

Universidad de Valparaíso
Facultad de Medicina
Escuela de Obstetricia y Puericultura
Casa central

Efectos de Extractos Naturales obtenidos del Ajo, Matico y Tomillo sobre el Crecimiento de *Candida albicans* comparada con la utilización del Fármaco Fluconazol como estándar de tratamiento, en pruebas de laboratorio durante el año 2014.

Tesis para obtener el Grado de Licenciado/a en Obstetricia y Puericultura

Profesor guía: Villena García, Joan.

Tesistas:

- Hinojosa Farías, María José
- Ñanculef Flores, Silvia
- Pajarito Miranda, Daniela
- Palma Sánchez, Valentina
- Torres Palma, Vanessa

Valparaíso, 2014

Efectos de Extractos Naturales obtenidos del Ajo, Matico y Tomillo sobre el Crecimiento de *Candida albicans* comparada con la utilización del Fármaco Fluconazol como estándar de tratamiento, en pruebas de laboratorio durante el año 2014.

J. Villena¹ M. Hinojosa Farías², S. Ñanculef Flores², D. Pajarito Miranda², V Palma Sánchez², V Torres Palma²

1 Licenciado en Ciencias Biológicas, Universidad autónoma de Barcelona, España. Doctor en Ciencias Biológicas Mención Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Autónoma de Barcelona, España.

2 Estudiantes Cuarto Nivel Obstetricia Y Puericultura, Universidad Valparaíso, Valparaíso.

DEDICATORIA

A nuestras familias, quienes nos han entregado su apoyo incondicionalmente durante este arduo camino y nos han apoyado en cada una de las decisiones que hemos tomado para ser lo que somos hoy en día.

Al profesor Joan Villena por guiarnos y compartir sus conocimientos, por la paciencia y simpatía entregada haciendo mucho más ameno y entretenido este proceso.

A David Astudillo, gracias por su tiempo y disposición, así como también, su apoyo y alegría que nos transmitió.

A nosotras mismas, que gracias a nuestros esfuerzos y al equipo que formamos hemos logrado terminar este camino, uno de tantos para lograr cumplir nuestras metas.

A nuestra Amistad, una de las grandes cosas que hemos construido y que aun mantenemos.

CONTENIDOS

<i>Indice de imágenes</i>	6
<i>I. RESUMEN</i>	9
<i>II.INTRODUCCION</i>	10
<i>III. MATERIALES Y METODO:</i>	15
Método:	15
Universo.....	15
Mecanismo de determinación de universo.....	15
Muestra	16
Mecanismo de determinación de muestra	16
Fuentes de información	17
Protocolos experimentales	17
Materiales:	24
Equipos.....	25
Reactivos	25
Medios de cultivo	25
Recolección de datos:.....	25
<i>IV RESULTADOS</i>	26
<i>V DISCUSIÓN</i>	42
<i>VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:</i>	47
<i>IX. ABREVIATURAS</i>	59
<i>X. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS</i>	60
<i>XII.OBJETIVO GENERAL</i>	83
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	83

Objetivo 1: Demostrar actividad antifúngica de extractos naturales chilenos sobre <i>Candida albicans</i>	84
Objetivo 2: Corroborar la efectividad del tratamiento estándar con fluconazol sobre <i>Candida albicans</i>	85
Objetivo 3: Comparar los efectos de extractos naturales de plantas con el tratamiento estándar Fluconazol.....	87
Objetivo 4: Determinar la eficacia fungicida de la combinación de extractos de tomillo y matico versus el uso de fluconazol.	90
<i>XIV. Hipótesis de investigación:</i>	92

Indice de imágenes

1) Tomillo, matico, ajo	15
2) Tubos para microcentrifuga y obtención de disolvente.....	16
3) Disolución del extracto en vortex y baños con ultrasonido elmasonic..17	
4) Tubos para microcentrifuga con extracto listo para utilizar	18
5) Ejecución de los boquetes con sacabocado	19
6) Ejecución de placas con micropocillos	20
7) Placa de petri con técnica de sacabocado.....	24
8) Micropocillos con técnica de inclusión	24

Ensayos Tomillo

9) Micropocillos con volumen entre 50 y 13 ul.....	24
10)Ensayo A 29/09/2014.....	25
11)Ensayo B 29/09/2014.....	25
12)Ensayo 07710/2014.....	25
13)Ensayo A 13/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	26
14)Ensayo B 13/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	26
15)Ensayo A 15/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	27
16)Ensayo B 15/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	27

Ensayos Ajo

17)Ensayo 26/05/2014	28
18)Ensayo 23/06/2014	28
19)Ensayo 25/08/2014	28
20)Ensayo 22/09/2014.....	29
21)Ensayo 29/09/2014	29
22)Ensayo A 07/10/2014.....	29
23)Ensayo B 07/10/2014.....	29
24)Ensayo A 09/10/2014.....	30
25)Ensayo B 09/10/2014.....	30

<u>Ensayo Matico</u>	
26)Ensayo 19/05/2014.....	31
27)Ensayo 02/06/2014.....	32
28)Ensayo 01/07/2014.....	32
29)Ensayo 15/07/2014.....	32
30)Ensayo 18/08/2014.....	33
31)Ensayo 25/08/2014.....	33
<u>Ensayo Mezcla Tomillo - Matico</u>	
32)Ensayo 10/11/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	34
33)Ensayo 10/11/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha).....	35
<u>Ensayo Mezcla Matico - Tomillo</u>	
34)Ensayo matico 10/11/2014. 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)...	36
35)Ensayo matico 10/11/2014. 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)...	37
<u>Ensayo Fluconazol</u>	
36)Ensayo fluconazol 15/10/2014 Resultados a las 48.....	38
37)Ensayo fluconazol 15/10/2014 Resultado a 1 semana.....	38
38)Ensayo 03/11/2014 Resultado a las 48 Horas	39
39)Ensayo 03/11/2014 Resultado a 1 Semana.....	39

Índice figuras

1) <i>Figura 1:</i> Placa finalizada	21
2) <i>Figura 2:</i> Rotulado de placa.....	23

Índice de Tablas

Tablas resultados Tomillo

- a) Tabla 1. Volumen entre 82 y 62 μl ,..... 27
b) Tabla 2. Volumen entre 76 y 40 μl ,..... 29

Tablas resultados Ajo

- c) Tabla 3. Volumen entre 150 y 100 μl 32
d) Tabla 4. Volumen entre 150 y 130 μl 32

Tablas resultados Matico

- e) Tabla 5. Volumen entre 200 y 100 μl ,..... 34
f) Tabla 6. Volumen entre 180 y 140 μl 35
g) Tabla 7. Volumen entre 190 y 140 μl 35
h) Tabla 8. Volumen entre 190 y 140 μl 36

Tablas resultados Mezcla Tomillo - Matico

- i) Tabla 9. Volumen tomillo 60 μl (1.5 mg/ μl)
y control 230 μl (5.75 mg/ μl)..... 37
j) Tabla 10. Volumen tomillo 60 μl (1.5 mg/ μl)
y control 250 μl (6.25 mg/ μl)..... 37
k) Tabla 11. Volumen tomillo 60 μl (1.5 mg/ μl)
y control 220 μl (5.50 mg/ μl)..... 38

Tablas resultados Mezcla Matico - Tomillo

- l) Tabla 12. Volumen matico 190 μl (4,75 mg/ μl)
y control 250 μl (6,25 mg/ μl)..... 39
m) Tabla 13. Volumen matico 170 μl (4,25 mg/ μl) y control 230 μl (5,75 mg/
 μl)..... 39

Tablas resultados Fluconazol

- n) Tabla 14. Volumen entre 80 y 10 μl).....40
o) Tabla 15. Volumen entre 40 y 2 μl)..... 41

I. RESUMEN

La candidiasis es una infección producida en su mayoría por la cepa de *Candida albicans*, la cual tiene una alta incidencia en la población femenina. El tratamiento estándar de esta patología es el fluconazol, antifúngico que si bien tiene una alta sensibilidad por el género *Candida*, ha aumentado su resistencia en diversas especies de esta misma. Es por esto que se decidió volcar la mirada a la medicina natural, estudiando las propiedades antifúngicas de ajo, matico y tomillo, especies con algunos ensayos previos sobre su capacidad antifúngica.

Para poder corroborar el efecto de estas especies y poder compararlo con la acción del fluconazol, se utilizaron extractos de estas plantas, los que fueron homogeneizados con el agar a utilizar (Agar Sabouraud Cloranfenicol) en placas de micropocillo, en distintas concentraciones. Luego de esto se sembró en dichas placas cepas de *Candida albicans*, evaluando el crecimiento y por lo tanto la acción fungistática de estos a las 48 horas, y a la semana para comprobar acción fungicida.

Finalmente y luego de realizados los ensayos, se obtuvieron resultados distintos a los planteados, ya que sólo con el extracto de tomillo se pudo corroborar actividad fungistática preliminarmente.

Key words: *Candida albicans*, fluconazol, extractos naturales, matico, ajo, tomillo.

II.INTRODUCCION

El uso de los recursos naturales para efecto medicinal, se remonta a siglos pasados, de los cuales muchos han pasado de generación en generación. De esta forma el uso de los primeros extractos naturales en la medicina al pasar de los años, en conjunto con estudios y ayuda de tecnología, han permitido que el hombre compruebe la eficacia de ciertas plantas, cuyos componentes, tienen fuerte potencial para curar afecciones de salud en las personas y que han sido validados por los entes de mayor importancia en salud a nivel nacional y mundial.

Múltiples afecciones relacionadas con obstetricia encuentran en la naturaleza un aliado a la hora de combatirlas, después de la búsqueda y recomendación por parte del profesor guía y de acuerdo a los materiales con que se cuenta para iniciar este proyecto, un tema de interés general al que no se le ha dado gran importancia en la población, ni en los estudios, es la infección vaginal por *Candida albicans*.

En las últimas décadas se ha observado un aumento notable de las infecciones causadas por hongos en todo el mundo; además del incremento de la resistencia farmacológica que han mostrado varias especies a los diferentes antimicóticos que se utilizan en la práctica médica. Esta situación ha llevado a la búsqueda de nuevos antifúngicos. Sin duda el reino vegetal, tiene una gran variedad de sustancias potencialmente útiles para que estas puedan convertirse en alternativa para el desarrollo y la formulación de nuevos fármacos, muchas veces con menores efectos secundarios y mayor espectro de acción.

Dentro de estas infecciones causadas por hongos, se encuentra la Candidiasis, una infección producida generalmente por la Cepa *Candida albicans*. Estos agentes son cosmopolitas (comunes) y forman parte de la microbiota del hombre y animales, colonizando mucosas del tracto intestinal (50 a 70%), boca (30 a 50%), vaginal (5 a 30%) y piel (4 a 7%)¹ pero también pueden producir una infección

sistémica, tromboflebitis, endocarditis, infección ocular y la infección vaginal más común dentro de las consultas primarias; la candidiasis vaginal, es una infección endógena del tracto genital inferior femenino pues la *Candida* pertenece a la flora (no patógena) vaginal que en ciertas circunstancias produce esta patología (agente oportunista), que en las mujeres provoca gran malestar, por su sintomatología típica como lo es prurito y ardor vulvar¹ vulvodinea, sensación de quemadura, dispareunia y síntomas urinarios: Disuria, polaquiuria y tenesmo². Flujo variable con aspecto de leche cortada blanco grisáceo con o sin flóculos¹, eritema vulvar, eritema vaginal, test de aminas negativo y pH vaginal 4.4 +- 0.7. También se acompañan lesiones descamativas, exulceraciones y úlceras (secundarias a rascado) y rara vez lesiones costrosas², despulimiento de la mucosa, edema, o congestión intensa³.

