

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Actividad anti *Candida* del extracto hidroalcohólico
de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi.
“pacha salvia”. Ayacucho – 2011.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR

Bach. URCUHUARANGA BALBÍN LINDA ELIZABETH

AYACUCHO – PERÚ

2011

A Dios y a mi madre María del Carmen por darme vida, educación y amor incondicional.

A mi amor y a mi hijo Luis por formar parte de mis alegrías, tristezas, logros, fracasos en estos años de mi vida.

A mi abuelita Hermelinda y a mi hermana Zulema, por ser fuente de mi inspiración.

AGRADECIMIENTO

A mi Alma Mater la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga forjadora de excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica y en especial a sus docentes por sus enseñanzas y dedicación durante mi formación profesional.

A mis asesores Mg. José Manuel, DIEZ MACAVILCA y MCs. José ALARCÓN GUERRERO, por compartir sus experiencias y conocimientos científicos.

A todas las personas que apoyaron desinteresadamente en la ejecución y culminación del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE

DEDICATORIA	<i>ii</i>
AGRADECIMIENTO	<i>iii</i>
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	04
2.1 Antecedentes	04
2.2 Aspectos botánicos de <i>Lepechinia meyenii</i>	06
2.3 Hongos	10
2.3.1 <i>Candida albicans</i>	11
2.3.2 <i>Candida glabrata</i>	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Ubicación	21
3.2 Materiales	21
3.3 Diseño Metodológico	22
3.4 Determinación de la actividad anti <i>Candida</i>	23
3.5 Determinación del Porcentaje de Inhibición	24
3.6 Determinación de la CIM y de la CFM	24
3.7 Diseño Experimental	25
3.8 Análisis de datos	26
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	34
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	40
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	

Actividad anti *Candida* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. “pacha salvia”. Ayacucho - 2011.

AUTOR : Bach. Linda Elizabeth, URCUHUARANGA BALBÍN.

ASESORES : Mg. José Manuel, DIEZ MACAVILCA.

: MCs. José ALARCÓN GUERRERO

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con la finalidad de determinar la actividad anti *Candida* del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. “pacha salvia” frente a *Candida albicans* y *Candida glabrata*. La investigación se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Las hojas de *Lepechinia meyenii* proceden de centro poblado de Huancabamba, distrito de Andahuaylas, provincia de Andahuaylas, región de Apurímac a 3400 m.s.n.m. Los metabolitos presentes en el extracto hidroalcohólico fueron: taninos, fenoles, flavonoides, triterpenos, esteroides, quinonas, lactonas y cumarinas, catequinas, azúcares reductores.

Se determinó la actividad anti *Candida* utilizando el método de Difusión en agar Sabouraud (placa excavada) empleando tres concentraciones de *Lepechinia meyenii*, un control positivo Nistatina (Micostatín®) y un control negativo (agua destilada) también se utilizó el método de Dilución en agar para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria CMI y Concentración Fungicida Mínima CFM.

La actividad anti *Candida* del extracto hidroalcohólico mostró mayor sensibilidad para *Candida glabrata* con respecto a *Candida albicans*, obteniéndose un halo de inhibición para *C. glabrata* de 18,3 mm y para *C. albicans* de 16,8 mm, mientras que para Nistatina de 22,7 mm y 21,4 mm respectivamente. La CMI para *C. glabrata* fue de 12,5 mg/mL y su Concentración Fungicida Mínima (CFM) de 25 mg/mL y para *C. albicans* la CMI es 25 mg/mL y su CFM es 50 mg/mL.

Se concluyó que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia” a 50mg/mL, tiene actividad anti *Candida* similar a la Nistatina.

Palabras Claves: actividad anti *Candida*, *Lepechinia meyenii*, extracto hidroalcohólico.

I. INTRODUCCIÓN

Los hongos son microorganismos eucariotas, la mayor parte de los hongos patógenos son exógenos, siendo sus hábitats naturales el agua, el suelo y los desechos orgánicos. Las micosis con mayor incidencia, la candidiasis y las dermatofitosis, son causadas por hongos que forman parte de la flora microbiana normal o están muy adaptados para sobrevivir en el hospedero humano. Las micosis pueden clasificarse en superficiales, cutáneas, subcutáneas, sistémicas y oportunistas. (Jawetz y col., 2002).

La candidiasis es una enfermedad causada por una levadura, en ciertas condiciones *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* forman parte de la flora normal de los humanos y ayudan a mantener el nivel bacteriano adecuado, sin embargo, algunas veces se desarrolla un crecimiento desmedido de este hongo por ciertos factores, que podría generar una variedad de problemas sobre todo en el paciente inmunodeprimido. Se pueden encontrar en las superficies mucosas sanas de la cavidad oral, tracto gastrointestinal, vagina y área rectal. (Patrick y col., 2002).

Candida albicans es la especie más frecuente aislada en problemas de flujo vaginal, esta infección es por la aparición de ciertos factores que favorecen el

crecimiento de la levadura como son: situaciones fisiológicas (recién nacidos, embarazadas), estados patológicos o sus tratamientos, empleo de antimicrobianos, uso de corticoides, etc. (Pumarola y col., 1987).

Los fármacos antifúngicos o antimicóticos son compuestos utilizados en el tratamiento causado por hongos, tal es el caso de la nistatina que es eficaz para tratar micosis localizadas y sistémicas posee un amplio espectro y raras veces induce resistencia. (Goodman y Gilman, 1996; Jawetz y col., 2002).

Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen.

Lepechinia meyenii, es una planta con propiedades medicinales entre las que destaca su propiedad antibacteriana, antiespasmódica y antioxidante. Se estima que el mayor porcentaje de la población peruana y sobre todo la ayacuchana tiene poco o ningún acceso a los medicamentos comercializados por las transnacionales e industrias farmacéuticas. El porcentaje de ésta población usa otros recursos y especialmente la fitoterapia o la medicina tradicional por ser de bajo costo para el tratamiento de sus problemas de salud. (Quick, 2002).

En el desarrollo de éste trabajo de investigación se determinará la actividad anti *Candida* el cual se evaluará en cepas *C. albicans* y *C. glabrata* por el método de difusión en agar. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Determinar Actividad anti *Candida* del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia".

Objetivos Específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia" y correlacionar con la actividad anti-*Candida*.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I) frente a cepas de *Candida albicans* y *Candida glabrata*.
- Determinar la Concentración Fungicida Mínima (CFM), del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia".

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

A pesar de los siglos de tradición, la fitoterapia ha evolucionado y ganado prestigio y eficacia, sobre todo en los últimos tiempos acercándose cada vez más a las normas y usos que exige la medicina moderna. Como resultado de ello; actualmente se tiene un mejor conocimiento de las propiedades medicinales, se ha incrementado su número, se han desentrañado científicamente secretos de sus principios activos y se han descrito con más precisión sus propiedades, contraindicaciones y efectos secundarios, lo que ha redundado en una más correcta sistematización y posología. (Palacios, 1997; Rodríguez, 2002).

En el 2009 se investigó la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos metanólicos, etanólicos e hidroalcohólicos de *Cassia reticulata* (planta entera), *Ilex guayusa* Loes (hojas), *Piper lineatum* (hojas), y *Terminalia catappa* (hojas), de doce extractos investigados, diez (83%) presentaron actividad significativa frente a *Candida albicans*, y seis (50%) contra *Microsporium canis*. Los extractos con la mejor actividad antimicrobiana fueron los tres extractos del *Piper lineatum*,

el extracto hidroalcohólico de *Cassia reticulata* y el hidroalcohólico de *Terminalia catappa*. (Ruíz y Roque, 2009).

Montiel y col. (2007), evaluaron la actividad anti-*Candida* y anti-*Aspergillus* de aceites esenciales de *Lippia alba* (Miller) N.E. Brown, quimiotipo carvonalimoneno y su asociación con sus componentes mayoritarios, se encontró que el aceite más activo fue el de *L. alba* de Flandes-Tolima con valores de CMI de 0,004 para *A. fumigatus* y 0,036 para *C. krusei*.

En el 2005 se investigó la actividad anti fúngica de *Annona cherimolia* Mill, *Annona muricata* L, *Bidens pilosa* L, *Hypericum laricifolium* L, *Juglans neotropica* Diels, *Piper spp.*, *Plantago major* L, *Psidium guajava* L, *Schinus molle* L. y *Spartium junceum* L. La actividad anti fúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). La CMI de los extractos que presentaron actividad consistente frente a *Candida albicans* ATCC 10231, fue de 250 µg/mL para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. y de 500µg/mL para *Piper spp.* (Huamani y Ruíz, 2005).

Quispe (2004), estudió la actividad antifúngica de Propóleo de *Apis mellifera* sobre cepas de *Candida albicans*, determinando la CMI del Propóleo de 3,6 ug/mL y la CFM que fue de 6,12 ug/mL, para los extractos etanólico y clorofórmico.

Alzamora y col. (2002), investigaron la actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus*, Labill "eucalipto"; *Cymbopogon citratus*, (D.C.) Staff "hierba luisa"; *Tagetes pusilla* Lag. "Anís serrano"; *Senecio tephrosioides*, Turcz "huamanrripa" y *Lepechinia meyenii*, (Walp) Epling "salvia", reportando que el aceite esencial de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi., presentó

efecto antimicrobiano frente a *Salmonella typhi* ATCC 6539, *S. typhimurium* ATCC 14028, *S. enteritis* INS, *V. cholerae* ATCC E-7946OGAWA, *P. aeruginosa* GT 28, *Shigella flexneri* INS, *S. aureus* INS, *C. albicans* ATCC 10231.

2.2. ASPECTOS BOTÁNICOS DE *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl.

2.2.1. SISTEMA DE CLASIFICACIÓN CRONQUIST A. (1988)

DIVISIÓN	: MAGNOLIOPHYTA
CLASE	: MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	: ASTERIDAE
ORDEN	: LAMIALES
FAMILIA	: LAMIACEAE
GENERO	: <i>Lepechinia</i>
ESPECIE	: <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl.
NOMBRE VULGAR	: "Pacha salvia".

Fuente: Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo N° 01).

2.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl.

Lepechinia meyenii (Walp) Epl., es una planta herbácea perenne que mide hasta 50 cm de altura algo postrada, formando matas; tienen tallos cuadrangulares con hojas opuestas, aovadas, rugosas de un color verde oscuro de 4 a 6 cm de largo; flores hermafroditas pentámeras en glomérulos que se encuentran en los nudos y ramas terminales con brácteas foliosas en la base, de 4 a 6 mm de largo, con el cáliz tubular pubescente y glanduloso de 4 a 5 mm de largo que termina en 5 lóbulos agudos, corola cilíndrica acampanada, bilabiada en el ápice, labio superior casi plano, trilobulada; de color violáceo; estambres 4 didínamos y estilo

filiforme bífido; fruto tetraquenio formado por 4 náculas o achenios. Toda la planta despide una fragancia muy agradable, por los aceites esenciales que contiene. (Tovar, 2001; Mostacero y Mejía, 1993).

2.2.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Esta especie esta distribuida por Argentina, Bolivia y Perú. Crece de preferencia en los niveles medios del territorio andino y también en la puna baja entre 3100 a 4100 m.s.n.m; en el Perú está distribuida en Ayacucho, Apurímac, Huánuco, Junín, Huancavelica, Cusco, Puno, y Ancash. (Tovar, 2001; Castillo, 2004).

2.2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

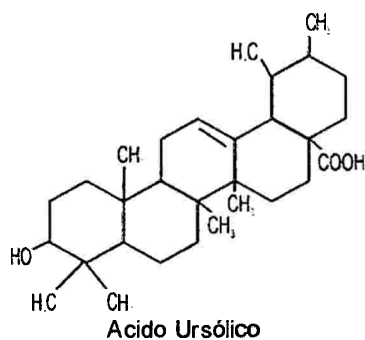
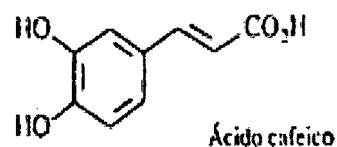
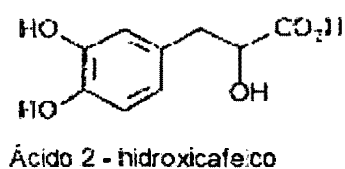
Se llama metabolitos secundarios a compuestos químicos que son sintetizados por la planta y no tienen funciones esenciales en ella. Las rutas metabólicas básicas constituyen los orígenes de los metabolitos secundarios, dando lugar a una vasta serie de compuestos, algunos responsables de olores característicos, causticidad y colores de los vegetales, otros comunican a la planta sus virtudes culinarias, medicinales o venenosas. (Angulo, 1997; Bruneton, 1991).

