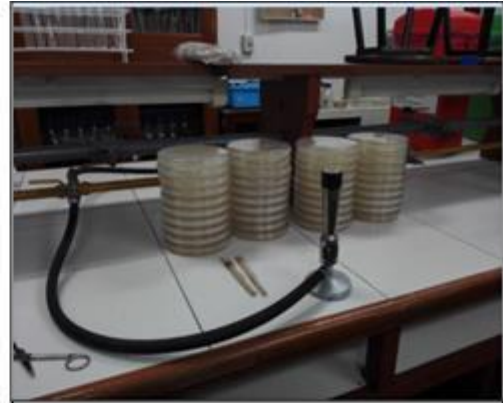
- ✓ Los AE cítricos son más propensos a la oxidación por lo que tienen un tiempo de vida menor. Para su mejor conservación se sugiere conservarlos a temperaturas entre los 4-10°C.
 - ✓ Los AE de anís, hinojo y otros de la familia *apiaceae*, tienden a solidificarse a bajas temperaturas, no implicando esto su deterioro. Para ellos, es recomendable mantenerlos a temperatura ambiente.
 - ✓ Los AE de vetiver y algunos maderables tienden a cambiar de aroma con el tiempo, fenómeno conocido como maduración.
-

ANEXO N°6

Fotos de los materiales usados:



Aceites Esenciales: *Mentha Piperita* y *Origanum Vulgare*



80 Placas Petri



Discos



Tween 20



Cepa de *Cándida Albicans*
(ATCC 90028).

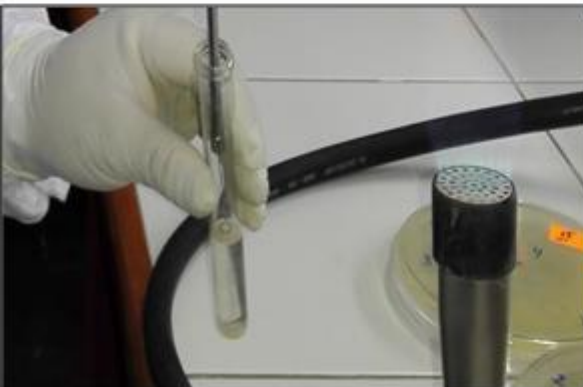
ANEXO N°7: Fotos del procedimiento en Laboratorio:



Preparación de las concentraciones



Reactivación de la Cepa *Cándida Albicans*



Inoculando en solución McFarland



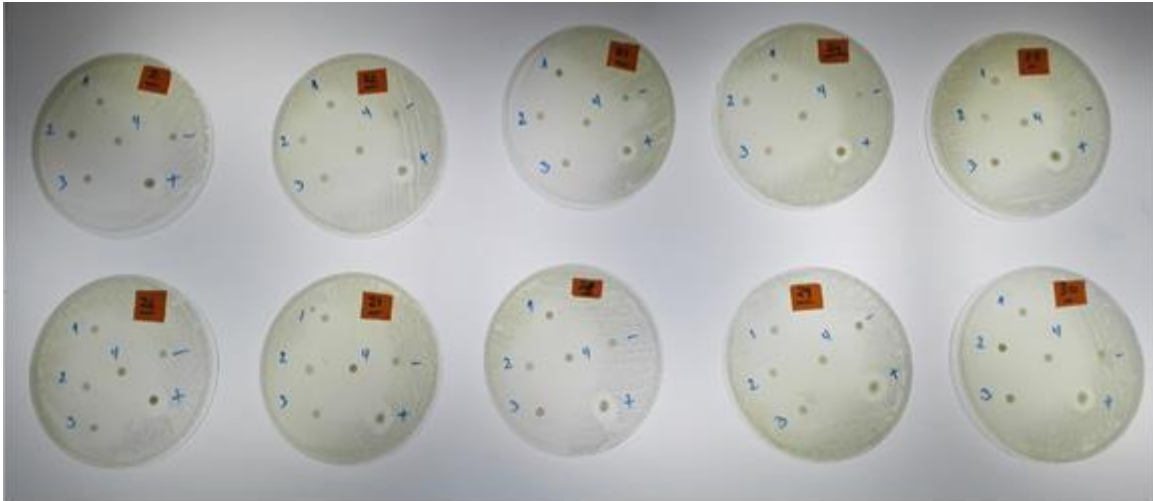
La cepa fue reactivada sembrándola en Agar Sabouraud por 24 horas a 37°C.