La candidiasis vaginal es un problema en el mundo, afecta a todos por igual, sin importar estrato social, edad o cultura, pero se conocen como factores predisponentes para presentarla, el embarazo, anticonceptivos orales, diabetes no controlada², uso de antimicrobianos de amplio espectro como tetraciclina, ampicilina, cefalosporinas que eliminan flora proteccionista sobre todo *Lactobacillus*³, inmunodepresión, terapia de reemplazo hormonal, estrés, corticoterapia, citostáticos, obesidad, VIH positivo⁴; otros factores son: :Uso de pantalones ajustados, duchas vaginales y ropa interior de nylon (fibra sintética)^{4:17}. Se menciona, también, el clima tropical, subtropical, dietas ricas en carbohidratos y frutas que condicionan a la candidiasis asintomática⁴, edades extremas de la vida, hiper o hipoparatiroidismo³, uso de espermicidas, edad joven(15 a 19 años), nuliparidad y fase luteal del ciclo menstrual³.

Las cifras que se manejan en torno a esta infección, son estimadas, un 75% de las mujeres experimentan al menos un episodio de VVC durante su vida y un 40%-45% experimentarán dos o más episodios. En un pequeño porcentaje de mujeres (probablemente <5%) este cuadro es recurrente. Además, según el DEIS, y las

Normas de Manejo y Tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual, el año 2006 se notificaron 1997 casos de ITS, representando del total un 0.7% los casos en hombres de infección candidiasica y 6.1% en mujeres. De los casos de candidiasis notificados (134 en total), 14 son hombres (10.4%) y 120 son mujeres (89.5%).

Si bien el tratamiento contra la Cepa de *Candida albicans*, tiene efecto antifúngico, existen evidencias de extractos naturales que tienen similar o incluso más efectividad que este tratamiento estándar, cuyo nombre es fluconazol.

Por ello es que se ha intentado determinar y comprobar mediante un estudio de tipo experimental el efecto de extractos naturales obtenidos del ajo, matico y tomillo sobre el crecimiento de *Candida albicans* comparada con la utilización del fármaco fluconazol como estándar de tratamiento de esta patología, en pruebas de laboratorio durante el año 2014.

Como se ha mencionado el fármaco fluconazol se utiliza de forma estándar para tratar la Candidiasis siendo descrito en las Normas de Manejo y tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual (Minsal 2008) y lo que recomienda UNACESS es: “debe contar con un arsenal farmacológico propio para el manejo de patologías específicas”. Dentro de éstas se encuentra el Fluconazol, que se puede administrar de la siguiente manera:

- Tratamiento Candidiasis Genital: Fluconazol 150 mg. Oral Dosis única
- Candidiasis recurrente: Fluconazol 150 mg. Oral 3 días seguidos
- Tratamiento de mantención: Fluconazol 150 mg. Oral 1 vez por semana, 6 meses”⁵.

Por su parte la acción antifúngica de ajo, tomillo y matico, que de acuerdo a resultados entregados por diversos estudios, tienen un posible efecto antimicótico. Su selección fue de acuerdo a su disponibilidad y la presencia de estos en los hogares de las personas.

El ajo es una planta que ya se conocía y cuyo cultivo se inicia en tiempos remotos, muchas han sido las generaciones que lo han utilizado. Independiente de sus otras acciones terapéuticas, a la par de las culinarias, hoy en día se le atribuye propiedades especialmente antifúngica. Estas propiedades han sido objeto de diversos estudios, los cuales han logrado determinar que ciertas sustancias de su composición, son las que poseen este valor medicinal⁶. Se conoció la existencia de la alicina, el ajoeno, los tiosulfatos, vitaminas A, B1, B2, C y una gama de compuestos organosulfurados como componentes esenciales. Esta compleja composición hace que el bulbo (cabeza) del ajo ejerza una variada acción en el organismo. Sin embargo, el ajoeno, un producto de gran estabilidad, que se origina de la ruptura y la reparación no enzimática de la alicina, que es el compuesto que le da el olor característico al ajo^{7; 8}, son los que tienen mayor efecto antifúngico.

Otro de los extractos a utilizar es el matico (*Buddleja globosa*) el cual dentro de su composición presenta iroides que se comportan como antibacterianos, fenilpropanoides: bactericidas, angrósido y activo contra *Staphylococcus aureus*. Recientes investigaciones indican que extractos de raíces de *Buddleja globosa* tienen efectos inhibitorios sobre algunas enzimas implicadas en el proceso inflamatorio. Algunos ensayos *in vitro* demostraron actividad antibacteriana contra gérmenes Gram (+) y (-)⁹.

Respecto a la actividad antiviral, el extracto acuoso del matico demostró *in vitro* inhibir la replicación del virus de la estomatitis vesicular y demostró actividad sobre la replicación del poliovirus⁹.

Debido a la habilidad detergente de algunos de sus compuestos que remueven la grasa, barro y bacterias del tejido, la *Buddleja globosa* actúa como antibacteriano^{10; 11}.

El extracto clorofórmico de la corteza del tallo de *Buddleja globosa* a la concentración de 250 µg/mL, inhibió el crecimiento de tres dermatofitos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigitale* y *Epidermophyton floccosum*.

Por último y no sin igual importancia fue escogido el tomillo (*Thymus vulgaris* L) que es una planta cultivada oriunda de la región mediterránea occidental en especial del sur de Italia. Prefiere climas cálidos, suelos ligeros, ricos, calcáreos y fértiles. En medicina popular la infusión de las partes aéreas de esta planta se emplea para tratar malestares digestivos (cólicos, diarrea, dispepsia, flatulencia, parásitos, vómitos), respiratorios (amigdalitis, laringitis, bronquitis, catarro, tos, resfrío); por vía tópica una infusión más concentrada se utiliza para lavar heridas y ayudar a su cicatrización, tratar eczemas, psoriasis, hacer enjuagues contra la gingivitis, el mal aliento, y en forma de compresas para calmar dolores reumáticos¹².

A lo largo del tiempo se han realizado variados estudios sobre otras propiedades que podría presentar el *Thymus vulgaris* L, como fungicida. Los estudios de actividad antifúngica del aceite esencial (AE) de *T. vulgaris* y *C. citratus*, y sus componentes mayoritarios, timol y citral, muestran que todos son activos contra *C. acutatum* bajo condiciones *in vitro*. La actividad observada puede ser atribuida a daños letales sobre la célula fúngica, ya que se alteran la capacidad reproductiva y germinativa; sin embargo, no se cuenta con la información adecuada que posibilite determinar el sitio o sistemas biológicos afectados por estos compuestos¹³.

Luego de una extensa investigación en donde se encontraron razones de gran peso para que el profesional matrona/matrón se inserte en el área de investigación, para poder mejorar la calidad de vida de las usuarias y poder ofrecerle, en el caso de obtener resultados positivos, diversidad de tratamientos.

III. MATERIALES Y METODO:

Método:

El tipo de estudio de investigación fue experimental, de diseño ensayo clínico. Dicha elección, se basa a que durante la investigación se manipularon el tratamiento médico y los alternativos para observar los efectos que provocaron en las variables de estudio, para determinar el aumento o la disminución en el crecimiento de *Candida albicans*, de ese modo obtener la confirmación de la hipótesis de investigación.

Universo

Se utilizaron cepas estándar de la American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, EE.UU., y ceremic (CCC), el Centro de Referencia en Micología, Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, Isla Teja s/n-Valdivia, Chile. En el cual se puede encontrar: *C. albicans* ATCC 10231. Las cepas se cultivaron en tubos inclinados de agar de Sabouraud-cloranfenicol durante 48 hr a 30 ° C, mantenidas en pendientes de Sabouraud-dextrosa agar (SDA, Oxoid), y fueron sub-cultivadas cada 15 días para evitar transformaciones pleomórficas. Los inóculos de células o suspensiones de esporas se obtuvieron de acuerdo con procedimientos publicados y se ajustaron a $1-5 \times 10^3$ células/esporas con las unidades formadoras de colonias (UFC)/mL Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2008.

Mecanismo de determinación de universo

Se utilizaron las cepas comerciales, referenciales o estándar de *Candida albicans*, que nos proporciona el American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, EE.UU., y ceremic (CCC), el Centro de Referencia en Micología, Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, ya que estas cepas representan un estudio universal, que no presenta sesgos investigativos, ni manipulación externa de la cepa, comparable a cualquier estudio internacional.

Muestra

Fue seleccionada la cepa tipo *Candida albicans* ATCC 10231.

Mecanismo de determinación de muestra

La cepa tipo *Candida albicans* ATCC 10231 es una muestra estándar a nivel nacional y mundial, cumple las características necesarias para este tipo de investigación, debido a su menor susceptibilidad a los cambios del medio.

Para la selección de ésta, se utilizaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Inclusión:

- Que sea una muestra estándar a nivel nacional y mundial (Obtenidas de ATCC).
- Que sean muestras de cepas *Candida albicans* ATCC 10231.
- Que la conservación de las cepas de *Candida* sea en agua estéril.
- Que la conservación sea a una temperatura de 4°C.
- Que sean cultivados en Agar Sabouraud Cloranfenicol.
- Cepas con un máximo de dos semanas de conservación.

Exclusión:

- Cepas muertas antes de que se inicie el experimento.
- Cepas contaminadas con algún tipo de microorganismo.
- Cepas preparadas con material no estéril.
- Muestras obtenidas de manera clínica.

Fuentes de información

- Unidad de estudio o análisis: Placas de Petri y Placas de Micropocillos en los cuales se encuentran cultivados cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.
- Unidad Informante: Datos obtenidos de cada uno de estas placas Petri y Placas de Micropocillo definidas como unidad de estudio o análisis.
- Unidad Referencial: Laboratorio del Edificio Bruno Gunther, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Protocolos experimentales

Se obtuvieron extractos naturales de las plantas de tomillo, matico y ajo, los cuales fueron inoculados en diversas concentraciones en un principio fueron en placas petri y luego placas de micropocillos cultivados con *Candida albicans*; lo mismo se realizó con el tratamiento estándar para la candidiasis vaginal, el fluconazol. En una primera instancia, fue evaluada la eficacia de cada extracto por sí solo y luego se realizaron ensayos con el fluconazol, para comparar su eficacia y la de cada extracto. Una vez determinado el efecto de esos, se realizaron experimentos con mezclas de estos extractos.

Preparación de los extractos



Imagen 1: a) Tomillo b) Matico c) Ajo

Luego de ser recolectados el tomillo, matico y ajo (1 kg de cada uno), se comenzó la preparación de los extractos, primero con matico, picándolo en trozos pequeños con las manos. En el caso del ajo, se trozaron los dientes en 4 partes. Al ser las hojas de tomillo de menor tamaño no fue necesario modificarlas. Previamente se

prepararon tres recipientes con etanol al 99% (2 litros en cada recipiente), para ahí dejar macerando cada extracto por 1 semana. Al cabo de este tiempo, se filtro el líquido producido en cada recipiente, para ser enviado a la Facultad De Química Y Farmacia De la Universidad Valparaíso, en el cual fueron procesados para obtener los extractos.