Según Pérez (2006), *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi., presenta en el extracto hidroalcohólico triterpenoides y esteroides, taninos y fenoles, flavonoides, catequinas, azúcares reductores lactonas y cumarinas. De la misma manera Yuncacallo (2005), reporta la presencia de fenoles y taninos, flavonoides, principios amargos, triterpenos y esteroides en extracto acuoso y en el extracto hidroalcohólico fenoles y taninos, lactonas y cumarinas, saponinas, catequinas, azúcares reductores, triterpenoides y esteroides.

Estudios fitoquímicos indican que las especies de este género biosintetizan principalmente, diterpenos (ácidos derivados de los núcleos abietano y

pimarano,) tricíclicos, triterpenos (ácido ursólico, leanólico, betulínico) y flavonoides (salvigenina, artemetina y santina). (Castillo, 2004).

De las partes aéreas de *L. meyenii* (extracto de acetona) se han aislado los derivados abietatrienos, pisiferol, ácido carnósico, rosmanol, salvicanol, isosalvicanol y un 12 formilabietano. (Castillo, 2004). Del extracto etanólico se han identificado carnosol, diosmetina, ácido ursólico, ácido cafeico y ácido 2-hidroxicafeico; además se han propuesto las estructuras de dos derivados del ácido hidroxicafeico. Compuesto en el aceite esencial es el guaioi.



2.2.5. PROPIEDADES Y USOS MEDICINALES:

Lepechinia meyenii, es utilizada para el dolor de estómago y trastornos digestivos, como bactericida: contra afecciones bucales y respiratorias, tos, infecciones del tracto urinario, como cicatrizante, para úlceras, también como anti

fúngico y emenagogo ya que rebaja los dolores de la menstruación (Basto, 2001; Pérez, 2006; Romero, 2006). Todas estas afecciones solo empleando las hojas o la planta sin raíz en infusión. (Montalvo, 1988).

2.2.6. ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS:

Pérez (2006), investigó la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia", encontrando mejor actividad con el extracto hidroalcohólico que el acuoso sobre *S. aureus* y *S. pyogenes*, también los porcentajes de inhibición frente al estándar de ampicilina sobre *S. aureus* fueron de 74,42% y 83,87% con el extracto hidroalcohólico de hojas y tallos respectivamente y con el extracto acuoso de hojas y tallos un 62,26% y 40,0%. Para *S. pyogenes* con el extracto hidroalcohólico un 36,0% y 32,58% respectivamente.

Yuncacallo (2005), estudió el efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pampa salvia" en el ileon aislado del "cuy", donde reportó que el extracto hidroalcohólico al 10% mostró mayor efecto antiespasmódico, obteniendo una disminución de la respuesta contráctil de 85,28% frente al extracto acuoso.

En el 2004, se realizó el estudio de la actividad antioxidante en *Lepechinia meyenii* (walp) "pacha salvia". Identificando cinco compuestos: carnosol, diosmetina, ácido ursólico, ácido cafeico, ácido 2-hidroxicafeico. El extracto de *Lepechinia meyenii* (walp) presentó 42,96% de actividad antioxidante a 10 ug/mL. De la separación guiada por la actividad antioxidante se aisló el componente de mayor actividad, el ácido 2-hidroxicafeico con 94,15% de la actividad a la concentración de 10 ug/mL. Reportándose que el ácido cafeico y el

ácido 2-hidrocafeico serían los principales responsables de su actividad antioxidante. (Castillo, 2004).

Lepechinia meyenii reporta también actividad antibacteriana contra microorganismos gram positivos (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus faecalis* y *Streptococcus beta-hemoliticus*) y gram negativo (*Shigella flexneri*, *Salmonella enteritidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) y actividad antifúngica contra (*C. albicans* y *Trichophyton mentagrophytes*). (Castillo, 2004).

Así también, Ccahuana y col. (2001), evaluaron el efecto antidiarreico del extracto seco hidroalcohólico de las hojas y tallo de *L. meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia" en ratones albinos reportando que a la dosis de 700mg/kg comparado con la papaverina, posee características similares en cuanto a la consistencia, peso y tiempo de evacuación.

2.3. HONGOS

Son microorganismos eucariotas que poseen un núcleo bien definido, mitocondrias, aparato Golgi y retículo endoplasmático. Pueden existir en una forma unicelular (levadura), capaz de replicarse de forma asexual, o en una forma filamentosa (moho), capaz de replicarse de forma tanto asexual como sexual. La mayor parte de los hongos existen en forma de levadura o en forma de moho (Patrick y col., 2002).

HONGOS OPORTUNISTAS

Los pacientes con defensas comprometidas son susceptibles a los hongos ubicuos a los cuales comúnmente están expuestas personas sanas sin sufrir enfermedad. En muchos casos el tipo de hongos y la historia natural de la

infección micótica son determinados por el estado de predisposición subyacente del huésped. *Candida* y las levaduras relacionadas son oportunistas endógenos. (Patrick y col., 2002).

Las infecciones por levaduras se ven en pacientes debilitados o con una enfermedad crónica o que están inmunocomprometidos con alteración de los mecanismos de defensa por la administración de corticoides, agentes citotóxicos inmunosupresores o el uso a largo plazo de antibióticos. (Jawetz y col., 2002).

2.3.1. *Candida albicans*

Se encuentra actualmente clasificada de la siguiente forma.

Reino	: Fungi
División	: Deuteromycota
Clase	: Blastomycetes
Orden	: Cryptococcales
Familia	: Cryptococcaceae
Género	: <i>Candida</i>
Especie	: <i>Candida albicans</i>
	: <i>Candida glabrata</i>

Fuente: (Pumarola y col., 1987).

Cándida albicans es una levadura que crece habitualmente sobre las mucosas de la boca, gastrointestinal y genitourinario. Como parte de la flora normal prolifera como una levadura por brotes, las hifas solo se reproducen durante la invasión tisular. Las infecciones son el resultado de un sobre crecimiento oportunista cuando se suprime la microflora competidora con antibióticos o por factores predisponentes y desencadenantes como: anatómicos (Edad, vagina

húmeda) y fisiológicos (embarazo, alteraciones endocrinas, farmacológicas, Instrumentales, Hábitos, SIDA). (Soto, 2001).

2.3.1.1. Estructura

Candida albicans se halla principalmente como una levadura de yemas esféricas u ovoides de 4 a 5 micras de diámetro. Aunque es un hongo dimórfico con capacidad de producir hifas verdaderas y micelios verdaderos, a menudo forman pseudomicelios y compuestos de pseudohifas. Cualquiera de estas dos formas filamentosas se califica de micelial o forma de moho (M) la forma de levadura, con yemas, se denomina forma (Y). Los tubos germinales son diferentes de la pseudohifas y son producidas sólo por *C. albicans*. Las formas de hifas se producen *in vivo* sólo cuando resultan invadidos los tejidos. (Quentin y Russell, 1991). A lo largo de los micelios se forman grupos de blastosporas en determinadas condiciones de crecimiento *in vivo*, el cultivo *in vitro* demuestra la presencia en los extremos de la hifas o entre las células de las mismas, de clamidosporas adicionales redondas, de pared gruesa. Las clamidosporas representan esporas inactivas resistentes y, en consecuencia, se forman en los cultivos viejos o en medios un tanto pobres, como el agar de maíz. (Quentin y Russell, 1991).

2.3.1.2. Epidemiología

Existen más de 150 especies *Candida*, de ellas aproximadamente 17 se consideran patógenas habituales para el ser humano. De las 17 sólo 5 producen más del 90 % de las infecciones invasivas por *Candida* estas son: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Aunque *C. albicans*, sigue siendo el hongo más frecuentemente aislado, se está observando en los últimos años una tendencia hacia el aumento del grupo de *Candida* no *albicans*

resistentes a azoles, como *C. glabrata* y *C. krusei*, en probable relación con el uso de fluconazol. (Espinosa, 2008).

C. albicans y algunas especies son miembros indígenas de la flora normal humana; pero también de muchos animales. A pesar de su prevalencia en reservorios animales, la fuente de infecciones humanas por *C. albicans* es endógena y surge de lugares portadores del mismo paciente. Alrededor del 10% de las personas sanas tiene *C. albicans* en la boca, y 15% en el recto. Esto puede llegar a 40% o más en los pacientes y tiende a aumentar con la edad y el tratamiento con antibióticos. La portación vaginal es normalmente máxima en mujeres embarazadas y en la piel rara vez excede el 8%. (Braude, 1984).

C. albicans puede extenderse desde la vagina o el recto para causar candidiasis intertriginosa de la ingle en los diabéticos, muguet oral en el recién nacido, y desde la piel mediante catéteres intravenosos o desde el intestino mediante úlceras mucosas a la sangre circulante. (Braude, 1984).

2.3.1.3. Infecciones en el hombre

C. albicans es un microorganismo comensal del hombre que coloniza las mucosas, principalmente la vagina y los extremos del tracto digestivo (orofaringe y recto). (Quentin y Russell, 1991).

Los factores que favorecen la aparición de candidiasis son:

- a) Situaciones fisiológicas, en que las defensas inmunológicas no se encuentran en estado óptimo (recién nacido, anciano, embarazo).
- b) Estados patológicos o sus tratamientos; que producen un efecto inmunosupresor: leucemia, linfoma, antimitóticos, etc.

- c) Empleo de antimicrobianos que condicionaría lo siguiente: Destrucción de la flora normal con sobre infección. por levaduras, alteración de la mucosa intestinal y disminución de la eficacia de los neutrófilos para destruir *Candida*.
- d) Uso de corticoides, que suprimen la respuesta de los neutrófilos frente a *Candida ssp.*, impiden la migración de los neutrófilos o afectan la fagocitosis y digestión de levaduras englobadas.
- e) En otros casos, la desaparición de las barreras naturales externas, donde las levaduras alcanzan directamente el medio interno como: quemaduras, drogadicción, catéteres, intervenciones quirúrgicas, etc.
- f) El incremento de glucosa en los tejidos del organismo es un factor que favorece el desarrollo y multiplicación de *Candida*, importante en diabéticos que padecen con frecuencia candidiasis. (Pumarola y col., 1987).

Las especies de *Candida* pueden producir gran variedad de formas clínicas (infecciosas y alérgicas). Las formas infecciosas pueden localizarse a nivel superficial en mucosas y piel o ser sistémicas (tejidos u órganos profundos). Las infecciones superficiales por *Candida*, de procedencia endógena se localizan en las mucosas, piel y uñas, un ejemplo claro es el Muguet (*Candida* en la mucosa bucal del recién nacido), en los adultos se favorece el desarrollo de *Candida albicans* en la boca por la avitaminosis (deficiencia de riboflavina), diabetes, neoplasias o tratamientos médicos con esteroides, antibióticos u otros fármacos. Otra infección superficial causada por *Candida* es la vaginitis que se caracteriza por la aparición de pseudomembranas blancogrisáceas en la mucosa vaginal, flujo blancoamarillento y prurito. La infección de la piel y uñas se ve favorecida por trastornos metabólicos (diabetes, obesidad, alcoholismo crónico) y otros locales en la piel (humedad, oclusión y maceración de la piel), las lesiones se

producen en zonas intertriginosas de la piel (axilas, ingles, pliegues submamaros), también tenemos a la paroniquia y onicomicosis, que son formas de candidiasis en personas que están frecuentemente en contacto con agua. (Pumarola y col., 1987).

La mortalidad de las candidiasis generalizadas es elevada y su gravedad está en función de una serie de factores relacionados con los microorganismos y el huésped, estas candidiasis pueden presentarse bajo múltiples formas clínicas específicas, según la localización que alcancen: sangre, endocardio, riñón, ojos, vías urinarias y SNC. (Pumarola, 1987).

La candidiasis diseminada suele ser el acontecimiento terminal en pacientes con otros trastornos como enfermedades malignas. (Quentin y Russell, 1991).

El pulmón puede también ser un foco séptico en candidiasis invasiva. Otra forma de diseminación es por introducción directa del hongo al torrente circulatorio por la administración de heroína por vía parenteral en drogadictos. (Espinosa, 2008).

2.3.1.4. Cultivo

El crecimiento es rápido en medio de Sabouraud. Se forman colonias de levaduras cremosas después de la incubación durante una noche a temperatura de 21°C a 37 °C. Después de unos pocos días de crecimiento en agar de Sabouraud, las colonias contienen principalmente formas Y en la superficie; sin embargo, dentro del agar crecen tanto el micelio verdadero como el pseudomicelio. Los acúmulos característicos de blastosporas aparecen a lo largo de las hifas, y a menudo también hay clamidosporas. Incubados a 37°C en suero, los organismos crecen con rapidez y forman tubos germinativos en una a cuatro horas. Los tubos germinales poseen antígenos que no están presentes en

las levaduras así como las diferencias cuantitativas en otros componentes de la pared celular. (Quentin y Russell, 1991).