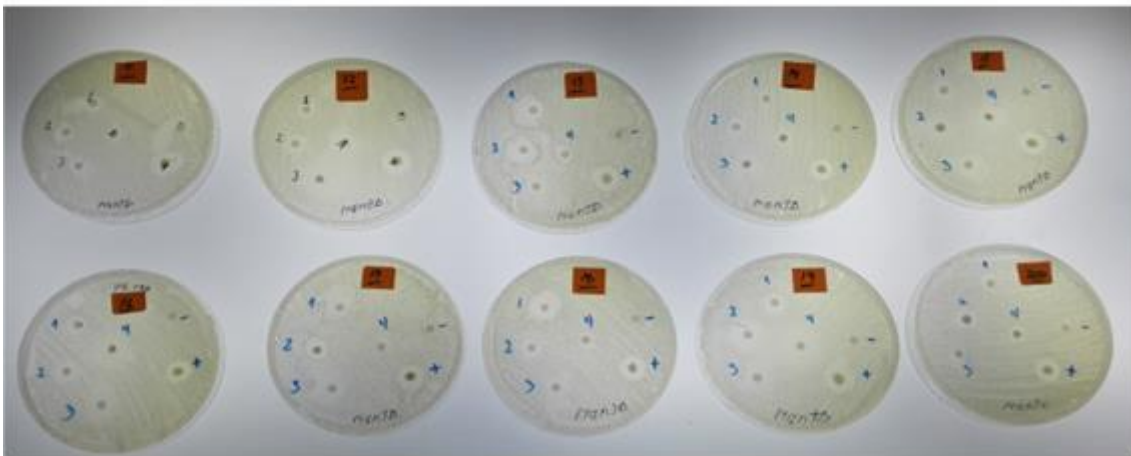
Sembrando pozos con concentraciones

ANEXO N°8:

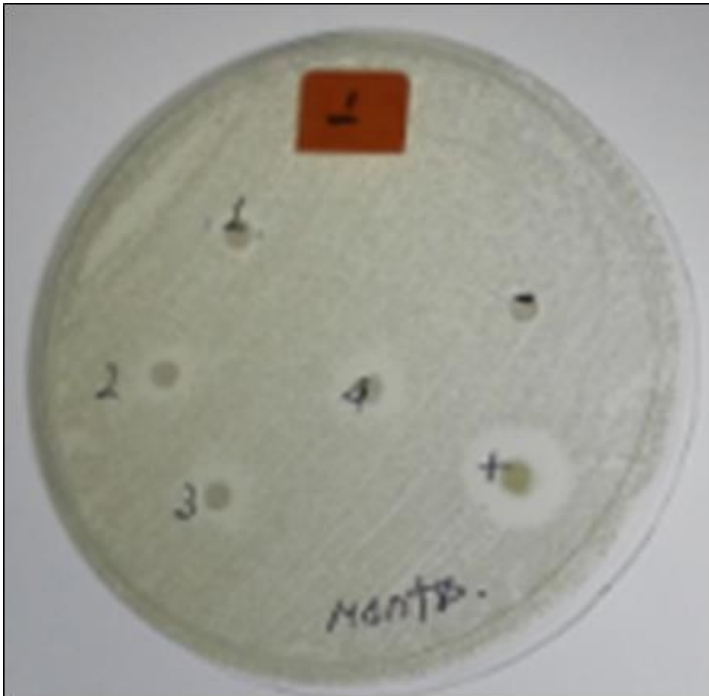
Resultados del procedimiento:



Placas de *Origanum Vulgare*

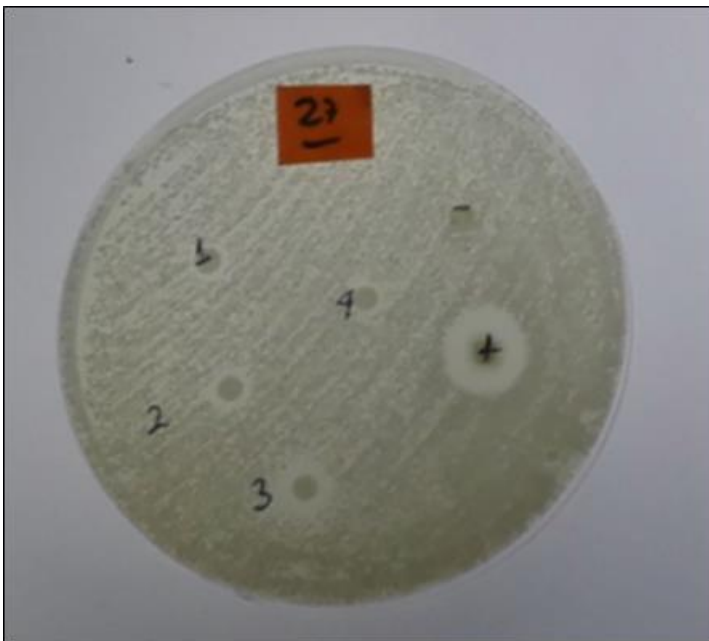


Placas de *Mentha Piperita*



LEYENDA MENTA:

- 1: 25%
- 2: 50%
- 3: 75%
- 4: 100%
- +: NISTATINA
- -: NaCl



LEYENDA
ORÉGANO:

- 1: 25%
- 2: 50%
- 3: 75%
- 4: 100%
- +: NISTATINA
- -: NaCl



MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN CON CALIBRADOR PIE DE REY

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: "EFECTO INHIBIDOR DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* y *Mentha piperita* EN COMPARACIÓN A LA NISTATINA FRENTE A CEPAS DE *Candida albicans*. ESTUDIO IN VITRO".