Para obtener la concentración a utilizar se utilizó la siguiente fórmula:

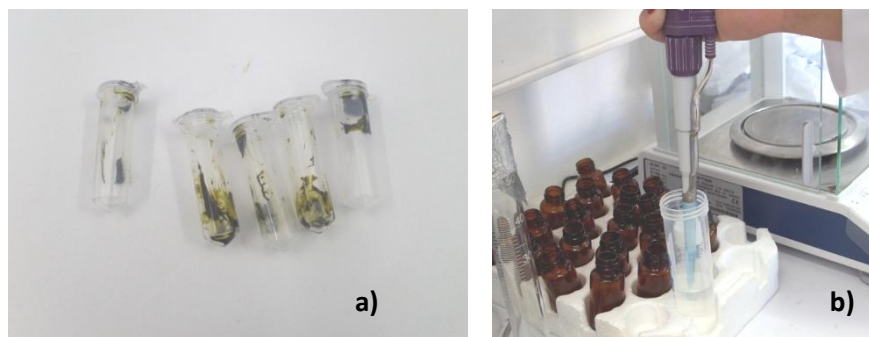


Imagen 2: a) Tubos para microcentrifuga con extracto b) Obtención de disolvente

Se utilizaron tubos para microcentrifuga previamente tarado (pesado) para conocer el peso real del extracto que iría en el, o de lo contrario se confundiría el peso del tubo y quedaría a una concentración distinta el extracto. A continuación se tomo una pequeña muestra del extracto madre y se coloco en el tubo ya pesado. Se volvió a pesar éste, para saber la cantidad de mg de extracto puesto.

Para conocer la cantidad de disolvente que fue necesaria para cada tubo, se pudo calcular de 2 maneras distintas

Forma 1: Utilizando regla de tres simple:

50mg → 1000 µl

Cantidad de extracto en mg → x µl

Ejemplo:

Si el tubo tiene 37,5mg de extracto, para que quede en 50mg/1000 µl será:

50mg → 1000 µl

37,5 mg → x µl

X = 750 µl

Forma 2: Utilizando la siguiente fórmula:

$\mu\text{l disolvente} = \text{mg extracto obtenido} * 1000 / 50$

Ejemplo:

Si el tubo tiene 37,5mg de extracto, para que quede en 50mg/1000 ul será:

$\mu\text{l disolvente} = 37,5 \text{ mg} * 1000 / 50$

$\mu\text{l disolvente} = 750 \mu\text{l}$

Al calcular la cantidad necesaria de disolvente, se procede a agregar con micropipetas la cantidad deseada de éste. Para el caso del tomillo y el matico se utilizo etanol 99%, mientras que para el extracto de ajo, al observarse nula afinidad con el etanol, se decidió utilizar Dimetil Sulfoxido (DMSO).

Se completo la disolución de los extractos con ayuda del Vortex o la máquina para baños con ultrasonido Elmasonic.

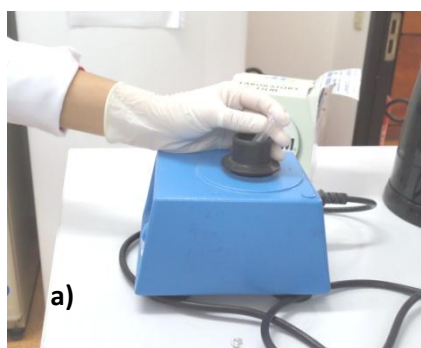


Imagen 3: a) Disolución de extracto en Vortex b) Baños con ultrasonido Elmasonic

Una vez listos los extractos se procedieron a almacenar a 4°C en el refrigerador. Para contar con stock necesario de cada extracto se realizaron varios tubos que luego se unieron en un frasco de vidrio estéril.

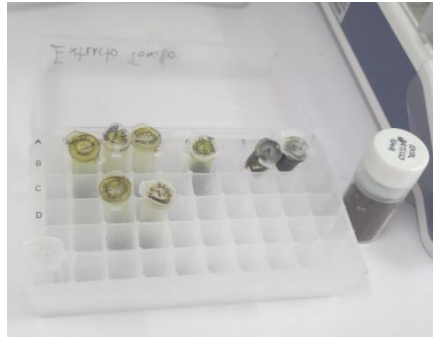


Imagen 4: Tubos para microcentrifuga con extracto listo para utilizar.

Preparación para su uso:

Para ayudar en la disolución del extracto se colocaron en la maquina Vortex VELP® Scientifica que funciona con vibración.

Si no es suficiente con esta medida, se procedía a colocarlos en Elmasonic S10 que a través de ondas de ultrasonido atraviesa la muestra y rompe las partículas mayores.

Preparación de Agar Sabouraud cloranfenicol:

Se adicionaron 65 g. de medio deshidratado a 1000 ml de agua destilada y se calentó hasta su completa disolución. Se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Luego se conservó a temperatura ambiente.

Para cada experimento previamente se debió derretir el agar en microondas.

Placas por infusión con técnica de sacabocado:

En placas de Petri, previamente esterilizadas, se colocaron 20 ml de agar. Luego de que éste se solidificó se procedió a sembrar *Candida albicans* en forma de estrías, para después realizar 6 perforaciones de 10 mm de diámetro, con un sacabocado de acero inoxidable, con una separación de 2 a 3 cm entre sí (*imagen 5*). En uno de los boquetes se colocó el control correspondiente al extracto a estudiar y en los otros 5 distintos volúmenes de dicho extracto.

Para poder evaluar el crecimiento de *Candida albicans*, se identificó cada concentración y control con números del 1 al 6, quedando tal como se muestra en la *figura 1*.



Imagen 5: Ejecución de los boquetes con sacabocado.

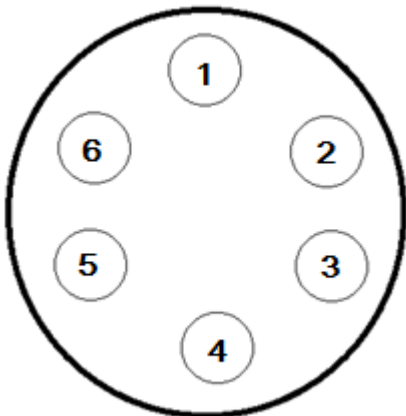


Figura 1: Placa finalizada.

Placas por inclusión con placa de micropocillo:

Se debió rotular la placa con los siguientes elementos:

- Extracto utilizado.
- Fecha de realización del experimento.
- Volúmenes del extracto ha utilizado.
- Micropocillo control.

Luego de rotularlo quedaron como se muestra en la *figura 2*.

En este tipo de placa se debe agregar 2 ml de agar a cada micropocillo. Antes de que gelifique el agar, se debió depositar en el primer micropocillo, el control correspondiente al extracto estudiado, para el caso de los extractos de tomillo y matico se utilizó etanol al 99% y para el extracto de ajo Dimetil Sulfoxido (DMSO), debido a que con este solvente se observó una mayor afinidad. Luego en el resto de los pocillos se depositó el extracto a distintos volúmenes (imagen 6).



Imagen 6: Ejecución de placas con micro pocillo.

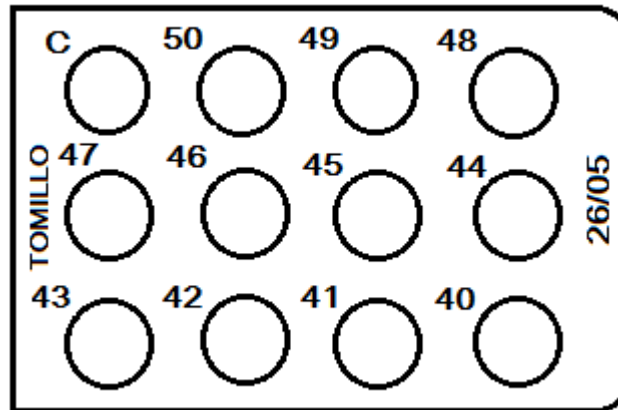


Figura 2: Rotulado de placa (ejemplo extraído de experimentos realizados)

Al solidificarse el agar, se procedió a sembrar con hisopos estériles embebidos de la solución del inoculo de cepas de *Candida albicans*.

Preparación del inoculo o Mc Farland

Para poder preparar el inoculo a utilizar se debió utilizar una placa de petri previamente sembrada, de donde se sacaron colonias con un hisopo estéril. Luego se colocó el hisopo en un frasco con agua estéril y se homogeneizó. Para asegurarse de que estuviesen bien homogeneizadas se agito el frasco.

De éste inoculo se prepararon los experimentos y nuevas placas de petri para contar con stock de *Candida albicans* suficiente.

Condiciones que afectan el metabolismo de *Candida albicans*: Temperatura, concentración de *Candida*, estación de invierno, julio-agosto y manipulación de quien realizo y sembró las placas.

Cada ensayo o experimento fueron evaluados mediante 3 parámetros de crecimiento, los que corroboraron si los extractos tienen el efecto antifúngico esperado:

- Concentración mínima inhibitoria: define la menor concentración del extracto natural o del fluconazol que resulta en la inhibición (total o parcial, a determinar) de crecimiento visual en comparación con el crecimiento en los pocillos control que no han sido tratados.
- Concentración de compuestos aplicados: determina las diversas concentraciones que se utilizarán en cada ensayo o experimento para establecer si a mayor concentración de estos, existe menor resistencia por parte del hongo *Candida albicans*.
- Concentración mínima fungistática: define la menor concentración del extracto natural o del fluconazol que resulta en impedir o inhibir la actividad vital de los hongos en comparación con el crecimiento en los pocillos control que no han sido tratados a los 48 horas post siembra.

Materiales:

- Botellas de vidrio con tapa Duran Schott® de 1000 y 2500 ml.
- Cámara de Neubauer doble W. Schreck Hofheim/TS®.
- Micropipetas Biopette®, modelos p2, p10, p20, p200 y p1000.
- Pipeta graduada HGB® de 10 ml.
- Placas de micropocillos para cultivo celular de 12 pocillos Orange Scientific®.
- Placas Petri plasticas de 60 y 100 mm Orange Scientific®.
- Probeta de 10 ml Duran®.
- Puntas para micropipetas desechables de 10, 100 y 1000 µl.
- Repipeteador Handy Step®.
- Tubos para microcentrífuga de 1,5 y 2 ml Eppendorf®.
- Hisopos de laboratorio.
- Guantes latex Topglove.
- Tubos de fondo conico polipropileno 50 ml.
- Sacabocado de 10mm de diámetro.

Equipos.

- Balanza analítica modelo METTER Toledo.
- Cámara Digital Samsung WB800F.
- Congelador Consul®.
- Incubadora FOC 225E VELP® Scientifica .
- Lector de Microplacas Biotek®.
- Microscopio óptico invertido NENSMICROSCOPE®.
- Refrigerador modelo Altus 700 Mademsa®.
- Vortex VELP® Scientifica.
- Autoclave JSAC60®.
- Elmasonic S10.

Reactivos

- Etanol 99% para análisis.
- Dimetil Sulfóxido (DMSO).

Medios de cultivo

Agar Sabouraud cloranfenicol:

Casein enzymic hydrolysate 5.00 grs/lts.

Peptic digest of animal tissue 5.00 grs/lts.

Dextrose 40.00 grs/lts.

Chloromphenicol 0.05 grs/lts.

Agar 15.00 grs/lts.

Final pH (at 25 °C) 5,6 +/- 0,2.

Recolección de datos:

Se utilizó como instrumento de recolección de datos una tabla especialmente diseñado para este experimento ya que facilitó la recopilación de resultados.

Las tablas hacen que los datos de una tabla o consulta sean más fáciles de comprender, ya que se presentan en diseños visualmente llamativo y más simple que otros instrumentos.