2.3.1.5.-Factor de Virulencia:

El factor de virulencia para *C. albicans* es la producción de pseudohifas, que son consideradas como estructuras que incrementan la adherencia y penetración del hongo en los tejidos. El poder patógeno es explicado por la forma en que se presenta el hongo en las lesiones (levaduriforme o filamentosa). La forma filamentosa resiste mejor y por más tiempo que las levaduras a la digestión en neutrófilos y mononucleares. (Pumarola y col., 1987).

2.3.1.6. Terapéutica

La terapéutica consiste en corregir condiciones predisponentes y el empleo de antimicóticos. La enfermedad diseminada puede tratarse con anfotericina B, es el fármaco más eficaz para las micosis sistémicas graves. Posee un amplio espectro y raras veces induce resistencia. El mecanismo de acción de los polienos implica la formación de complejos con el ergosterol en las membranas celulares fúngicas; como resultado hay daño en la membrana y salida del contenido celular. También se utiliza la nistatina que es un antimicótico polieno B con un modo similar de acción. Se puede emplear para tratar las infecciones locales por *Candida sp*, en la boca y la vagina. La nistatina también puede suprimir la candidiasis esofágica subclínica y el crecimiento excesivo de *Candida* en el aparato gastrointestinal. (Goodman y Gilman, 1996; Jawetz y col., 2002).

2.3.2. *Candida glabrata*

Es una levadura productora de colonias lisas de consistencia blanda y de color crema, constituidas por células de 2,5-5 μm x 3,5-4,5 μm de diámetro. Presentan

formas individuales ovoides, incapaces de formar pseudohifas (hifas no verdaderas) o pseudomicelio (falso micelio) o, como máximo, pueden formar una cadena corta de levaduras ovoides. La gemación es multilateral, no produce cápsula ni artrosporas, y tampoco se han descrito esporas sexuales. Se trata de una levadura haploide, a diferencia de *C. albicans*. La estructura antigénica de *C. glabrata* ha sido determinada por varios autores, demostrándose que existe cierto grado de reactividad cruzada con otras especies consideradas más patógenas como *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilopsis*, *C. guilliermondii*. Sin embargo se han descrito algunos componentes antigénicos característicos de esta especie, como el factor número 34, base del sistema de identificación comercializado con el nombre de *Candida check*. (Torres y col., 2008).

2.3.2.1. Consideraciones Fisiológicas

Los blastoconidios de *C. glabrata* no asimilan el inositol y no poseen el pigmento carotenoide, solamente fermenta la glucosa y la α -trealosa. Estos mismos azúcares son asimilados además del D-gluconato y el DL-lactato.

Tabla1. Características diferenciales de *C. albicans* y *C. glabrata*

Característica	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>
Blastoconidios	3-7x3-14 μ m	2,5-4,5 x 4-6 μ m
Seudohifas	Sí	No
Clamidosporas	Sí	No
Número de cromosomas	7-9, diploide	11, haploide
Asimilación de azúcares	G, S, M, T, GAL, A ^a	G, T ^a
Color en medios cromogénicos		
CHROMagar	Verde	Lila-púrpura
Candida ID	Azul	Blanco

Crecimiento en cicloheximina 0,1%	+/-	-
Virulencia experimental	+++	+
Resistencia a triazoles	+	+++

G^a: Glucosa; S: Sacarosa; M: Maltosa; T: Trealosa; GAL: Galactosa; A: Arabinosa

Fuente: (Torres y col., 2008).

2.3.2.2. Identificación de la Especie

C. glabrata crece con facilidad a 37°C en el medio Agar Glucosado de Sabouraud de 24-48h, en aquel medio origina unas colonias lisas, no adherentes, de color blanco o cremoso, más o menos brillantes. (Tapia, 2008).

En medios cromogénicos, como el CHROMagar, las colonias aparecen de color lila a púrpura. Los datos negativos, en cuanto a la ausencia de pseudohifas o clamidosporas cuando se siembra la cepa en medios pobres, como el agar crema de arroz o el agar harina de maíz, junto con la morfología y el tamaño reducido de los blastoconidios (3-4 µm) orientan hacia esta especie, pero solamente las pruebas bioquímicas del auxograma y zimograma confirman la identificación. (Torres y col., 2008).

2.3.2.3. Factores de Virulencia

La ausencia de algunos factores de virulencia, como la producción de pseudohifas, consideradas como estructuras que incrementan la adherencia y penetración del hongo en los tejidos, conduce a considerar que *C. glabrata* es menos virulenta que otras especies, sin embargo existen evidencias que demuestran una rápida diseminación de las infecciones por aquélla en los enfermos inmunodeprimidos, en quienes también se produce una elevada tasa de mortalidad. Algunas investigaciones han demostrado que *C. glabrata* produce proteinasas y que la hidrofobicidad de su superficie celular es similar a la de *C.*

albicans, lo que asegura su capacidad de adherencia a las células del huésped. Otros factores relacionados con una mayor virulencia, como el cambio en el fenotipo de las colonias, muy estudiado en *C. albicans*, también puede producirse en *C. glabrata*. (Torres y col., 2008).

Algunas alteraciones del huésped que contribuyen al desarrollo de las infecciones por esta especie son la disminución en los niveles de IgA secretora vaginal, una menor respuesta inflamatoria y, sobre todo, una disminución de los linfocitos T, hecho que explica su mayor frecuencia en los pacientes con SIDA, trasplantados y con neoplasias. (Torres y col., 2008).

2.3.2.4. Epidemiología de las Infecciones por *Candida glabrata*

Las infecciones por el género *Candida* han aumentado su incidencia en las tres últimas décadas, constituyendo actualmente una causa importante de morbi-mortalidad. Aunque *C. albicans* continúa aislándose como la especie más frecuente, se ha descrito un significativo aumento de otras especies entre las cuales, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata* son las más importantes. Esta última es una especie ubicua aislándose, por ejemplo, de la cavidad oral y vaginal de mujeres sanas y en las manos del personal sanitario. La colonización por estas levaduras se incrementa con la prolongación de la hospitalización y el deterioro clínico del enfermo, considerándose esta colonización el primer paso de muchas infecciones. (Torres y col., 2008; Tapia, 2008).

C. glabrata se aísla cada vez con mayor frecuencia de muestras clínicas, como agente de candidiasis vaginal (infección causada por el género *Candida*), o produciendo micosis sistémicas graves y candidemia (infección del torrente sanguíneo por *Candida*) en los enfermos críticos. En las mujeres afectadas de vaginitis con flujo aumentado, *C. glabrata* corresponde a la especie más

cultivada después de *C. albicans*, también se han descrito algunos brotes epidémicos en las Unidad de Cuidados Intensivos UCI, considerados como infecciones nosocomiales. (Tapia, 2008).

2.3.2.5. Terapéutica

Presenta resistencia a fluconazol, se ha podido demostrar que la resistencia a los azoles se debe a un incremento en la síntesis de ergosterol dependiente del citocromo P-450 y la existencia de una bomba de flujo activa para el fluconazol. Generalmente *C. glabrata* es sensible a los derivados poliénicos, como la nistatina. (Torres y col., 2008; Tapia, 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los Laboratorios de Farmacognosia y Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga,

3.2. MATERIALES

3.2.1 Población

Hojas de la especie *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”, que crecen en el Centro Poblado de Huancabamba, distrito de Andahuaylas, provincia de Andahuaylas, región de Apurímac a 3400 m.s.n.m., recolectadas durante el mes de febrero del 2011. La identificación botánica de *Lepechinia meyenii* se realizó en la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga con la colaboración de la Bióloga Laura Aucasime Medina.

3.2.2 Muestra

01 Kg de hojas secas de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”.

3.2.3 Material Biológico

Cepas de *Candida albicans* y *Candida glabrata*, facilitadas por el Instituto Nacional de Salud (INS) de Lima (Anexo 02).

Control positivo: Nistatina de 100 000 UI (Micostatín® suspensión)

3.3 DISEÑO METODOLÓGICO

3.3.1 Procedimiento para la recolección de muestra

Se procedió a recolectar las hojas de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”, se seleccionó las hojas que no estaban dañadas ni maltratadas luego se distribuyó en una habitación ventilada sobre papel periódico para su secado, aproximadamente por una semana, después se molió haciendo uso de un mortero a la contextura de polvo almacenándolos después en frasco de vidrio ámbar.

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”.

La muestra seca y molida aproximadamente unos 200 g se maceró con 2L alcohol a 70° en frascos de color ámbar, por un período de una semana, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar y concentrar, hasta obtener un extracto seco.

3.3.3. Identificación de los metabolitos secundarios de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”

Las reacciones de identificación se realizaron por coloración y precipitación, siguiendo la metodología propuesta por Miranda, (2000) la cual se indica en el (Anexo 03).

3.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD anti *Candida*

Técnica: Se determinó la actividad utilizando la técnica de Difusión en Agar (placa excavada o de los pozos) (Del Pino, 2008) y Dilución en Agar para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Fungicida Mínima CFM (INS, 2002).

3.4.1. Método Difusión en Agar (placa excavada)

-Preparación de medios de cultivo y placas: Se utilizó el medio Agar Sabouraud Glucosado previamente esterilizado a 15 Lb de presión y 121°C por 15 minutos en un autoclave. Luego se añadió el antibiótico de cloranfenicol para evitar el crecimiento de bacterias previo plaqueado. Después se vertió el medio fundido unos 20 mL, en las placas petri estériles, hasta una altura de 4mm se dejó reposar y secar por 5 minutos. (Salcedo, 1993; INS, 2002).

-Activación de las cepas: Con la ayuda de una asa de kolle se transfirió una asada del cultivo de *C. glabrata* y *C. albicans* que se adquirió del INS y se repicó en viales de 10 mL que contenían agar Sabouraud, luego se dejó incubar a 37°C por 24 horas, de esta manera se obtuvo un cultivo joven. (INS, 2002).

-Preparación del inóculo: De las cepas jóvenes, se preparó el inóculo, se utilizó un asa de kolle para transferir el cultivo de hongos en un tubo conteniendo 5mL de Suero Fisiológico, se dejó por 2 horas hasta alcanzar la turbidez del estándar 0,5 de la escala de Mac Farland.(INS, 2002).

-Inoculación del extracto: Se impregnó un hisopo estéril introduciéndolo en el inóculo, luego de escurrir contra las paredes del tubo para eliminar el excedente del líquido, se realizó la siembra en la placa petri, que contenía agar Sabouraud, en tres direcciones diferentes a fin de obtener una distribución uniforme del

inóculo, reposado ya de 3-5 minutos, se realizaron las perforaciones de 10 mm de diámetro, donde se inocularon 100 uL de los extractos a diferentes concentraciones (tres tratamientos), un control positivo (Nistatina) y el control negativo (agua destilada), luego se incubó a 37 °C por 24 horas. (INS, 2002).

3.4.2. Lectura: Después del tiempo de incubación, se procedió a medir la formación de la zona de inhibición. Los resultados se reportaron en función a la presencia o ausencia del halo de inhibición del crecimiento del microorganismo, la formación de dicho halo significará sensibilidad (S) y la no formación resistencia (R). (Granados y Villaverde, 2007).

3.5. Determinación del porcentaje de inhibición

Para ello se midió los halos producidos por cada uno de los extractos, divididos sobre el diámetro del halo de inhibición del antimicótico con eficacia comprobada utilizada para cada microorganismo (Pérez, 2006).

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición del extracto}}{\text{Diámetro del halo de inhibición de referencia}} \times 100$$

Se buscó una concentración de los extractos químicos donde el porcentaje sea el cercano al 100% a más para considerarla como concentración efectiva.

3.6- Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima. (CFM)

Concentración Mínima Inhibitoria: Es la concentración más baja de extracto o del compuesto que es capaz de inhibir cualquier crecimiento visible. (Granados y Villaverde, 2007). Se siguió el procedimiento según el (Anexo 07y 08).

Concentración Fungicida Mínima: Es la concentración más baja de un fármaco que produce la muerte del 99,9% del microorganismo probado y sólo permite la

supervivencia de 0,1 % de los microorganismos en cultivo. Se siguió el procedimiento según el (Anexo 07 y 08).

Preparación del inóculo: El inóculo se preparó verificando la turbidez con la escala 0,5 Mac Farland, en 5mL de solución salina fisiológica. Las soluciones de cloruro de sodio tienen una composición similar al líquido extracelular del organismo también la misma presión osmótica que los líquidos corporales. Para determinar estos dos parámetros se utilizó el método de Dilución en agar, donde a partir de la solución madre 100 mg/mL se preparó diluciones decrecientes del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (Walp).Epl. "pacha salvia" de 75, 50,25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.563, 0.156 mg/mL. Un mililitro de la suspensión de microorganismo se agregó a los tubos que contenían un mililitro de caldo con el extracto en las concentraciones indicadas, a las 24 horas se observa turbidez a simple vista, 0,1mL de los caldos no turbios se subcultiva en agar y el tubo que no presenta turbidez (crecimiento) se considera la CMI. (Alarcón y col. 2011). (Anexo 07 y 08).