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	METODOLOGÍA	RESULTADOS	CONCLUSIONES
Problema principal: ¿Cuál es el efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> y <i>Mentha piperita</i> en comparación a la nistatina frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ?	Objetivo General: Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> y <i>Mentha piperita</i> en comparación a la nistatina frente a cepas de <i>Candida albicans</i> .	Hipótesis principal: <i>La concentración mínima efectiva del aceite esencial de la Mentha piperita presenta mayor efecto inhibidor que la concentración mínima efectiva del aceite esencial del Origanum vulgare frente a la cepas de Cándida albicans</i>	Estudio de tipo: Experimental, Prospectivo, Analítico y Longitudinal Nivel: Explicativo	1.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 25% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 22,30mm a 22,65mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	1.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 25% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 22,30mm a 22,65mm.
Problemas secundarios:	Objetivos específicos:	Hipótesis secundarias:	Población y Muestra:		
	1.- Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por el <i>Origanum vulgare</i> (Orégano) al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 horas	No presenta	Formada por cepas de <i>Candida albicans</i> (ATCC 90028).	2.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 50% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 27,30mm a 27,75mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	2.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 50% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 27,30mm a 27,75mm.
	2.- Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por el <i>Origanum vulgare</i> (Orégano) al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 48 horas.		Muestra: Muestreo no probabilístico intencional, se trabajó con 80 placas petri con cepas de <i>Candida albicans</i> (ATCC 90028).	3.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 75% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 33,13mm a 33,43mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	3.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 75% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 33,13mm a 33,43mm.

	3.- Comparar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por el <i>Origanum vulgare</i> , según su contracción frente a cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 y 48 horas.			4.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 100% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 45,73mm a 46,35mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	4.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Origanum Vulgare</i> al 100% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 45,73mm a 46,35mm.
	4.- Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por la <i>Mentha piperita</i> al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 horas.			5.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 25% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 12,55mm a 13,03mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	5.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 25% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 12,55mm a 13,03mm.
	5.- Determinar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por la <i>Mentha Piperita</i> (Menta) al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 48 horas.			6.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 50% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 14,73mm a 15,38mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	6.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 50% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 14,73mm a 15,38mm.
	6.- Comparar el efecto inhibidor del aceite esencial generado por la <i>Mentha piperita</i> (Menta) según su concentración frente a cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 y 48 horas.			7.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 75% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 16,65 mm a 17,25 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).	7.- El efecto inhibidor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 75% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 16,65 mm a 17,25 mm.

	7. Comparar la efectividad inhibitoria entre el aceite esencial generado por el <i>Origanum vulgare</i> y <i>Mentha piperita</i> al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 24 horas			8.- El efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 100% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumenta de 18,85 mm a 19,88 mm. Diferencia que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).	8.- El efecto inhibitor del aceite esencial de <i>Mentha piperita</i> al 100% frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> en los tiempos de 24 y 48 horas aumentó de 18,85 mm a 19,88 mm.
	8.- Comparar la efectividad inhibitoria entre el aceite esencial generado por el <i>Origanum vulgare</i> y <i>Mentha piperita</i> al 25% 50% 75% 100% frente a las cepas de <i>Candida albicans</i> a las 48 horas			9.- El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 17.83 a las 24 horas; mientras que el del <i>Origanum Vulgare</i> fue de 45.73. El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 18.20 a las 48 horas; mientras que el del <i>Origanum Vulgare</i> fue de 46.35, frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> .	9.- El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 17.83 a las 24 horas; mientras que el del <i>Origanum Vulgare</i> fue de 45.73. El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 18.20 a las 48 horas; mientras que el del <i>Origanum Vulgare</i> fue de 46.35, frente a cepas de <i>Candida Albicans</i> .
				10.- El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 19.60 a las 24 horas; mientras que el del <i>Mentha Piperita</i> fue de 18.85. El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 20.30 a las 48 horas; mientras que el del <i>Mentha Piperita</i> fue de 19.88, frente a cepas de <i>Candida Albicans</i>	10.- El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 19.60 a las 24 horas; mientras que el del <i>Mentha Piperita</i> fue de 18.85. El efecto inhibitor de la Nistatina fue de 20.30 a las 48 horas; mientras que el del <i>Mentha Piperita</i> fue de 19.88, frente a cepas de <i>Candida Albicans</i>