IV RESULTADOS

Los ensayos se realizaron en una primera etapa por infusión, en placas de petri, con la técnica de sacabocado (Imagen7)(ver Materiales y Método). Luego de observar poca absorción de los extractos en el agar se decidió cambiar de técnica a la de inclusión (Imagen 8) (ver Materiales y Método).



Imagen 7: Placa de petri con técnica de sacabocado.

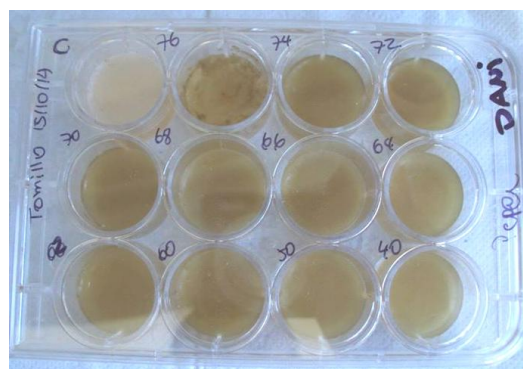


Imagen 8: Micropocillos con técnica de inclusión.

Resultados Tomillo

Para el extracto de tomillo inicialmente se ensayaron concentraciones entre 1.25 y 0.32 mg/ μ l como se observa en la imagen 9.

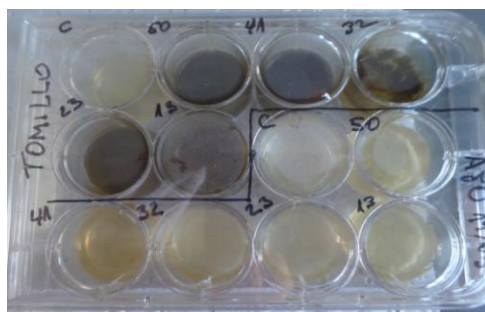


Imagen 9: Micropocillos con volumen entre 50 y 13 ul.

Al observar nulo resultado sobre el crecimiento de *Candida albicans* se decide aumentar la concentración de extracto a 1.50 mg/μl, observándose los primeros resultados de inhibición del crecimiento entre 1.15 y 1.65 mg/μl. Se realizaron nuevas placas con concentraciones entre 1.55 y 2.05 mg/μl para buscar la concentración más efectiva que inhiba el crecimiento a las 48 horas, obteniendo satisfactorios resultados con bajo crecimiento en concentraciones cercanas a 2.0 mg/μl (Imagen 10, 11 y 12) (ver Tabla 1).

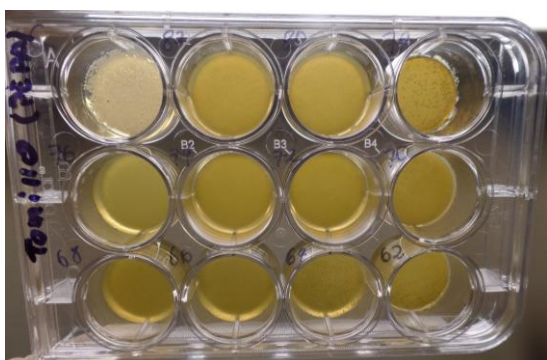


Imagen 10: Ensayo A 29/09/2014

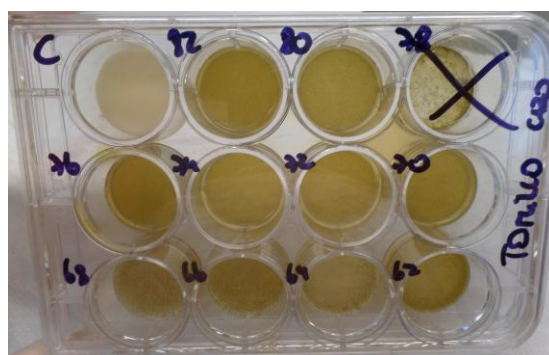


Imagen 11: Ensayo B 29/09/2014

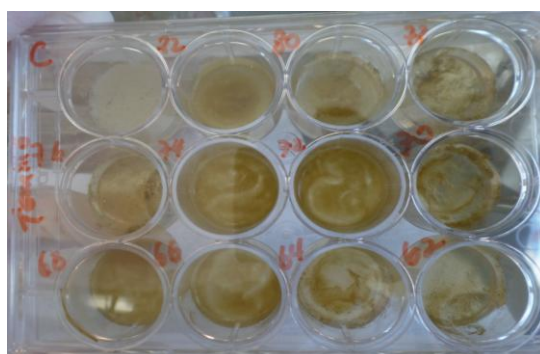


Imagen 12: Ensayo 07/10/2014

	C	82	80	78	76	74	72	70	68	66	64	62
29/09	O	X	X	O	X	X	X	X	X	X	X	X
29/09	O	X	X	X	X	O	O	O	O	O	O	O
07/10	O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabla 1. Volumen entre 82 y 62 μl, equivalente a concentraciones entre 2.05 y 1.55 mg/ μl

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Finalmente una placa con concentraciones que durante todo el periodo de experimentación demostró resultados fungistáticos a las 48 horas, ensayando en 4 oportunidades, fue la placa con concentraciones entre 1.0, 1.25, 1.50, 1.55, 1.60, 1.65, 1.70, 1.75, 1.80, 1.85, 1.90 mg/μl, de esta forma se pudo concluir una concentración mínima fungistática y concentración mínima inhibitoria de 1.5 mg/μl (equivalente a un volumen de 60 ul) (Ver Tabla 2). Se determinó además con resultados satisfactorios a la semana, la concentración mínima fungicida de 1.65 mg/μl (Imagen 13, 14, 15 y 16) (Ver Tabla 2).

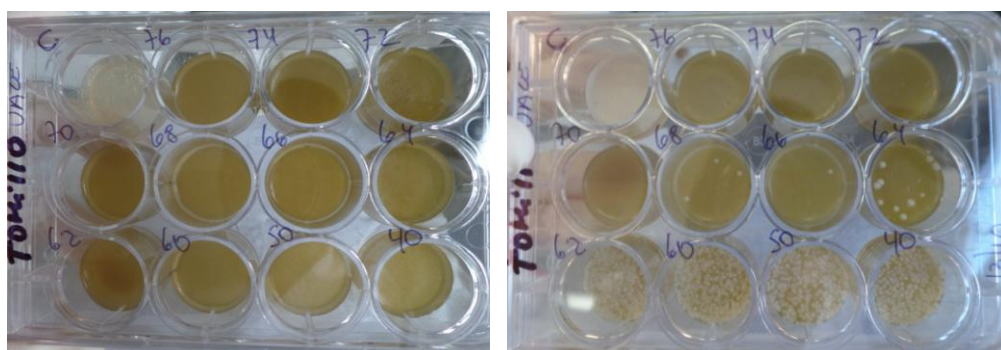


Imagen 13: Ensayo A 13/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

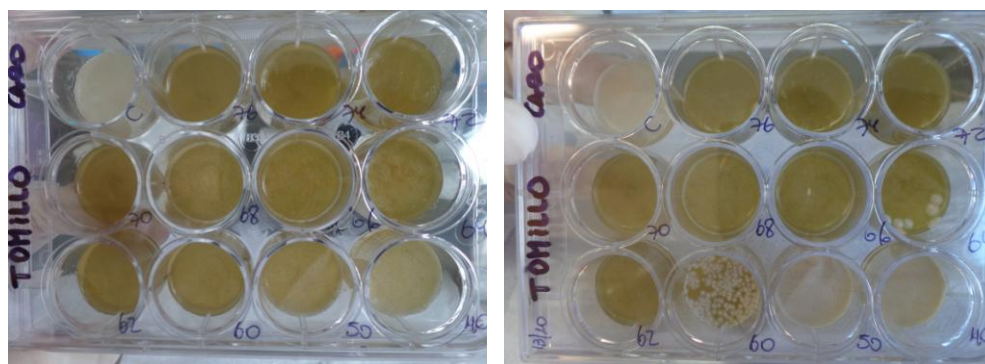


Imagen 14: Ensayo B 13/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

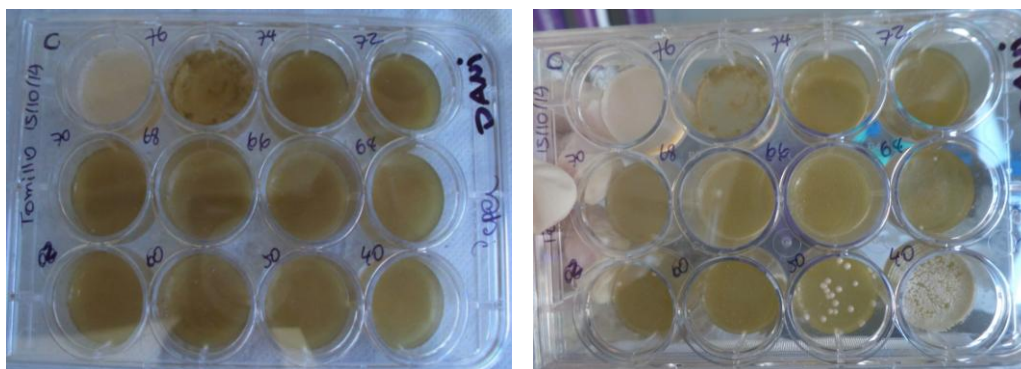


Imagen 15: Ensayo A 15/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

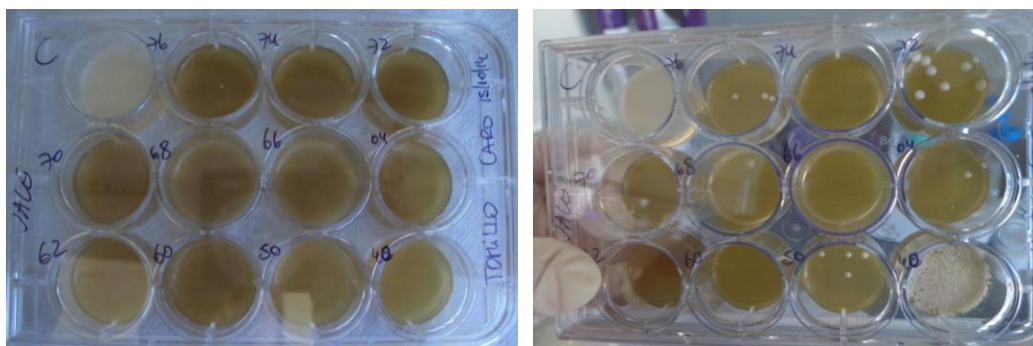


Imagen 16: Ensayo B 15/10/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

FECHA	Vol		C	76	74	72	70	68	66	64	62	60	50	40
	T													
13/10 a)	48h		O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	O	O
	1sem		O	X	X	X	X	O	O	O	O	O	O	O
13/10 b)	48h		O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		O	X	X	X	X	X	X	O	O	X	O	O
15/10	48h		O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		O	O	X	O	O	X	X	O	O	X	O	O
15/10	48h		O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		O	X	X	O	X	X	X	O	O	X	O	O

Tabla 2. Volumen entre 76 y 40 μ l, equivalente a concentraciones entre 1.90 y 1.00 mg/ μ l

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Resultados Ajo

Para el extracto de ajo se comenzó utilizando concentraciones entre 1.25 μl y 0.32 mg en placa de 6 pocillos. A las 48 horas se observó que ocurre crecimiento en todas las concentraciones (Imagen 17).