3.7.-DISEÑO EXPERIMENTAL

Se clasificó en cinco grupos experimentales y siete repeticiones para cada grupo como se indica el (Anexo 10, 11, 12 y 13).

- Grupo 1: Control positivo; Nistatina suspensión.
- Grupo 2: Control negativo; Agua destilada
- Grupo 3: Extracto hidroalcohólico de hojas de 12,5 mg/mL de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia".
- Grupo 4: Extracto hidroalcohólico de hojas de 25 mg/mL de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia".

- Grupo 5: Extracto hidroalcohólico de hojas de 50 mg/mL de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia".

3.8. ANALISIS DE DATOS:

Los datos obtenidos se presentan en cuadros, gráficos y fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) factorial al 95%. Para esto se usó el programa SPSS 15.0. Además se realizó la prueba de Tukey con 95% de confianza, para hallar el grado de eficiencia significativa y determinar el valor farmacológico en estudio. (Pérez, 2006).

IV. RESULTADOS

CUADRO N° 01: Metabolitos Secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* “pacha salvia”. Ayacucho. 2011.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	+++	Precipitado rojo
CATEQUINAS	Catequinas	++	Mancha verde carmelita a luzUV
LACTONAS Y/O CUMARINAS	Baljet	+	Naranja rojzo
FLAVONOIDES	Shinoda	+++	Fase amílca de color amarillo
FENOLES Y/O TANINOS	Cloruro férrico	+++	Coloración verde intenso
QUINONAS	Borntrager	++	Rosado- naranja
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Liebermann-Burchard	+++	Coloración verde oscura

Leyenda:

(+) : Presencia

(++) : Buena

(+++): Excelente

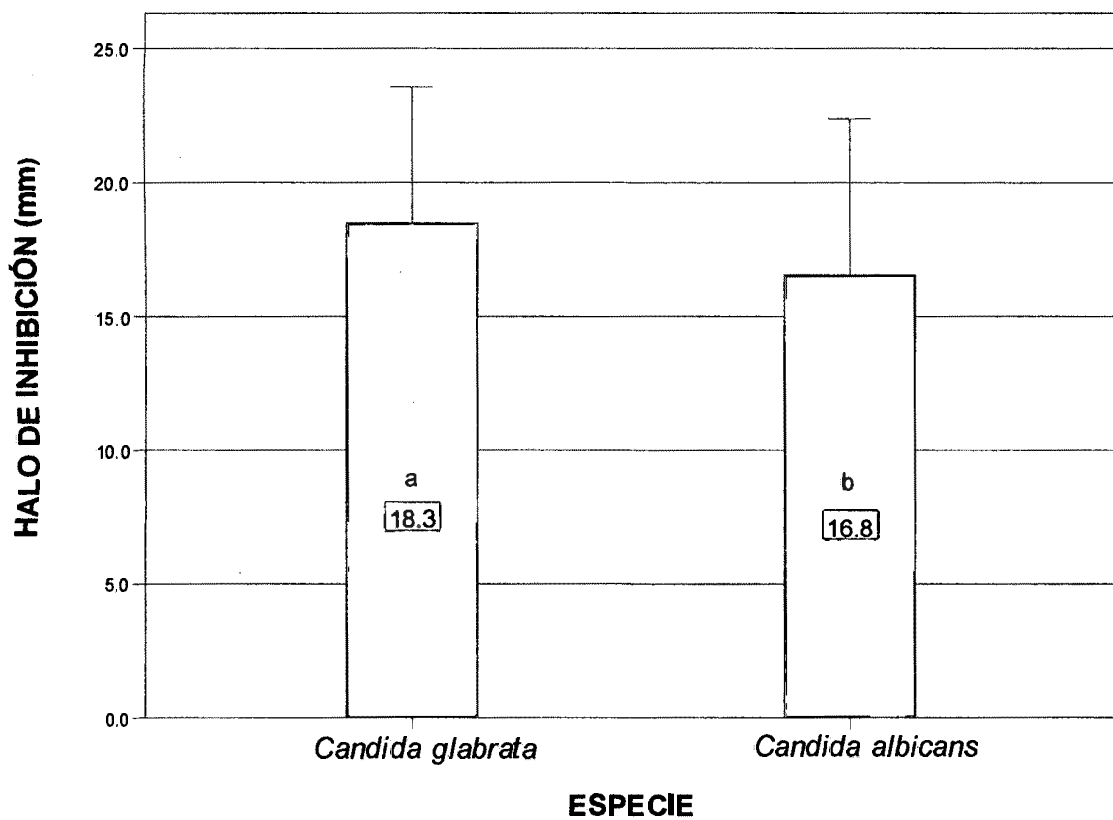


Gráfico 01.-Valores promedios de los halos de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. “pacha salvia” frente a *Candida albicans* y *Candida glabrata*. Ayacucho-2011.

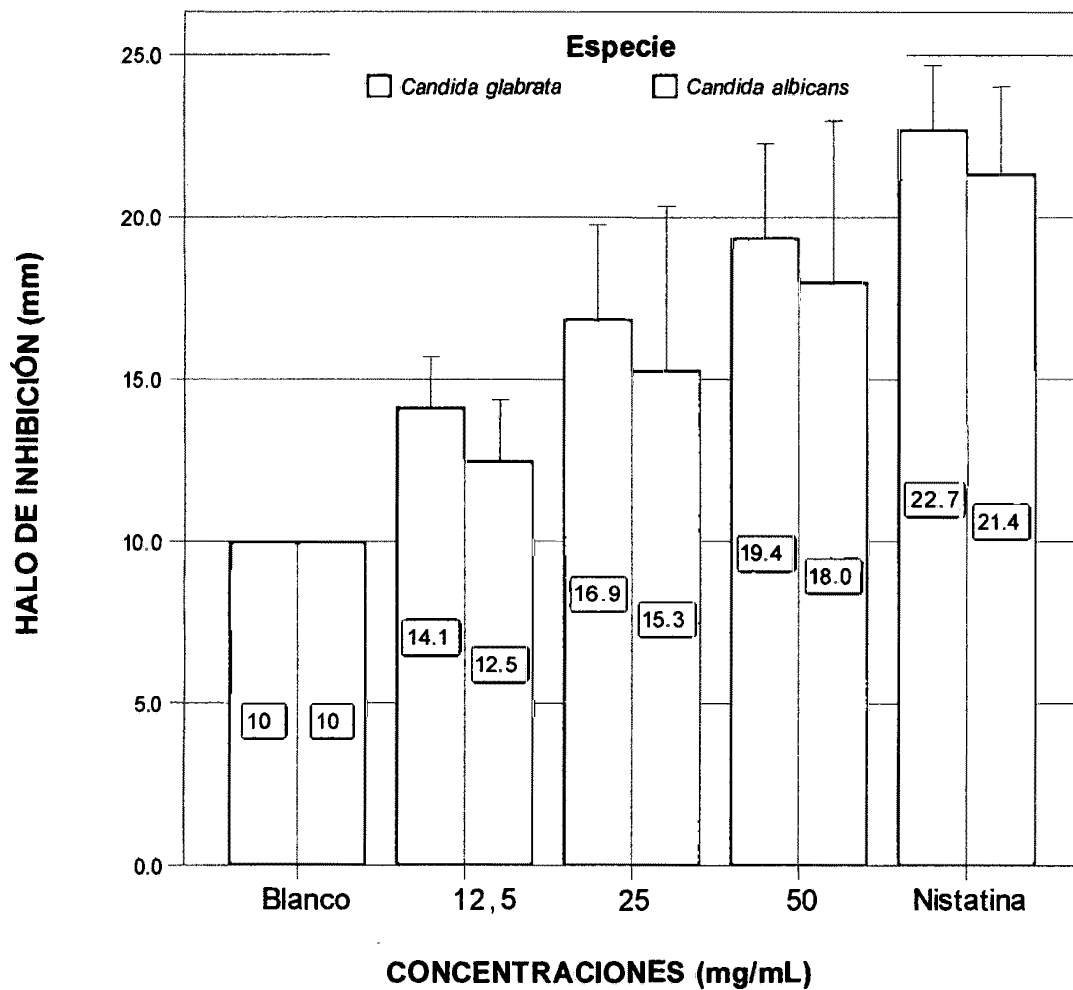


Gráfico 02.- Promedios de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. “pacha salvia” frente a *C. albicans* y *C. glabrata*. Ayacucho. 2011.

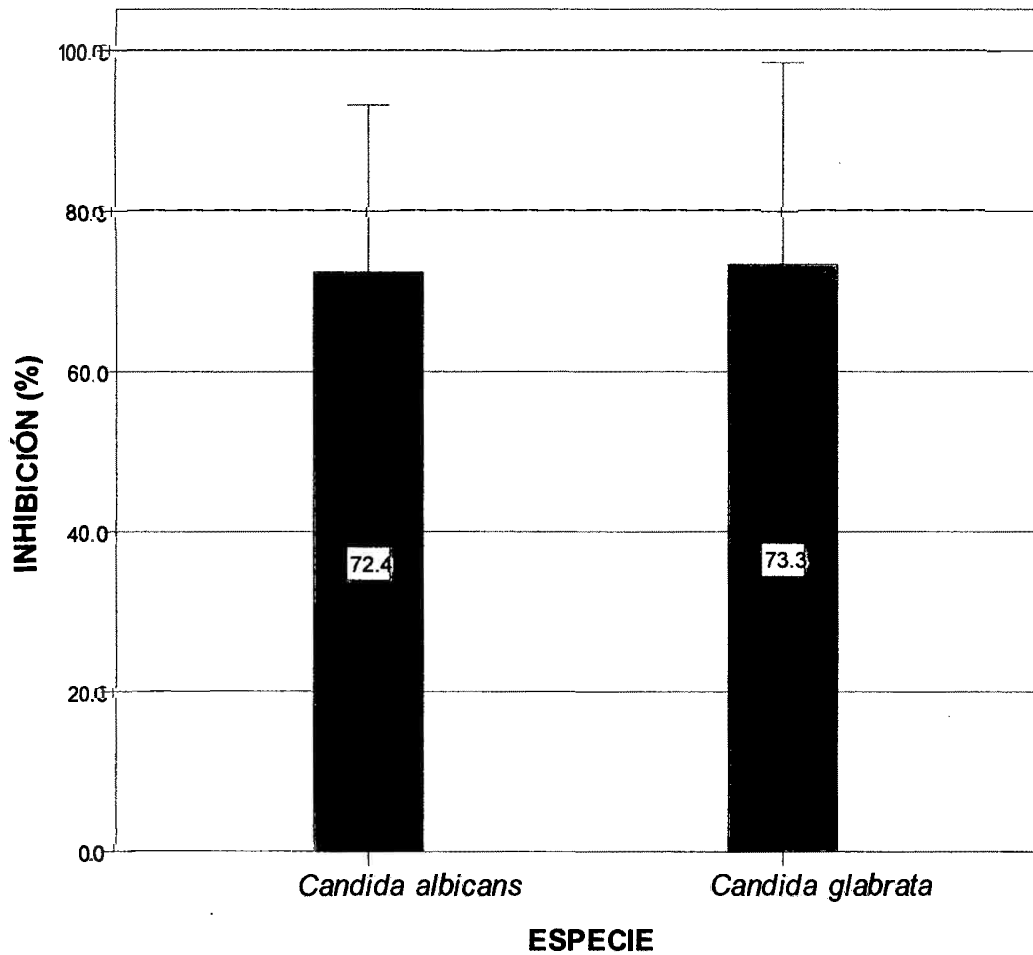


Gráfico 03. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia" frente a *Candida albicans* y *Candida glabrata*. Ayacucho- 2011.

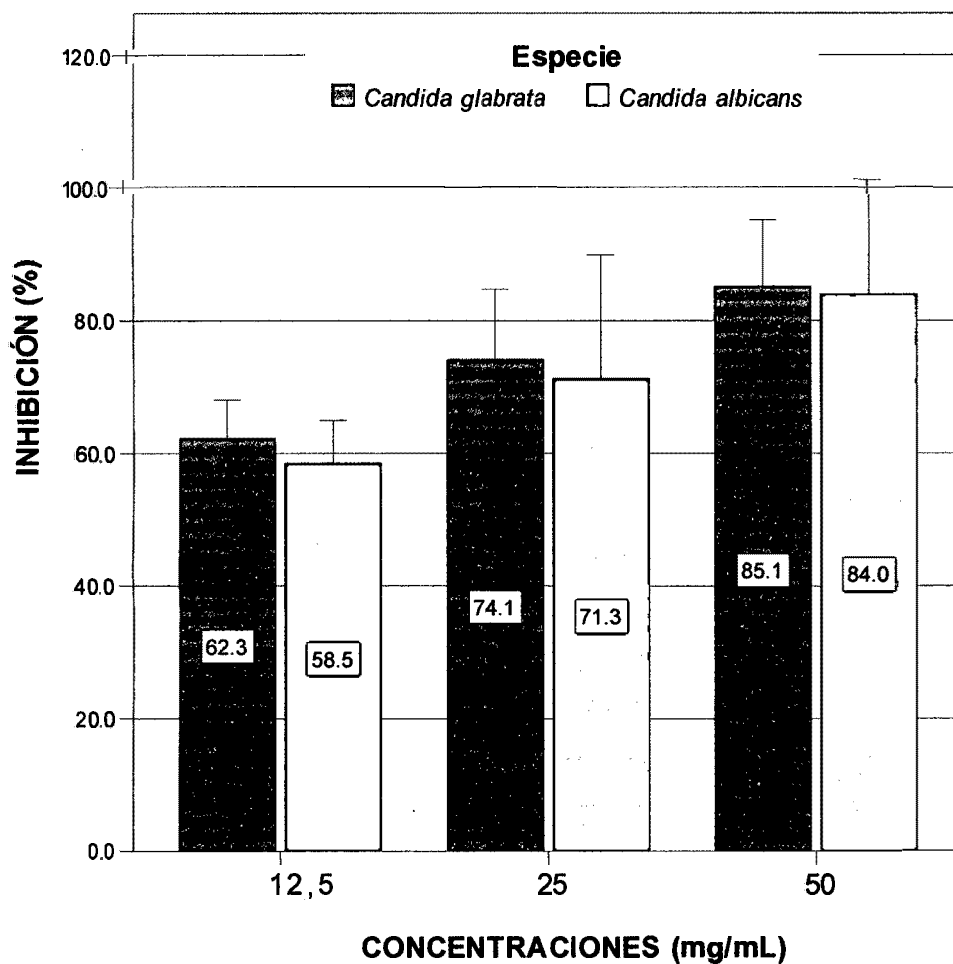


Gráfico 04- Valores promedios del porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. “pacha salvia” frente a *C. albicans* y *C. glabrata*. Ayacucho-2011.

Cuadro N° 02.- Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp). Epi. "pacha salvia". Ayacucho. 2011.

Extracto hidroalcohólico C (mg/mL)	<i>Candida glabrata</i>		<i>Candida albicans</i>	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
100	-	-	-	-
75	-	-	-	+
50	-	+	- CFM	+
25	- CFM	+	- CMI	+
12,5	- CMI	+	+	+
6,25	+	+	+	+
3,125	+	+	+	+
1,563	+	+	+	+
0,156	+	+	+	+

Nistatina C (ug/mL)	<i>Candida glabrata</i>		<i>Candida albicans</i>	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
200	-	-	-	-
100	-	-	- CFM	-
50	- CFM	+	- CMI	+
25	- CMI	+	+	+
2,5	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+

Cuadro N° 03.- Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) del control positivo Nistatina (Micostatín® suspensión) frente *Candida glabrata* y *Candida albicans*. Ayacucho. 2011.

Leyenda:

No tiene crecimiento: -

Tiene crecimiento : +

Concentración Mínima Inhibitoria: CMI

Concentración Fungicida Mínima: CFM

V. DISCUSIÓN

El cuadro N° 01; presenta los resultados de la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp). Epi. "pacha salvia", encontrándose los siguientes metabolitos: taninos, fenoles, flavonoides, triterpenos, esteroides, quinonas, lactonas y cumarinas, catequinas, azúcares reductores.; los cuales podemos corroborar en el tamizaje fitoquímico realizado por Pérez (2006), quién reportó la presencia de flavonoides, taninos y fenoles, triterpenos y esteroides, lactonas y cumarinas, catequinas , azúcares reductores, todos estos metabolitos presentes en extracto hidroalcohólico y en acuoso.

A cada uno de los metabolitos secundarios se destacan una función específica Evans (1991), refiere que algunos flavonoides poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales; del mismo modo Lock de Ugaz (1994) y Bruneton (2001), indican que los flavonoides tienen una acción farmacológica extensa y variada, donde los flavonoides prenilados y otros fenoles destacan en la actividad antimicrobiana, inhibiendo la síntesis de ADN, ya que estos penetran fácilmente a la membrana celular de los microorganismos, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas, desnaturalizando y actuando como venenos protoplasmáticos.

Miranda (2000), señala que la acción farmacológica es extensa y variada, destacando así la actividad antimicrobiana de flavonoides, triterpenoides, numerosas lactonas sesquiterpénicas y posiblemente cumarinas unidas entre sí forman una molécula compleja que inhibe el crecimiento de las bacterias.

Córdova (2001), define que la acción de los taninos es de ser astringente, pues los taninos se combinan con las proteínas de la piel y de la mucosa formando compuestos insolubles, privando a los microorganismos del medio apropiado para que puedan desarrollarse. Su propiedad de astringencia es utilizada en el uso interno del tratamiento de las vías respiratorias.

El gráfico N°01 muestra los valores promedios de los halos de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia" frente a las cepas de *C. glabrata* y *C. albicans*, indicando así que existe diferencia significativa entre especies y observándose el tamaño del halo de inhibición entre cada cepa de hongo, siendo *C. glabrata* la más sensible ya que presenta un mayor halo de inhibición, con promedio de 18,3 mm de halo, seguido por *C. albicans* con 16,8 mm

Quispe (2004), menciona que el diámetro de los halos de inhibición obtenidos al ser enfrentados la cepa de *Candida albicans* contra los extractos de *Apis mellifera* son mayores en el extracto etanólico con respecto al extracto clorofórmico y estándar de ketoconazol.

Pérez (2006), reportó para *Staphylococcus aureus* un halo de 24 mm de diámetro de inhibición para las hojas y 26 mm para el tallo del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia" y para *Streptococcus pyogenes* de 12 mm y 10 mm respectivamente, lo que significa que *Staphylococcus aureus* es más sensible al extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia".

En el gráfico N° 02, se muestran los resultados del promedio de los halos de inhibición de cada una de las concentraciones del extracto hidroalcohólico frente a *Candida glabrata* y *Candida albicans*, donde el control positivo (Nistatina) presenta un promedio de 22,7 mm de diámetro de inhibición frente a *Candida glabrata* y 21,4 mm de halo de inhibición frente a *Candida albicans* notándose que la Nistatina es el mejor antimicótico frente a estas levaduras seguida del extracto hidroalcohólico de 50mg/mL dando 19,4 mm de diámetro para *C. glabrata* y 18mm para *C. albicans* en comparación con las demás concentraciones, y probando que existe diferencia significativa en las diferentes concentraciones del extracto, ya que el efecto es dependiente a las concentraciones; o sea, a mayor concentración mayor halo de inhibición, esto se demuestra con el análisis de varianza y de Tukey (Anexo 11 y 12).

Palomino J. (2000), señala que la existencia de un halo de inhibición aunque sea pequeña cuando se trabaja con material vegetal, determina cierta actividad antibacteriana del extracto, que puede ser mejorada con el uso de nuevas técnicas de extracción con el propósito de obtener mayor concentración de principios activos y alcanzar mejores resultados.

Para Huamaní y Ruíz (2005), reportan que el extracto etanólico de las hojas de *Piper spp.* (Matico) muestra actividad contra *Candida albicans* con un halo de inhibición de 19 mm.

Alzamora y col. (2001), mencionan que *Candida albicans* resultó muy sensible a los aceites extraídos de *C. citratus* "hierba luisa" y *T. pusilla* "anís serrano" mostrando un halo de inhibición de 21 mm para *C. citratus* y de 20 mm para *T. pusilla* que comparado con el control positivo (Micostatin®) reporta un halo de 27 mm. Observándose que los aceites presentan actividad contra *Candida albicans*.

Estrada (2010), indica que pasado las 24 y 48 horas de incubación se observaron que los extractos de "romero" y "tomillo" presentan actividad

antibacteriana a concentraciones de 10000 y 1000 ug/mL frente a *S. aureus*, *Candida albicans* y *P. aeruginosa* debido a los compuestos fenólicos como el timol, carvacrol y cineol presentes en el aceite esencial por lo que recomienda el uso para afecciones causadas por bacterias y hongos.

Cano (2008), señala que el aceite esencial de "muña" presentó efectos antimicóticos frente a cepas de *Candida albicans* a las concentraciones de 50 % presentando un halo de inhibición de 30 mm y al 100% un halo de 35mm y frente a los dermatofitos: (*Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton tonsurans*) son sensibles también en los volúmenes de 5 y 50 μ L.

El Gráfico Nº 03, nos muestra los valores promedios del porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia" frente a *C. albicans* y *C. glabrata* observándose que *Candida glabrata* presenta 73,3% de inhibición, mientras que *Candida albicans* presenta 72,4 %.

El gráfico Nº 04, nos muestra los valores promedios del porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia" frente a *Candida albicans* y *Candida glabrata* observándose la mayor sensibilidad de *C. glabrata* con respecto a *C. albicans*.

Evidenciando una vez más que a la concentración de 50 mg/mL inhibe mejor a *C. glabrata* con un porcentaje de inhibición de 85.1 % y para *C. albicans* 84.0 %, acercándose al 100 % del control positivo (Nistatina).

En el Cuadro Nº 01, presenta los resultados del estudio de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia". La CMI para *C. glabrata* es de 12,5 mg/mL y su CFM de 25 mg/mL y para *C. albicans* la CMI es 25 mg/mL y su CFM es 50 mg/mL, del mismo modo para el control positivo (Micostatin®) su CMI es 25 ug/mL y su CFM de 50 ug/mL con

respecto a *C. glabrata* y su CMI de 50 ug/mL y CFM de 100 ug/mL para *C. albicans*, observándose que la especie de *C. glabrata* es más sensible que la *C. albicans* y que ambas también lo son frente al extracto.

Huamani y Ruíz (2005), reporta que los extractos de *Hypericum laricifolium* (Chinchango), *Echinus molle* (molle) mostraron actividad contra *C. albicans* ATCC 10231 con un CIM de 250 ug/mL, similar actividad mostró *Juglans neotropica* (nogal) reportando un CMI de 250 ug/mL y *Piper spp.* (Matico) con un CMI de 500ug/mL.

Se concluye que los resultados obtenidos demuestran que el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyerii* "pacha salvia" tiene mejor actividad contra *Candida glabrata* seguida de *Candida albicans*.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia" tiene mejor actividad anti *Candida* contra *Candida glabrata* con un promedio de halo de inhibición de 19,4mm y un 85.1 % de inhibición seguida de *Candida albicans* con 18,0 mm de halo de inhibición y 84.0 % de inhibición.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia", presenta los siguientes metabolitos secundarios: Taninos, fenoles, flavonoides, triterpenos, esteroides, quinonas, lactonas y cumarinas, catequinas y azúcares reductores.
3. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Fungicida Mínima (CFM) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia" frente a *Candida albicans* fueron CMI de 50 mg/mL y para *Candida glabrata* de 25mg/mL y la CFM de 100mg/mL para *C. albicans* y de 50mg/mL para *C. glabrata*.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar bioensayos en animales de experimentación para determinar la toxicidad de los extractos de *Lepechinia meyenii* (Walp).Epl. "pacha salvia".
2. Determinar y cuantificar el principio activo específico, responsable de la actividad anti *Candida*, aislamiento y elucidación de estructuras moleculares de los metabolitos secundarios presentes en la especie.
3. Realizar estudios de formulación de formas farmacéuticas semisólidas de la *Lepechinia meyenii* (Walp).Epl. "pacha salvia", comprobar el efecto terapéutico y comparar la eficacia antifúngica con el del extracto hidroalcohólico.
4. Continuar con los estudios terapéuticos y comprobar otras propiedades farmacológicas atribuidas a ésta especie.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1. Alzamora L., Morales L., Armas L. y Fernández G. 2002.** "Medicina tradicional en Perú: actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas". [Monografía en línea]. UNMSM-Lima. Disponible en URL: http://sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/Anales/v62_n2/pdf/a08v62n2.pdf. [Acceso, 22 de Agosto del 2011].
- 2. Alarcón J., Homero A., Guevara R. 2011.** Manual de prácticas de Microbiología Clínica. UNSCH. Ayacucho. Perú.
- 3. Angulo H. 1997.** La medicina Tradicional en el desarrollo de fitomedicamentos. El enfoque etnofarmacológico. Lima.
- 4. Basto R. 2001.** "Hierbas Medicinales y sus Propiedades Medicinales". [Monografía en línea]. México. Disponible en URL: <http://investigacion.izt.uam.mx/maph/plantas1.pdf>. [Acceso, 20 de Agosto del 2011].
- 5. Braude A. 1984.** Microbiología clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- 6. Bruneton J. 2001.** Elementos de fitoquímica y farmacognosia. Editorial. Acribia S.A. Zaragoza. España.
- 7. Cano C.; Bonilla P., Roque M. y Ruíz J. 2008.** "Actividad antimicótica *in vitro* y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña)". [Monografía en línea]. UNMSM. Lima. Disponible en URL: www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3.pdf. [Acceso, 28 de Agosto del 2011].
- 8. Castillo P. 2004.** "Estudio Químico y de actividad antioxidante" de *Lepechinia meyenii* "salvia". [Monografía en línea]. PUCP. Lima. Disponible en URL: <http://tesis.pucp.edu.pe/tesis/ver/152>. [Acceso, 06 de Agosto del 2011].
- 9. Ccahuana A., Lovón R. y Medina S. 2001.** Efecto antidiarreico de *Lepechinia meyenii* "salvia". XI Congreso Nacional de Estudiantes de Farmacia y Bioquímica. UNSAAC. Perú.
- 10. Córdova M. 2001.** "Plantas medicinales". [Monografía en línea]. México. Disponible en URL: <http://www.cinavarra.com>. [Acceso, 15 de Agosto del 2011].
- 11. Del Pino J. 2008.** Acción antimicrobiana de los metabolitos secundarios de hojas y flores de *Nicotiana paniculata* "tabaco cimarrón", extraídos de las lomas de Lachay. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNMSM. Perú.
- 12. Espinosa C. 2008.** "Candidemias Nosocomiales: Patrones de cambio clínico-Epidemiológicos, Factores pronóstico e influencia del tratamiento antifúngico"