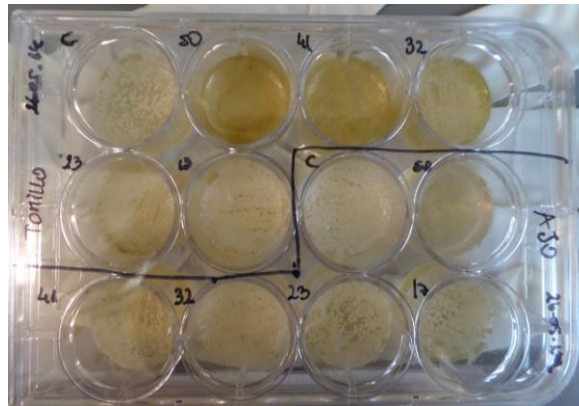


Imagen 17: Ensayo 26/05/2014

Se decidió aumentar a concentraciones entre 2.00 y 1.25 mg/ μl , al cabo de 48 horas se observó crecimiento homogéneo en todas las concentraciones (Imagen 18, 19 y 20).

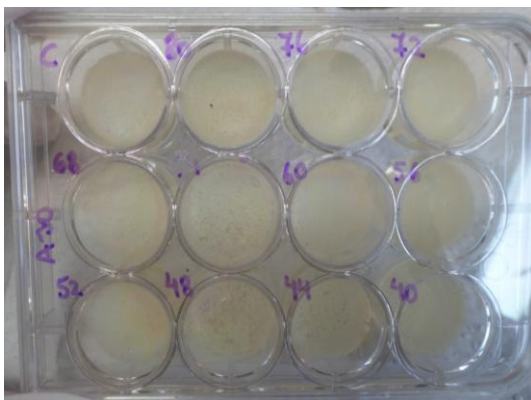


Imagen 18: Ensayo 23/06/2014

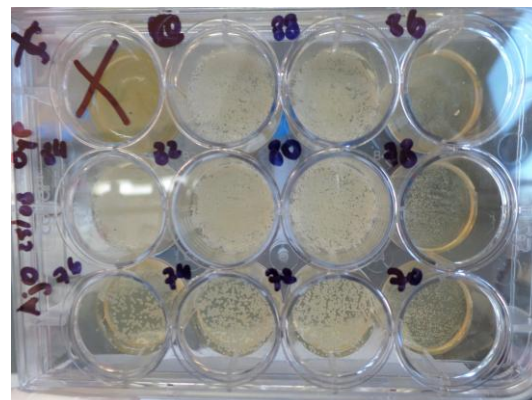


Imagen 19: Ensayo 25/08/2014

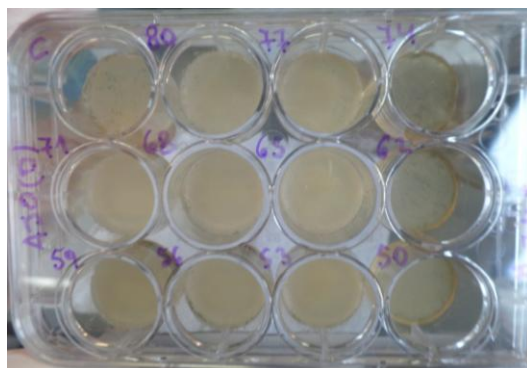


Imagen 20: Ensayo 22/09/2014

Al observar nulos resultados en concentraciones menores de 2.5 mg/ μ l se resolvió incrementar las concentraciones entre 3.75 y 2.5 mg/ μ l. Se realizaron 3 ensayos con estas concentraciones, llegando a la conclusión preliminar de que la concentración mínima inhibitoria estaría cercana a la concentración de 3.5 (Imagen 21, 22, 23) (Ver Tabla 3).

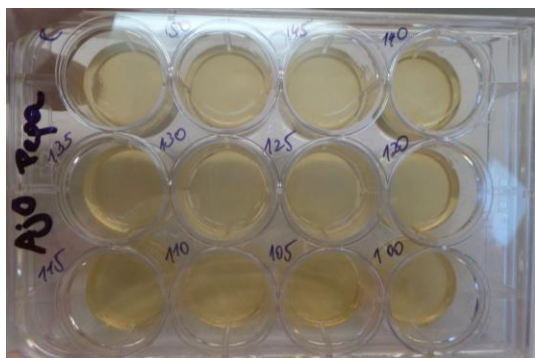


Imagen 21: Ensayo 29/09/2014

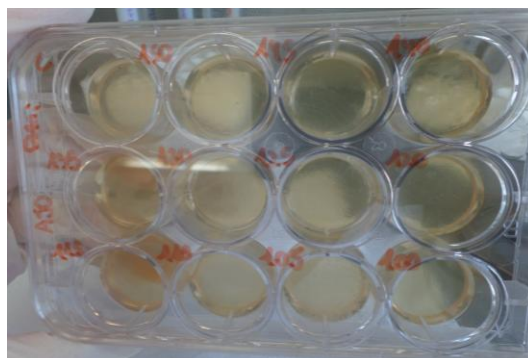


Imagen 22: Ensayo A 07/10/2014

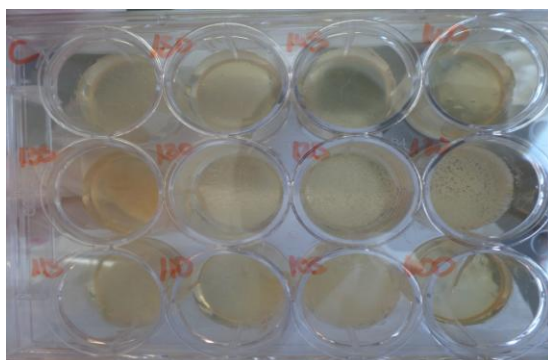


Imagen 23: Ensayo B 07/10/2014

FECHA	Vol. T	C	150	145	140	135	130	125	120	115	110	105	100
		29/09	48h	O	X	X	X	X	X	X	X	X	X
07/10	48h	O	X	X	X	O	O	O	O	O	O	O	X
07/10	48h	O	X	X	X	X	X	O	X	X	O	O	O

Tabla 3. Volumen entre 150 y 100 μ l, equivalente a concentraciones entre 3.75 y 2.5 mg/ μ l
 *X= Inhibición
 *O= Crecimiento

Se decidió ensayar con concentraciones alrededor de la presunta concentración mínima inhibitoria, 3.75 a 3.25 mg/ μ l, obteniendo crecimiento de *Candida albicans* en la totalidad de las placas (Imagen 24 y 25) (Ver Tabla 4).

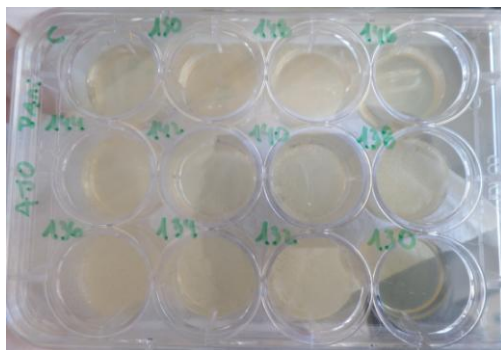


Imagen 24: Ensayo A 09/10/2014

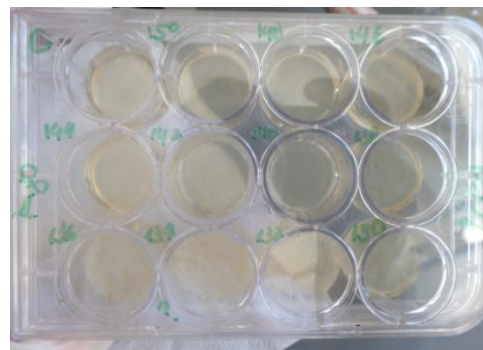


Imagen 25: Ensayo B 09/10/2014

FECHA	Vol. T	C	150	148	146	144	142	140	138	136	134	132	130
		09/10	48h	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
09/10	48h	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 4. Volumen entre 150 y 130 μ l, equivalente a concentraciones entre 3.75 y 3.25 mg/ μ l
 *X= Inhibición
 *O= Crecimiento

Debido a los resultados obtenidos se resolvió aumentar notablemente las concentraciones, llegando a cifras entre 4.75 y 3.35 mg/μl. Al cabo de numerosos ensayos, se observó nulo crecimiento de *Candida albicans* en pocillo control, lo que implicó que los ensayos no sean aptos para concluir resultados fidedignos. El fallido crecimiento de *Candida albicans* en control se atribuye a las altas concentraciones de Dimetil Sulfoxido que se utilizaron. Finalmente se decidió no continuar con los ensayos debido a los ineficaces resultados, sin lograr obtener una concentración mínima inhibitoria, concentración mínima fungistática ni concentración mínima fungicida.

Resultados Matico

En un inicio en el extracto de matico se ensayaron concentraciones entre 1.90 y 0.32 mg/μl, a las 48 horas se observó crecimiento de *Candida albicans* en todos las pocillos por lo que se decidió aumentar a un rango más amplio para así detectar la concentración más cercana de inhibición (Imagen 26).

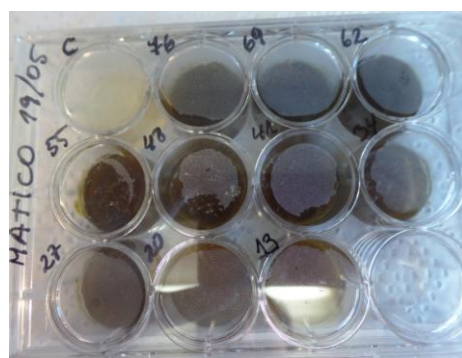


Imagen 26: Ensayo 19/05/2014

Se plantea utilizar concentraciones más amplias para poder definir un rango de inhibición, por lo que se decide trabajar con concentraciones entre 5 a 2.5 mg/μl, este ensayo da como resultado inhibición a las 48 horas en concentraciones de 4.37, 3.75, 3.12 y 2.5 mg/μl (Ver Tabla 4), por lo que se trabaja continuamente entre estos parámetros (imagen 27).

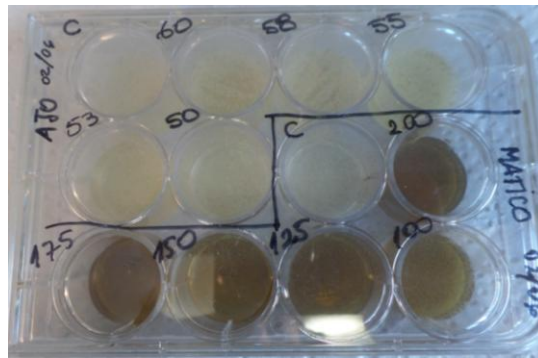


Imagen 27: Ensayo 02/06/2014

FECHA	Vol.											
	T		C	200	175	150	125	100				
02/06	48h		O	X	X	X	X	O				

Tabla 5. Volumen entre 200 y 100 µl, equivalente a concentraciones entre 5 y 2.5 mg/µl
 *X= Inhibición
 *O= Crecimiento

En el mes de Julio en 4 ensayos, que se utilizaron concentraciones entre 3.55 y 3.05 mg/µl, se observó un nulo crecimiento de *Candida albicans* en todos los pocillos, incluyendo el control (Etanol al 99%). Pero luego en el mes de Agosto, si se observó crecimiento en control, por lo que se concluyó que el crecimiento de cepas de *Candida albicans*, se vio afectado por la temperatura de estas épocas, que es significativamente menor (Imagen 28, 29, 30 y 31).

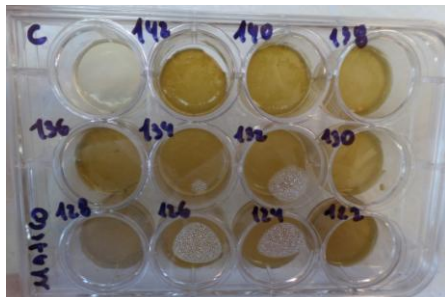


Imagen 28: Ensayo 01/07/2014

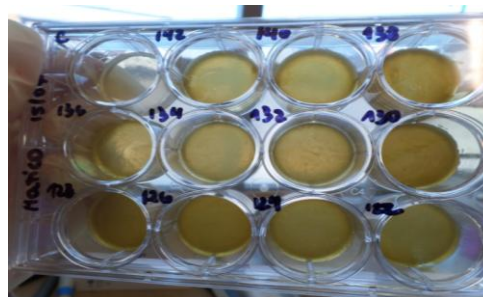


Imagen 29: Ensayo 15/07/2014

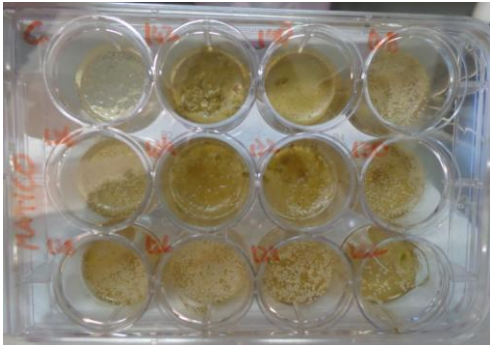


Imagen 30: Ensayo 18/08/2014

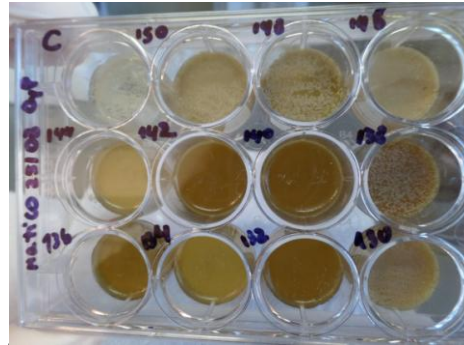


Imagen 31: Ensayo 25/08/2014

Luego de utilizar concentraciones entre 4.75 y 3.50 mg/μl de matico (Ver Tabla 6, 7 y 8) y obtener resultados heterogéneos de inhibición, se concluyó que el extracto de matico no actúa como fungicida ni fungistático frente a la cepa de *Candida albicans* utilizada, por lo mismo tampoco se puede definir concentración mínima inhibitoria, concentración mínima fungistática, ni concentración mínima fungicida.

FECHA	Vol. T	C	180	176	172	168	164	160	156	152	148	144	140
		20/10	48h	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
	1sem	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 6. Volumen entre 180 y 140 μl, equivalente a concentraciones entre 4.5 y 3.5 mg/μl

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

FECHA	Vol. T	C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
		29/10	48h	O	O	O	O	O	X	X	X	O	X
	1sem	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 7. Volumen entre 190 y 140 μl, equivalente a concentraciones entre 4.75 y 3.5 mg/μl

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

FECHA	Vol. T												
		C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
03/11	48h	O	X	O	O	O	O	O	O	O	O	O	X
	1sem	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 8. Volumen entre 190 y 140 μ l, equivalente a concentraciones entre 4.75 y 3.5 mg/ μ l

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Resultados Mezcla Extracto de Tomillo Y Matico

Se decidió utilizar para la mezcla de extractos solo Tomillo y Matico, debido a los no concluyentes resultados que se observaron con el extracto de ajo y a la problemática que se presentó con su crecimiento en el control de sus placas y al uso incompatible del disolvente etanol y dimetil sulfoxido para la mezcla.

Se comenzó utilizando como base de la mezcla tomillo y matico la concentración mínima inhibitoria encontrada en tomillo que fue de 1.5 mg/ μ l, y concentraciones de matico que van desde los 4,15 mg/ μ l hasta los 3.50 mg/ μ l (ver tabla 9) sin resultados fungistáticos ni fungicidas. (Imagen 32)

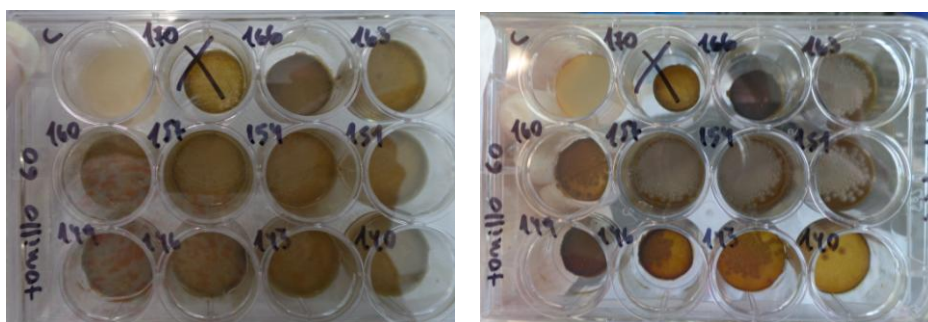


Imagen 32: Ensayo 10/11/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

FECHA	Vol. T												
		C	170	166	163	160	157	154	151	149	146	143	140
10/11	48h	O	-	O	O	O	O	O	O	O	O	O	X
	1sem	X	-	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 9. En este ensayo se utilizó siempre tomillo 60 µl (1.5 mg/ µl) y control 230 µl (5.75 mg/ µl) los volúmenes con matico son los que se manipularon y que aparecen detallado en la tabla.

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Se siguió probando la mezcla tomillo y matico con la concentración mínima inhibitoria de tomillo 1.5 mg/ µl, y concentraciones de matico que van desde los 4,75 mg/ µl hasta los 3.50 mg/µl (ver tabla 10) obteniendo resultados fungistáticos bajo concentraciones 3.37 mg/ µl y sin concentraciones fungicidas (Imagen 33).

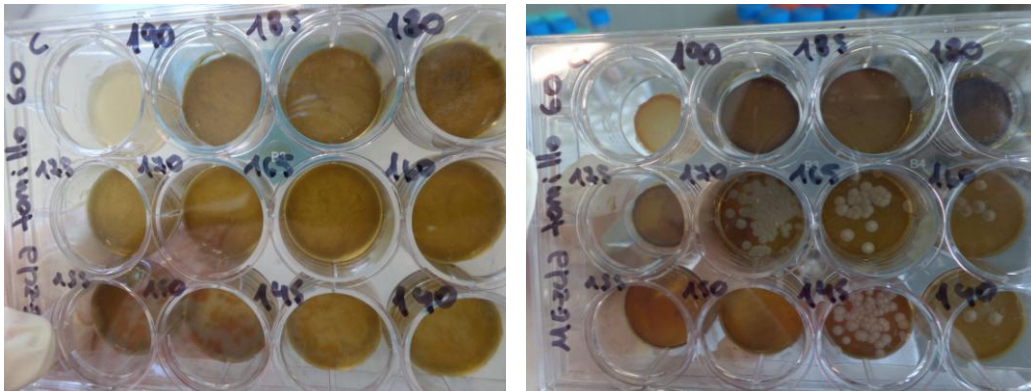


Imagen 33: Ensayo 10/11/2014 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

FECHA	Vol. T												
		C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
10/11	48h	O	O	O	O	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	O	X	X	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 10. En este ensayo se utilizó siempre tomillo 60 µl (1.5 mg/ µl) y control 250 µl (6.25 mg/ µl) los volúmenes con matico son los que se manipularon y que aparecen detallado en la tabla.

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Se continuó ensayando la mezcla tomillo y matico con la concentración mínima inhibitoria de tomillo 1.5 mg/ μ l, y concentraciones de matico que van desde los 4,00 mg/ μ l hasta los 2.50 mg/ μ l (ver tabla 11) obteniendo resultados no validos debido a que el pocillo control no presento crecimiento de *Candida albicans*.

FECHA	Vol. T	C	160	155	150	145	140	135	130	125	120	115	110
		02/12	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabla 11. En este ensayo se utilizo siempre tomillo 60 μ l (1.5 mg/ μ l) y control 220 μ l (5.50 mg/ μ l) los volúmenes con matico son los que se manipularon y que aparecen detallado en la tabla.

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Mezcla matico tomillo

Se decidió ensayar de manera muy experimental la mezcla matico y tomillo, sin tener de base una concentración mínima inhibitoria, ni fungistática del matico.

Se realizaron dos ensayos con distintitas concentraciones bases de 4,75 mg/ μ l y 4,25 mg/ μ l (ver tabla 12 y 13). En donde los resultados obtenidos no demostraron resultados concluyentes debido a que en ambos ensayos no creció pocillo control a las 48 horas, pero si a la semana, pudiéndose inferir que el nivel alto de las concentraciones utilizadas en pocillo control puedan jugar un papel inhibitorio para los ensayos, interfiriendo con los resultados que esperábamos en torno al efecto del extracto y su mezcla (Imagen 34 y 35).

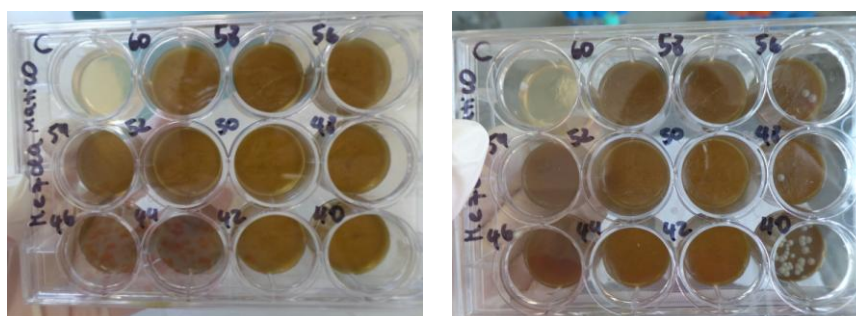


Imagen 34: Ensayo matico 10/11/2014. 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

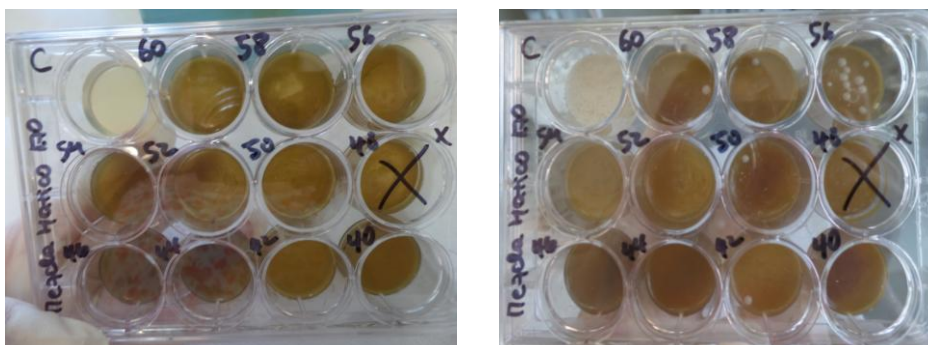


Imagen 35: Ensayo matico 10/11/2014. 48 horas (izquierda), 1 semana (derecha)

FECHA	Vol. T	C	60	58	56	54	52	50	48	46	44	42	40
		10/11	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	O	X	X	O	X	X	X	O	X	X	X	O

Tabla 12. En este ensayo se utilizo matico $190 \mu\text{l}$ ($4,75 \text{ mg}/\mu\text{l}$) y control $250 \mu\text{l}$ ($6,25 \text{ mg}/\mu\text{l}$), los volúmenes con tomillo fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la tabla.