- [Monografía en línea]. España. Disponible en URL: <http://digitum.um.es/xmlui/handle/10201>. [Acceso, 30 de Agosto del 2011].
- 13. Estrada S. 2010.** Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de *Rosmarinus officinalis* "romero" y *Thymus vulgaris* "tomillo". [Monografía en línea]. Ecuador. Disponible en URL: <http://hdl.handle.net/123456789/699>. [Acceso, 05 de Setiembre del 2011].
- 14. Evans C. 1991.** Farmacognosia. Editorial Interamericana S.A. Mexico.
- 15. Goodman A. y Gilman. 1996.** Las Bases Farmacológicas de la terapéutica. 9na. Edic. Editorial Médica Panamericana. México.
- 16. Granados R., Villaverde C. 2007.** "Microbiología" Bacteriología, Medios de Cultivo y Pruebas Bioquímicas. Micología General, Parasitología General. 2da. Edic. Editorial Thomson Paraninfo S.A.
- 17. Huamaní M. y Ruíz Q.** "Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú" [Monografía en línea], Lima, 2005, Disponible en URL: http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/determinacion-actividad-antifungica-candida-albicans-aspergillus-niger-10-plantas-medicinales.html. [Consulta, 10 de Agosto del 2011].
- 18. Instituto Nacional de Salud. 2002.** "Manual de procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana". Boletín Nº 30. Lima. Perú.
- 19. Jawetz, Melnick y Adelberg. 2002.** Micología Médica. 17ava Edic. Editorial El Manual Moderno. México.
- 20. Lock O. 1994.** "Investigación fitoquímica". 1ra. Edición. Fondo Editorial. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.
- 21. Miranda M. y Cuellar A. 2000.** Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad de la Habana. Cuba.
- 22. Montalvo D. 1988.** La Medicina Tradicional en el Perú, contribución a su estudio Primera Edic. CONCYTEC. Lima, Perú.
- 23. Montiel J., Mesa A., Durán C. y Betancur L. 2007.** "Actividad anti-*Candida* y anti-*Aspergillus* de aceites esenciales de *Lippia alba* (Miller) N.E. Brown quimiotipo carvonlimoneno y su asociación con sus componentes mayoritarios", [Monografía en línea], Colombia. Disponible en URL: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=84903364>. [Consulta, 20 de Agosto del 2011].

- 24. Mostacero L., Mejía F. 1993.** Taxonomía de Fanerógamas Peruanas. Concytec. Perú.
- 25. Palacios J. 1997.** Plantas Medicinales Nativas del Perú-II. Libro Editado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima.
- 26. Palomino J. 2000.** Actividad antibacteriana de *Punica granatum* "granado" en cepas de *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, aislados de pacientes con enfermedad diarreica aguda (EDA). Tesis para optar el título de Biólogo. UNSCH. Ayacucho Perú.
- 27. Patrick R., Murray R., Kobayashi G. 2002.** Microbiología Médica. 4ta. Edic. Editorial Elsevier S.A. España.
- 28. Pérez R. 2006** Actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico y acuoso de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia" sobre *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis para optar el título de Biólogo. UNSCH. Ayacucho-Perú.
- 29. Pumarola A., Rodríguez A., García J. y Piédrola G. 1987.** Microbiología y Parasitología Médica. 2da. Edic. Editorial Masson S.A. Barcelona España.
- 30. Quentin N., Russell S. 1991.** Bacteriología y Micología Médicas. 2da. Edic. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. México.
- 31. Quick J. 2002** "Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2002 – 2005", Organización mundial de la Salud Ginebra. Suiza.
- 32. Quispe G. 2004.** Actividad antifúngica del propóleo de *Apis mellifera* sobre cepas de *Candida albicans*. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho.
- 33. Rodríguez J. 2002.** Estudio de la estabilidad de productos fitoterapéuticos, experiencia cubana en este campo. Segundo curso Internacional de Plantas medicinales y Fitoterapia. Lima.
- 34. Romero M. 2006.** Evaluación de plantas medicinales con propiedades antioxidantes en los distritos Ayacucho, Carmen alto y Quinoa de la provincia de Huamanga. Instituto de Investigación en Ciencias Biológicas. UNSCH. Ayacucho.
- 35. Ruiz J. y Roque M.** Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-orientes peruano. [Monografía en línea]. UNMSM. Lima. 2009. Disponible en URL: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n1/pdf/a07v12n1.pdf. [Consulta, 22 de Agosto del 2011].
- 36. Salcedo D. 1993.** La Microbiología Clínica y el Laboratorio Bioquímico. Editorial Samel Graf. Perú.

- 37. Soto M. 2001** Factores de riesgo y prevalencia de candidiasis vaginal en mujeres sexualmente activas. Hospital Regional de Ayacucho. Tesis para optar el título de Bióloga. UNSCH. Ayacucho.
- 38. Tapia C. 2008.** "*Candida glabrata*" Laboratorio de Micología Médica. Programa de Microbiología y Micología, ICBM. [Revista en línea]. Chile. 2008. Disponible en URL: www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716. [Acceso, 06 de Setiembre del 2011].
- 39. Torres J., Morera Y. y López O. 2008.** "*Candida glabrata*: Un patógeno Emergente". Investigación Médica. Instituto Municipal de Asistencia Sanitaria. [Monografía en línea]. Barcelona. Disponible en URL: http://www.seimc.org/control/revi_Mico/pdf/cglabra.pdf. [Acceso, 1 de Agosto del 2011].
- 40. Tovar O. 2001.** Plantas medicinales del valle del Mantaro. Editorial Multicopy. Lima Perú.
- 41. Yuncacallo K. 2005.** Efecto antiespasmódico del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pampa salvia" en el íleon aislado de "cuy". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNSCH. Ayacucho.

ANEXOS

ANEXO 01

Clasificación Taxonómica de *Lepechinia meyerii* (Walp). "pacha salvia"



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. **Linda Elizabeth, URCUHUARANGA BALBÍN**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y clasificada según el Sistema de Clasificación de CRONQUIST. A. (1988), y es como sigue:

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE : ASTERIDAE
ORDEN : LAMIALES
FAMILIA : LAMIACEAE
GENERO : *Lepechinia*
ESPECIE : *Lepechinia meyeri* (Walp). Epi.
Nombre vulgar. : "pacha salvia "

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 10 de Mayo del 2011

ANEXO02

Documento de aceptación de adquisición de cepas de *Candida albicans* y *Candida glabrata* por el INS de Chorrillos. Lima Perú.



PERU

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

Centro Nacional de Salud Pública

"DECRETO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ"

"AÑO DEL CENTENARIO DE MACHU PICCHU PARA EL MUNDO"

Lima, 11 de Julio del 2011

OFICINA 342 -2011-DG-CNSP/INS

Doctor
ELIZER ALCIDES AVALOS PEREZ
Decano
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Ayacucho.-

Referencia : Solicitud sin del 13/05/11
Resolución Decanal N° 193-2010-FCB-D
Registro N° 14485-11

Es grato dirigirme a usted en atención al documento en referencia para manifestarle que el Laboratorio de Micrología del Centro Nacional de Salud Pública del Instituto Nacional de Salud se encuentra en capacidad de proporcionar las cepas que a continuación se detallan

- *Candida albicans*, código 040487211
- *Candida glabrata*, código 040685211

Asimismo, se le menciona que en todos los casos el material de cepas, es de acuerdo a Nivel de Biologandad Tipo II.

Sin otro particular, hago propicia la ocasión para expresar los sentimientos de mi consideración y estima.

Atentamente,

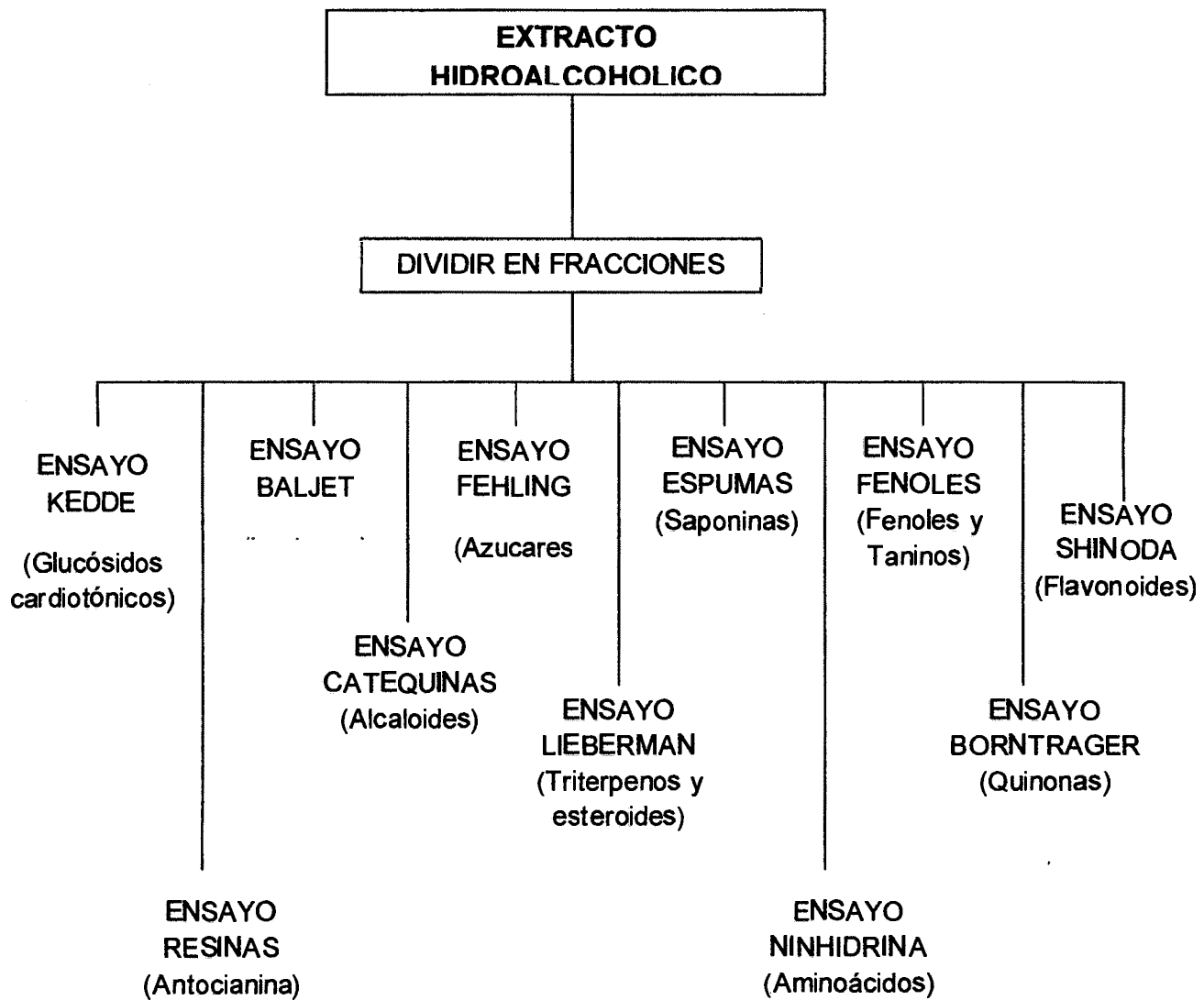


[Handwritten Signature]
Pedro Andrés Vázquez
Decano del Centro de Salud Pública

PVV/MJ/2011

ANEXO03

Esquema de reacciones para el Tamizaje Fitoquímico del Extracto Hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (Walp). Epi. "pacha salvia".