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

FECHA	Vol. T	C	60	58	56	54	52	50	48	46	44	42	40
		10/11	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	O	O	O	O	X	X	O	X	X	X	O	X

Tabla 13. En este ensayo se utilizo matico $170 \mu\text{l}$ ($4,25 \text{ mg}/\mu\text{l}$) y control $230 \mu\text{l}$ ($5,75 \text{ mg}/\mu\text{l}$), los volúmenes con tomillo fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la tabla.

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Resultados Fluconazol

Los ensayos con Fluconazol se iniciaron con concentraciones entre 2 y 0.25 mg/μl (Ver tabla 14). A las 48 horas se presentó crecimiento de *Candida albicans* solo en control, y a la semana con estas concentraciones, se observó crecimiento en todos los pocillos, pero en cantidades pequeñas (Imagen 36 y 37).

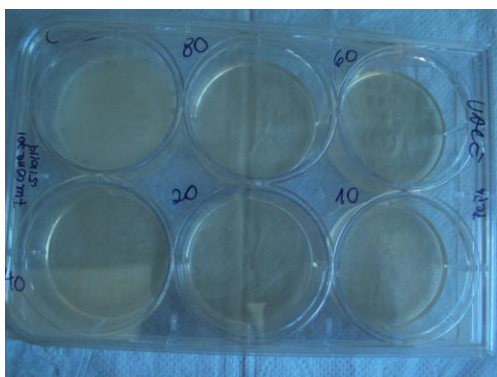


Imagen 36: Ensayo fluconazol
15/10/2014 Resultados a las 48

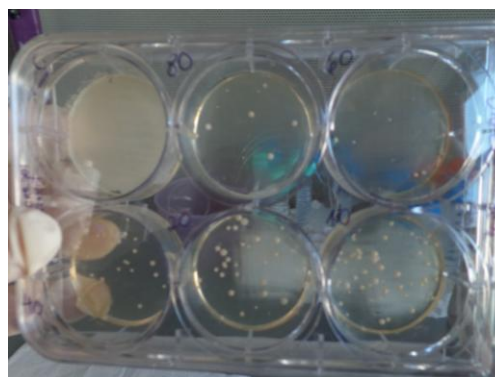


Imagen 37: Ensayo fluconazol
15/10/2014 Resultado a 1 semana.

FECHA													
		C	80	60	40	20	10						
15/10	48h	O	X	X	X	X	X						
	1sem	O	O	O	O	O	O						

Tabla 14. Volumen entre 80 y 10 μl, equivalente a concentraciones entre 2 y 0.25 mg/μl

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

Luego se decidió acotar las concentraciones a un rango más pequeño, para así definir la concentración mínima inhibitoria, por lo que se utilizaron concentraciones entre 1 y 0.05 mg/μl (Ver tabla 14). Mostrando resultados satisfactorios a las 48 horas entre las concentraciones de 1 a 0.25 mg/μl (al igual que en ensayo previo), mientras que a la semana se observó un crecimiento de

cepas en cantidades pequeñas en cada pocillo (Imagen 38 y 39). Por lo que se puede concluir que Fluconazol, actuaría como un fungistático de Candida Albicans, mientras que su concentración mínima inhibitoria está en el rango de 0.25 mg/μl al igual que la concentración mínima fungistática.

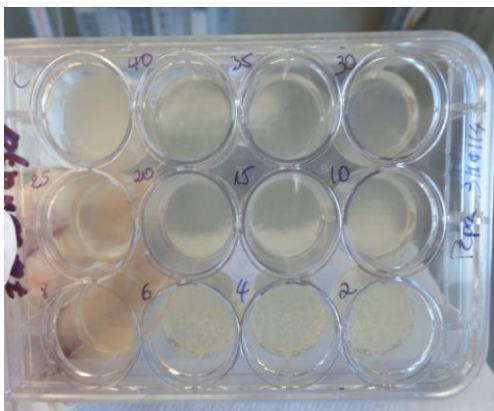


Imagen 38: Ensayo 03/11/2014
Resultado a las 48 Horas

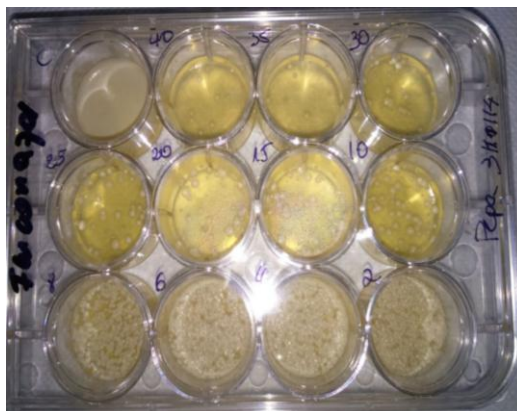


Imagen 39: Ensayo 03/11/2014
Resultado a 1 Semana

03/11		C	40	35	30	25	20	15	10	8	6	4	2
	48h	O	X	X	X	X	X	X	X	O	O	O	O
	1sem	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Tabla 15. Volumen entre 40 y 2 μl, equivalente a concentraciones entre 1 y 0.05 mg/μl

*X= Inhibición
*O= Crecimiento

V DISCUSIÓN

AJO

En diversos estudios que se han realizado, se han determinado ciertas sustancias del ajo que tienen mayor efecto antifúngico, que son el ajoeno y la alicina, compuestos activos que se encuentran en el bulbo (cabeza) del ajo.⁷⁻⁸

En la mayoría de los estudios realizados con ajo se ha trabajado con los compuestos activos extraídos del ajo, a diferencia de esta investigación en la cual se utilizó el ajo en su totalidad como extracto. De acuerdo a esto, se puede deducir que esta es una de las razones por la cual pueden haber variado los resultados obtenidos con los de la literatura.

En relación a los resultados *in vitro* de los experimentos que se realizaron en esta investigación, se observó que el crecimiento de *Candida albicans* es dispar en los pocillos, ya que, a menor concentración del extracto de ajo existió menor crecimiento fúngico. Por esta razón fueron aumentadas las concentraciones, pero aun así, se obtuvo crecimiento de cepas en ellas. Además de esta situación se suma el hecho de que no existió crecimiento en el control de los ensayos, por lo que lleva a resultados poco concluyentes. Esto podría deberse al aumento en concentraciones de DMSO como control, con niveles entre 3.75 mg y 4.75 mg lo que inhibiría totalmente el crecimiento de *Candida albicans*.

Finalmente se determinó que el extracto de ajo frente al cultivo de *Candida albicans* no actuó como fungicida ni fungistático contrariando con los estudios previamente estudiados.

MATICO

En la investigación para el extracto de matico se observaron resultados en los primeros ensayos dando parámetros de concentración fungistáticos por lo que se sigue trabajando con las mismas concentraciones hasta el mes de Julio, donde se presentó nulo crecimiento. Luego de repetidos experimentos y fallidos resultados se concluyó que la cepa de *Candida albicans* se ve afectada en los meses de invierno (Julio- Agosto) por las bajas temperaturas lo que lleva a la inhibición de su crecimiento y enlentecer su metabolismo, lo que se complementa con la búsqueda bibliográfica presentada, donde se plantea el periodo de recolección de la planta, que de acuerdo a la época del año se podría ver afectadas sus propiedades farmacológicas, por lo que se puede deducir que las bajas temperaturas no solo afectaron al crecimiento de *Candida albicans*, sino también la propiedad que posee el matico como antifúngico, lo que podemos apoyar con la estudios descritos en donde se incubaron ciertas cepas de hongos a 30° celcius y se consiguieron efectos antifúngicos del matico⁹⁹. Posteriormente en los meses de Septiembre y Octubre el crecimiento de *Candida* no es uniforme, por lo que se determinó que el extracto de matico no actúa como fungicida ni fungistático.

TOMILLO

El *Thymus Vulgaris*, más conocido como tomillo, se encuentra dentro de la medicina popular por tener diversos usos.⁵⁸

Se han realizado estudios para diversas propiedades, destacando su acción como fungicida, dado por sus compuestos activos como el timol, compuesto que está presente en algunas variedades.¹³

En el caso de esta investigación se utilizó la hoja de tomillo por completo para realizar el extracto. Desde los primeros ensayos se obtuvo inhibición de *Candida albicans* con resultados satisfactorios, pudiéndose obtener una concentración mínima inhibitoria y concentración mínima fungistática a las 48 horas, pero

además se observó durante varios experimentos, que a la semana de analizar las placas, no existía crecimiento del hongo, por lo que también se puede concluir, que el tomillo no solo podría actuar como fungistático, sino también como fungicida, sin obtener en este estudio un valor certero, además como fue reflejado en investigaciones presentadas en este documento que hablan además de solo el uso de timol (compuestos del Tomillo), los cuales inhibieron el crecimiento de hongos durante once días de incubación¹³, mientras que los ensayos realizados por las integrantes de esta investigación utilizó el total de la hoja de tomillo para generar el extracto, obteniendo resultados satisfactorios.

Mezcla de extractos

Como se conoce propiedades medicinales de las plantas que se han estudiado en esta investigación, se pretendió estudiar el efecto que podrían tener los extractos de las plantas en una mezcla, con la idea de que se podrían potenciar sus efectos.

En un principio, se pensó en realizar una mezcla entre los tres extractos obtenidos, sin embargo, debido a la problemática que se presentó con crecimiento en el control de las placas tratadas con ajo, debido al uso del Dimetil Sulfoxido (DMSO), se concluyó que el extracto de ajo para este objetivo no sería efectivo.

En los ensayos realizados de la mezcla entre los extractos de tomillo y matico, la que tuvo actividad antifúngica en la totalidad de los ensayos, es en la cual, el extracto de tomillo fue manipulado, por lo que se obtuvo el resultado esperado al realizarse esta mezcla, ya que de acuerdo a la literatura de los tres extractos estudiados, el tomillo, es el que ha obtenido mejores resultados como antifúngico. Finalmente a la semana, si bien, existe crecimiento del hongo, este es controlado y en pocas colonias, por lo que si en algún momento el tomillo fuese parte del tratamiento para esta patología, no eliminaría por completo la *Candida albicans* presente en la biota normal de la vagina, se obtuvo una concentración preliminar fungistática bajo concentraciones 3.37 mg/ µl.

Fluconazol

Fluconazol es el medicamento estándar utilizado para el tratamiento de Candidiasis en Chile. Este fármaco, actúa interrumpiendo el crecimiento del hongo, lo que significa que actuaría como fungistático. A través de los ensayos realizados en esta investigación, se pudo concluir, que el Fluconazol, actuaría enlenteciendo el crecimiento de *Candida albicans*, pero no así como fungicida, ya que si se observa crecimiento, de escasas cepas, a la semana de evaluación. En base a estudios presentados en esta investigación, se concluye que este fármaco si presentaría efectividad frente al tratamiento de *Candida albicans*, ya que no debe eliminar por completo este hongo, porque pertenece a la microbiota propia de la vagina, pero si actúa fungistáticamente, que es lo buscado.

Se confirma nuestra hipótesis:

H0: Los extractos naturales obtenidos de plantas de tomillo (*Thymus vulgaris*), matico (*Buddleja globosa*) y ajo (*Allium sativum*) tienen menos efecto que el fluconazol, sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

VI CONCLUSION

Si bien los resultados fueron diversos, ya que solo una de las tres especies tuvo acción fungistática, al contrario de lo encontrado en la revisión bibliográfica, el poder tener resultados positivos para el tomillo abre paso para seguir investigando en las propiedades de éste para poder ofrecer, aunque limitada, una variante a la medicina tradicional por la medicina natural a las usuarias que presenten candidiasis.