Fuente: Miranda (2000).

ANEXO 04



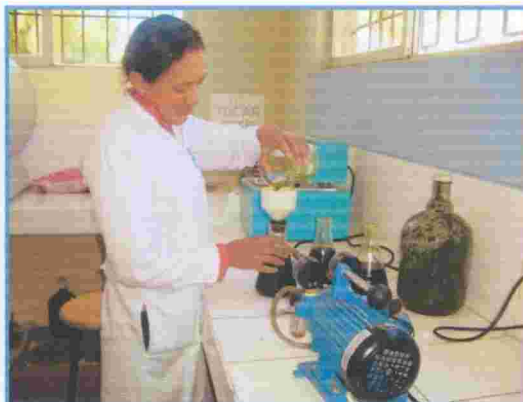
FOTOGRAFÍA N°01: Planta de *Lepechinia meyenii* Walp. Epl. "pacha salvia"

ANEXO 05

Proceso de obtención e identificación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp). Epi. "pacha salvia".



Fotografía N°02: Secado de las las hojas de *L. meyenii*.



Fotografía N° 03: Filtración del extracto de *Lepechinia meyenii* "pacha salvia".



Fotografía N°04: Extracto de *Lepechinia Meyenii*



Fotografía N°05: Identificación de los metabolitos secundarios

ANEXO 06

Determinación de la actividad anti *Candida*



Fotografía N°06: Materiales de laboratorio estériles



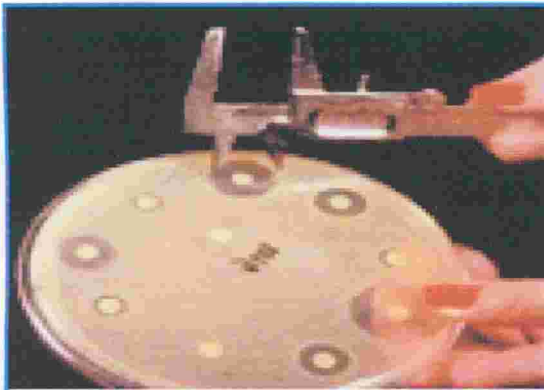
Fotografía N° 07: placas petri con Agar Sabouraud



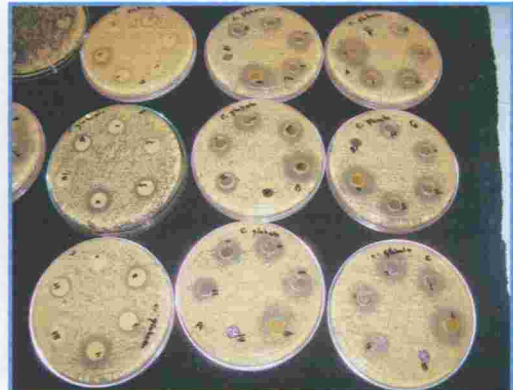
Fotografía N°08: Sembrando Candidas



Fotografía N° 09: Halos de *Candida glabrata* y *Candida albicans*



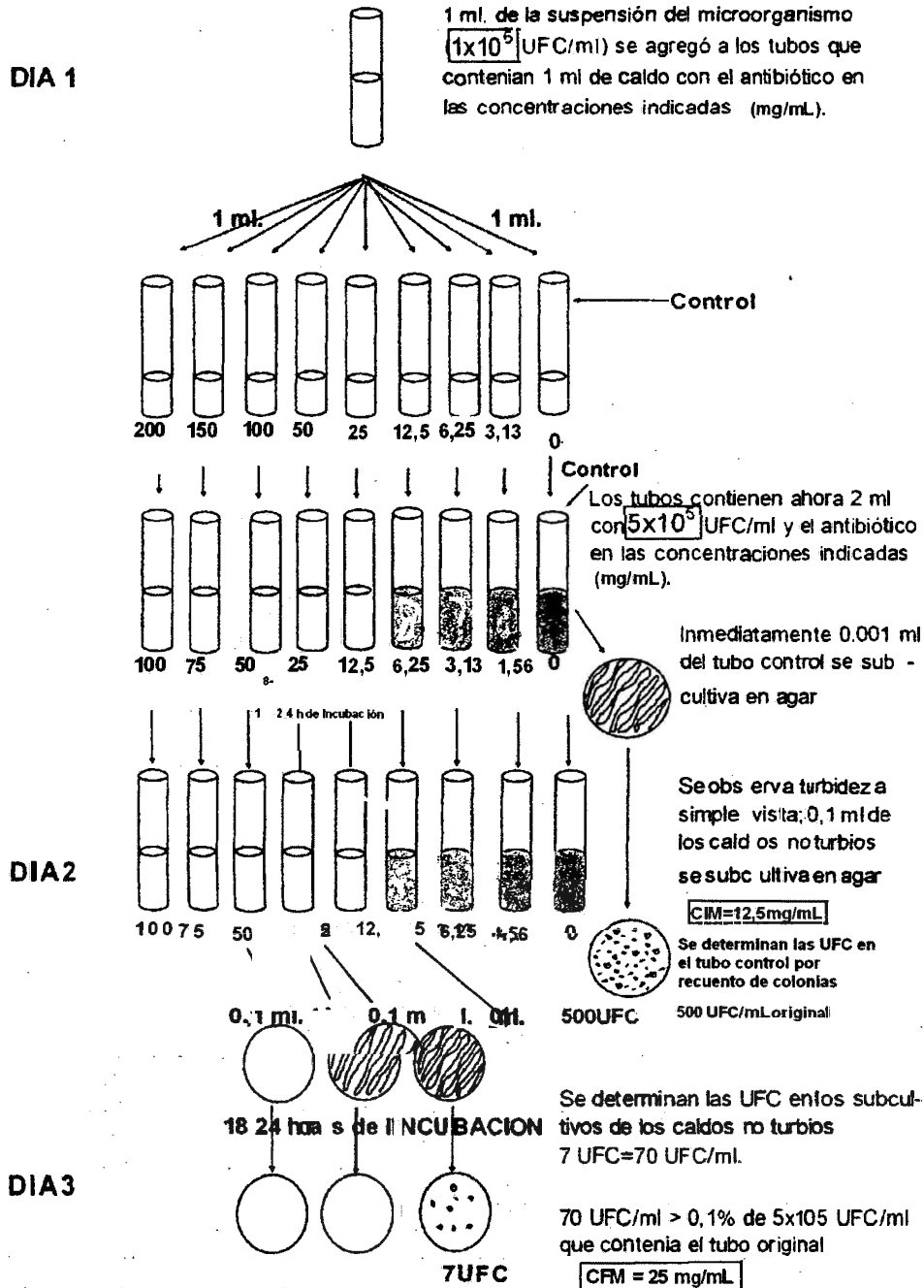
Fotografía nº 10: Lectura del halo de inhibición.



Fotografía N°11: Halos de de Inhibición.

ANEXO07

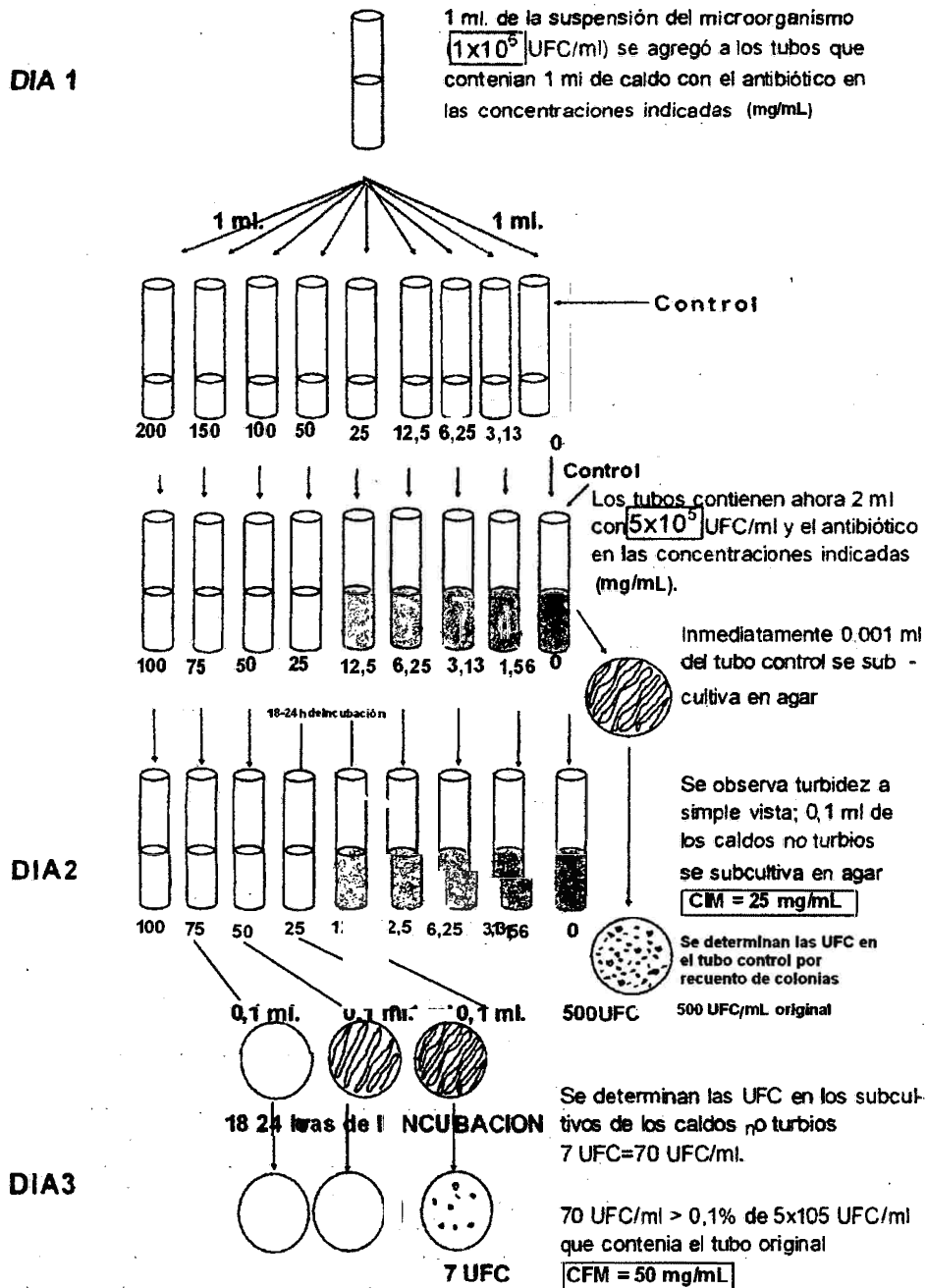
Determinación de la CMI y CFM para *Candida glabrata*



Esquema del procedimiento de la determinación de la CMI y CFM

ANEXO08

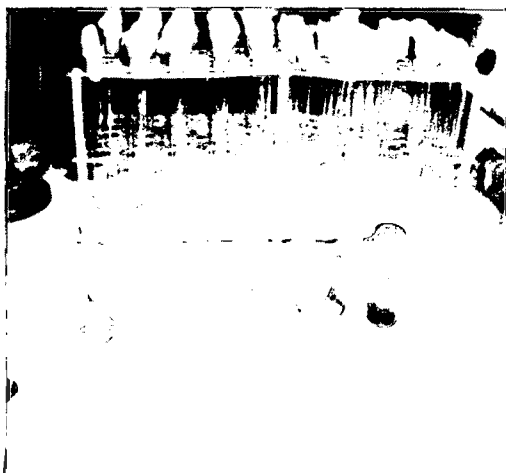
Determinación de la CMI y CFM para *Candida albicans*



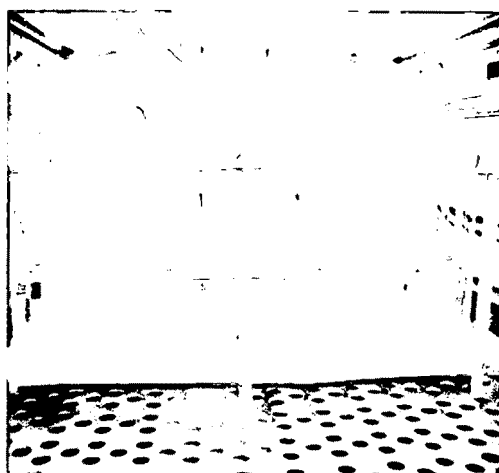
Esquema del procedimiento de la determinación de la CIM y CFM

ANEXO 09

Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Fungicida Mínima.



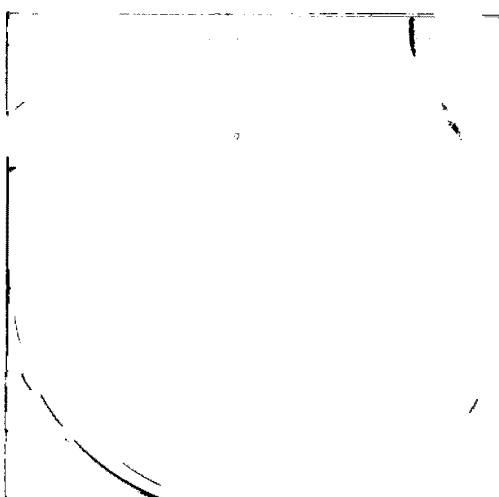
Fotografía N°12: Diluciones de las concentraciones del extracto.



Fotografía N°13: Batería de tubos con el inóculo y los extractos.



Fotografía N°14: Tubos con caldo turbio que indica crecimiento



Fotografía N°15: Placa limpia sin crecimiento de colonias.

ANEXO 10

Estadísticos descriptivos del halo de inhibición como actividad anti-*Candida* de tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia". Ayacucho-2011.

1. Tratamiento

Variable dependiente: Zona/halo de inhibición (mm)

Tratamiento mg/mL	Media	Error típ. Límite superior	Intervalo de confianza al 95%.	
			Límite inferior	Límite superior
12,5	12.179	.232	11.721	12.636
25	14.768	.232	14.311	15.225
50	17.196	.232	16.739	17.654
Nistatina	20.179	.232	19.721	20.636
Blanco	10.000	.232	9.543	10.457

2. Especie * Tratamiento

Variable dependiente: Zona/halo de inhibición (mm)

Especie	Tratamiento mg/mL	Media	Error típ.	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
<i>Candida glabrata</i>	12,5	12.607	.328	11.961	13.254
	25	15.071	.328	14.425	15.718
	50	17.429	.328	16.782	18.075
	Nistatina	20.714	.328	20.068	21.361
	Blanco	10.000	.328	9.354	10.646
<i>Candida albicans</i>	12,5	11.750	.328	11.104	12.396
	25	14.464	.328	13.818	15.111
	50	16.964	.328	16.318	17.611
	Nistatina	19.643	.328	18.996	20.289
	Blanco	10.000	.328	9.354	10.646

ANEXO 11

Análisis de varianza para el halo de inhibición por efecto del extracto hidroalcohólico en tres concentraciones de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. "pacha salvia" frente a *Candida glabrata* y *Candida albicans*. Ayacucho 2011.

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Zona/halo de inhibición (mm)

Fuente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	3760.757(a)	10	376.076	124.574	0.000
Intersección	61865.157	1	61865.157	20492.575	0.000
Hora de lectura	110.629	1	110.629	36.645	0.000
Especie	25.200	1	25.200	8.347	0.004
Tratamiento	3615.593	4	903.898	299.413	0.000
Especie* Tratamiento	9.336	4	2.334	0.773	0.544
Error	812.086	269	3.019		
Total	66438.000	280			
Total corregida	4572.843	279			

a R cuadrado= 0.822 (R cuadrado corregida =0.816)

El término error es la Media cuadrática (Error)= 3.019.

ANEXO 12

Comparación de medias mediante Tukey para la prueba del halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epi. “pacha salvia”, el blanco y el control positivo (Nistatina) frente a *Candida glabrata* y *Candida albicans*. Ayacucho 2011.

DHSdeTukey

Zona/halo de inhibición (mm)

Tratamiento	N	Subconjunto				
	1	2	3	4	5	1
Blanco	56	10.0000				
12,5 mg/mL	56		12.1786			
25 mg/mL	56			14.7679		
50 mg/mL	56				17.1964	
Nistatina	56					20.1786
Significación		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos.

Basado en la suma de cuadrados tipo III

a Usa el tamaño muestral de la media armónica= 56.000

b Alfa =0.05.

ANEXO 13

Diámetro de los halos de inhibición en (mm) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp), Epi. "pacha salvia" frente a *Candida glabrata* y *Candida albicans*. Ayacucho 2011.

24HORAS										
<i>Candida glabrata</i>	POZOS		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	PROMEDIO
		ESTANDAR	23	24	23	24	23	22	23	23.143
BLANCO	10	10	10	10	10	10	10	10.000		
T1	14	15	14	15	14	15	15	14.571		
T2	19	18	17	19	19	17	17	18.000		
T3	21	20	20	20	21	21	21	20.571		
<i>Candida albicans</i>	POZOS	ESTANDAR	22	21	23	23	22	23	21	22.143
		BLANCO	10	10	10	10	10	10	10	10.000
		T1	14	13	13	13	14	13	12	13.143
		T2	17	18	17	18	16	18	19	17.571
		T3	21	19	21	20	21	20	20	20.286

Leyenda:

Estándar: Nistatina suspensión

Blanco: Agua destilada

T1: 12, 5 mg/mL

T2: 25 mg/mL

T3: 50 mg/mL

ANEXO 14

Datos del porcentajes de inhibición (%) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp). Epi. "pacha salvia" frente a cepas de *Candida glabrata* y *Candida albicans*. Ayacucho 2011.

24HORAS										
		TRATAM.	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	PROMEDIO
<i>Candida glabrata</i>	POZOS	T1	60.494	64.815	60.494	64.815	60.494	64.815	64.815	62.963
		T2	82.099	77.778	73.457	82.099	82.099	73.457	73.457	77.778
		T3	90.741	86.420	86.420	86.420	90.741	90.741	90.741	88.889
<i>Candida albicans</i>	POZOS	T1	63.226	58.710	58.710	58.710	63.226	58.710	54.194	59.355
		T2	76.774	81.290	76.774	81.290	72.258	81.290	85.806	79.355
		T3	94.839	85.806	94.839	90.323	94.839	90.323	90.323	91.613

Leyenda:

Estándar: Nistatina suspensión

Blanco: Agua destilada

T1: 12, 5 mg/mL

T2: 25 mg/mL

T3: 50 mg/mL

TITULO: Actividad anti-Candida del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Walp) Epl. "pacha salvia".

Ayacucho-2011.

AUTOR: Urcuhuaranga Balbín, Linda Elizabeth

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPOTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
Actividad anti-Candida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl. "Pacha salvia". Ayacucho-2011.	¿Tendrá actividad anti-Candida el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl. "pacha salvia"?	Objetivo General: Determinar la actividad anti-Candida del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl. "pacha salvia". Objetivos Específicos: Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (C.M.I) del extracto frente a cepas de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i> . Determinar la Concentración Fúngica Mínima (CFM), del extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> "pacha salvia". Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico "pacha salvia".	<i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl. Es una planta herbácea perenne que tiene tallos cuadrangulares con hojas opuestas, ovadas, rugosas de un color verde, flores hermafroditas pentámeras; fruto tetraqueno. (Mostacero, 1993). Pacha salvia es utilizada para el dolor de estómago y trastornos digestivos, como bactericida: contra infecciones bucales y respiratorias, tos, infecciones del tracto urinario, como cicatrizante, para úlceras, también como anti fúngico y emenagogo ya que rebaja los dolores de la menstruación (Basto, 2001; Pérez, 2006; Romero, 2006). Y todas estas afecciones solo empleando las hojas o la planta sin raíz en infusión. (Montalvo, 1988). La actividad anti <i>Candida</i> ha sido atribuida a los metabolitos presentes tales como terpenos (aceites esenciales), taninos y flavonoides. <i>Candida albicans</i> es una levadura que crece habitualmente sobre las mucosas de la boca, gastrointestinal y genitourinario. Como parte de la flora normal prolifera como una levadura por brotes, las hifas solo se reproducen durante la invasión tisular. Las infecciones son el resultado de un sobre crecimiento oportunista cuando se suprime la microflora competitiva con antibióticos o por factores predisponentes y desencadenantes como: anatómicos (Edad, vagina húmeda) y fisiológicos (embarazo, alteraciones endocrinas, farmacológicos, Hábitos, SIDA). (Jawetz y col., 2002). <i>C. glabrata</i> Levadura de la cavidad oral, vaginal, manos. La colonización por estas levaduras se incrementa con la prolongación de la hospitalización y el deterioro clínico del enfermo. (Tapia, 2008) ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA CMI: Es la concentración más baja de extracto o del compuesto que es capaz de inhibir cualquier crecimiento visible.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp). Epl. "pacha salvia" tiene actividad anti <i>Candida</i> .	VARIABLE INDEPENDIENTE: E: Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (Walp). Epl. "pacha salvia" Indicadores: Concentración: 12,5 mg/mL, 25 mg/mL y 50mg/mL. VARIABLE DEPENDIENTE: Actividad anti <i>Candida</i> Indicador: Medida del diámetro de halo de inhibición (mm).	POBLACIÓN: Planta de <i>Lepechinia meyenii</i> "pacha salvia", recolectados del Centro Poblado de Huancabamba, distrito de Andahuaylas, provincia de Andahuaylas, región de Apurímac. MUESTRA: 1 Kg de hojas secas de la especie <i>Lepechinia meyenii</i> "pacha salvia" METODOLOGIA: -Se preparó el extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> y se identificó los metabolitos secundarios mediante el tamizaje fitoquímico. Se evaluó la actividad anti <i>Candida</i> por la técnica de Difusión en Agar (placa excavada) y para la CMI y CFM por el método de Dilución en Agar. (INS, 2002). Se preparó las diferentes concentraciones a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> "pacha salvia" de 12,5mg/mL, 25mg/mL y 50mg/mL para determinar la actividad anti <i>Candida</i> y para determinar la CMI y la CFM se realizaron diluciones de las concentraciones. El diseño experimental se divide en 5 grupos experimentales, usando como control la Nistatina.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
R. D.N° 314 – 2011 – FCB – D
Bach. LINDA ELIZABETH URCUHUARANGA BALBÍN

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro de la tarde del día viernes catorce de octubre del año dos mil once, en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, bajo la presidencia del Dr. Víctor Alegría Valeriano, en la condición de Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas y con la asistencia de los docentes miembros Magister José Manuel Diez Macavilca; Magister Serapio Romero Gavilán y el Magister Enrique Javier Aguilar Felices, quién actuó como Secretario Docente, para recepcionar la tesis titulada: *Actividad anti Candida del extracto hidroalcohólico de las hojas de Lepechinia meyenii (Walp). Epi. "pacha salvia". Ayacucho. 2011.* presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Linda Elizabeth Urcuhuaranga Balbín, quién pretende optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

El Decano apertura el acto de sustentación, dando ciertos alcances a la sustentante en aspectos relacionados al acto de sustentación de la tesis en un tiempo no mayor de cuarenta y cinco minutos.

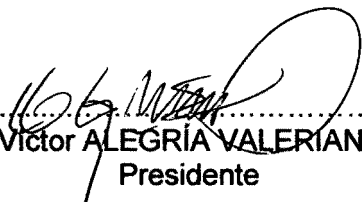
Luego el Decano inicia la segunda etapa del Acto de sustentación en la cual los miembros jurados realizan las preguntas y/o observaciones que crean conveniente.

Culminando la etapa de evaluación por parte de los miembros jurados, el Decano invitó a la sustentante y al público asistente a abandonar el Auditorio momentáneamente para que los miembros del Jurado Calificador puedan deliberar y realizar las calificaciones correspondientes siendo la siguiente:

JURADO CALIFICADOR	Exposición Rpta. a preguntas		Promedio
Mg. Serapio Romero Gavilán	17	16	16.5
Mg. José Manuel DIEZ MACAVILCA	18	18	18
Mg. Enrique Javier AGUILAR FELICES	17	17	17

PROMEDIO FINAL: 17

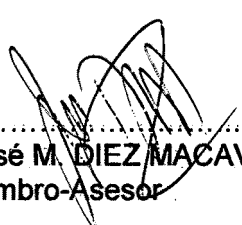
De la evaluación correspondiente, la sustentante obtuvo la calificación promedio de **DIECISIETE (17)** de lo cual dan Fe los miembros estampando su firma al pie de la presente.



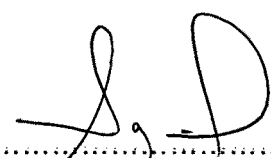
.....
Dr. Víctor ALEGRIA VALERIANO
Presidente



.....
Mg. Serapio ROMERO GAVILÁN
Miembro



.....
Mg. José M. DIEZ MACAVILCA
Miembro-Asesor



.....
Mg. Enrique J. AGUILAR FELICES
Miembro – Secretario encargado