Claramente dentro del estudio afectaron diversas variables como lo fueron en un primer momento la inexperiencia de las investigadoras en el manejo de laboratorio, que fue rápidamente resuelto, la temporada invernal (Julio-Agosto) que afectó al crecimiento de *Candida albicans* ya que disminuye el metabolismo fúngico, la temperatura y la concentración de *Candida* que quedaban por cada micropocillo, que podrían limitar una futura investigación.

Sin embargo, al ser un ensayo experimental no clínico, con cepas estandarizadas hace que los resultados sean mucho más fiables.

Luego de analizar los resultados, y de determinar las distintas variables que influían en éstos, al contrario de la revisión bibliográfica realizada, sólo el extracto de tomillo obtuvo concentraciones fungistáticas, pudiendo inhibir el crecimiento de *Candida albicans*. El ajo y el matico, luego de una serie de discordancias, finalmente no se pudo verificar ni su acción fungicida ni fungistática.

VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Gonzales-Pedraza AA, Ortiz ZA, Dávila MR, Valencia GCM. Infecciones cervicovaginales más frecuentes: prevalencia y factores de riesgo. Rev. Cub Obstet Ginecol (Serial online). 2007 mayo-ago (referido en 2008 ene 13);33 (2):0. Disponible en la World Wide Web: <http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2007000200007&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0138-600X.
2. Gori JR, Lorusso Ginecología de Gori.2da ed. Buenos Aires (Argentina): Editorial El Ateneo; 2001.
3. Torrez K, Soto A, Sandra D, Villalobos M, Rodriguez A.Candidiasis vaginal en primigestas. Rev. Obstet Ginecol Venez (serial online) 2005 (citado en 2008 ene 13); 65(2) :(4 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322005000200002&lng=pt&nrm=iso&tlng=es.
4. Buscemi I, Arechavala A, Negroni R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en el hospital de infecciosas francisco j.muñiz. Rev. Iberoam Micol (serial online) 2004. (referido en 2008 ene). Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2004-21/177181.pdf>.
5. Sánchez Carazo JL, Obón Losada L, Pont Sanjuan V. Tratamiento actual de las micosis superficiales. Rev Iberoam Micol, 1999; 16: S26-S30.
6. J. C. Harris, S. Cottrell, S. Plummer, D. Lloyd. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). Applied Microbiology and Biotechnology. Octubre 2001, Volumen 57, Issue 3, pp 282-286.
7. Saldaña L. Guía Moderna de Medicina Natural. Lima:ASDIMOR; 1992.
8. Sagrera F. Enciclopedia de medicina natural: Plantas medicinales. Programa educativo visual. Bogotá:Lerner Ltda; p.7-8.

9. Jorge Alonso. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. 1° Edición; Argentina, Rosario. Corpus Libros, 2004. Página: 738-739.
10. P.J. Houghton, P.J. Hylands, A.Y. Mensah, A. Hensel, A.M. Deters. Journal of Ethnopharmacology 100 (2005) 100-107: In vitro tests and ethnopharmacological investigations: Wound healing as an example.
11. Peter J Houghton, Abraham Y. Mensah. Pharmacognosy Research Laboratories, Department of Pharmacy. Biologically – Active Compounds from Buddleja Species.
12. MINSAL. Libro digital "Medicamentos Herbarios Tradicionales". p. 195-196. Disponible en: <http://www.minsal.gob.cl/portal/url/item/7d97b17d7fbaa351e04001011f0103f2.pdf>.
13. Alzate O Diego A, Mier M Gonzalo I, Afanador K Lucía, Durango R Diego L, García P Carlos M. Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra Colletotrichum acutatum de los aceites esenciales de tomillo (Thymus vulgaris), limoncillo (Cymbopogon citratus), y sus componentes mayoritarios. Vitae [serial on the Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Nov 21]; 16(1): 116-125. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php>.
14. American Type Culture Collection Disponible en : http://www.atcc.org/en/About/About_ATCC/Who_We_Are.aspx
15. Ramón Novell Alsina (Coord.) Pere Rueda Quillet Luis Salvador Carulla Salud mental y alteraciones de la conducta en las personas con discapacidad intelectual. guía práctica para técnicos y cuidadores colección feaps / N° 4 3ª Edición Madrid: FEAPS, 2004 Capítulo VI. Disponible en http://www.feaps.org/biblioteca/salud_mental/capitulo06.pdf.
16. Cortez C, Zavala D, Campos J, Avila J, De la Puente M, Montañes M, guerra R, Chocron S, Stefano V, Cordero V, Medina Y. Real Academia

- Española, Diccionario de la lengua española, 23.^a ed. Madrid: España, 2014.
17. Med ciclopedia. Diccionario ilustrado de términos médicos. Disponible en: <http://www.iqb.es/diccio/a/an2.htm>.
 18. Balsano C, Alisi A. Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Curr. Pharm Des.* 2009; 15(26):3063-73.
 19. Stewart, P S y Costerton J.W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms *The Lancet* 358: 135-138 Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/biopel%c3%adcula>.
 20. Andrews, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48 (Suppl. 1):5-16, (2001). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11420333?dopt=Abstract>.
 21. Ministerio de Salud Departamento de estadísticas e información de salud. Disponible en: <http://www.deis.cl/?page id=208>.
 22. Bonifaz, Alexandro (2000). «Capítulo 3: Dermatofitosis». *Micología Médica Básica*. México: Méndez-editores. pp. 35–95.
 23. OMS Programa internacional de seguridad de sustancias químicas. Seguridad química; principios básicos de toxicología aplicada. La naturaleza de los peligros químicos 2 ed (revisada). Lima CEPIS 1997. Modulo de capacitación. Disponible en: <http://www.osman.es/ficha/12401>.
 24. Kasper, Dennis L.; Eugene Brunwald, Anthony S. Fauci, Stephen Hauser, Dan L. Longo, J. Larry Jameson (2005). *Harrison 16 Ed. Principios de Medicina Interna*. McGraw-Hill. pp. 731–740.
 25. Roberts CW, McLeod R, Rice DW, Ginger M, Chance ML, Goad LJ (February 2003). «Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa». *Mol. Biochem. Parasitol.* 126 (2): pp. 129–42. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166685102002803>.

26. G Fischer Diccionario de las plantas medicinales para médicos y responsables de farmacias, 5ª edición, Stuttgart 1987.
27. Manual de Normas de Manejo y Tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), 2008. Disponible en: <http://www.minsal.gob.cl/portal/url/item/85381414c56411a9e04001011e015920.pdf>.
28. Stevens, P. F. «Liliaceae» *Angiosperm Phylogeny Website. Versión 7, Mayo 2006*.
29. Pera, Cristóbal; Sebastián García Díaz (1996). *Cirugía* (2da edición). Elsevier, España. p. 694.
30. I. Briseño Morgrovejo, D. González Jumbo. Vaginitis y vaginosis en mujeres en edad fértil en la población del Canton Yacuambi durante el periodo 2008 – 2009, tesis de grado previa a la obtención del título de médico, Loja-Ecuador 2010. Disponible en : <http://dspace.utpl.edu.ec>.
31. Silva S. Infecciones del Aparato Genital Femenino. In: Pérez a. Ginecología 3era Ed. Editorial mediterráneo Ltda; 2003. P. 467-509.
32. Heyden Jha, Catchpole ma, Paget WJ, Stroobant A. European study group. Trends in Gonorrhoea in nine western european countries, *Sex Transm Infect* 2001; 76:110-6.
33. Wroblewska MM, Swoboda-Kopec E, Rokosz A, Krawczyk E, Marchel H, Luczak M. Epidemiology of clinical isolates of *Candida albicans* and their susceptibility to triazoles. *Int J Antimicrob* 2002. 20: 472 – 475.
34. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouér SA, Arthington-Skaggs B, Da Matta DA et al. for the Brazilian Network Candidemia Study. Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. *J Clin Microbiol*. 2006. 44: 2816 - 2823.
35. Kurtzman C P, Fell J W. The yeasts a taxonomic study. 4ed. Elsevier, Amsterdam 1998; pp 1-1055.

36. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Microbiología médica. 14^a ed. México (df). Editorial el Manual Moderno; 1992.
37. Buscemi I, Arechavala A, Negroni R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en el hospital de infecciosas francisco j.muñiz. Rev. Iberoam Micol (serial online) 2004. (referido en 2008 ene). Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2004-21/177181.pdf>.
38. Dra. Beatriz Pimentel Sarzuri; Dr. Eloy Reynolds M. Médicos Familiares Policlínico Manco Kapac. REVISTA PACEÑA DE MEDICINA FAMILIAR Rev Paceña Med Fam 2007; 4(6): 121-127.
39. Martínez MA, Barria PA, Meneses R, Oyarzún P, Sandoval J. Vulvovaginitis en la adolescencia: Estudio etiológico. Rev. Chil Obstet ginecol (serial online) 2003 (referido en 2008 ene 13); 68 (6) (3 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-5262003000600008&script=sci_arttext.
40. Torrez K, Soto A, Sandra D, Villalobos M, Rodríguez A. Candidiasis vaginal en primigestas. Rev. Obstet Ginecol Venez (serial online) 2005 (citado en 2008 ene 13); 65(2) (4 páginas en pantalla). Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322005000200002&lng=pt&nrm=iso&tlng=es.
41. Ringdahl EN. Treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. Am Fam Physician (serial online) 2000 (referido en 2008 ene 18); 61(11):3306-3317. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/20000601/3306.html>.
42. Gori JR, Lorusso G. Ginecología de Gori. 2da ed. Buenos Aires (Argentina): Editorial El Ateneo; 2001.
43. Paredes PP. Bacilos de Doderlein y su rol en la prevención y tratamiento probiótico de la infección vaginal. Diagnóstico (online) 2006 Jul-Sept (Referido en 2008 ene 13); 45(3).

44. Ringdahl EN. Treatment of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am Fam Physician* (serial online) 2000 (referido en 2008 ene 18); 61(11):3306-3317. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/20000601/3306.html>.
45. Sabel J, Wiesenfeld H, Martens M, Danna P, Hooton T, Rampallo A, et al. Maintenance Fluconazole Therapy for Recurrent Vulvovaginal Candidiasis. *N Engl J Med* (serial online) 2004 (Referido en 2008 ene 18); 351(6)(8 páginas en pantalla). Disponible en: <http://content.nejm.org/cgi/content/short/351/9/876>.
46. OMS. Infecciones de Transmisión Sexual. Nota descriptiva N°110 Agosto de 2011. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/es>.
47. OMS, Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections. 2008. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75181/1/9789241503839_eng.pdf.
48. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 1993; vol. 42, no rr-14, Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00023296.htm>.
49. Sobel JD. Candida Vulvovaginitis. *Semin Dermatol*, 1996; 15: p.17-28.
50. Butler KM, Baker CJ. Candida: an increasingly important pathogen in the nursery. *Pediatr Clin N Amer* 1988;35: 543- 563. Baley JE, Kliegman RM, Fanaroff AA. Disseminated fungal infections in very low birth weight infants (<1500 grams) *Pediatrics* 1984;73:2138- 2143.
51. Baley JE. Neonatal candidiasis: the current challenge. *Clin Perinatol* 1991;18:263-280. Karlowics MG. Risk factors associated with fungal peritonitis in very low birth weight neonates with severe necrotizing enterocolitis: a case control study. *pediatr infect dis j* 1993;12: p.574-577.
52. Hiemenz JW, Walsh J. Lipid formulations of amphotericin B: Recent progress and future directions. *Clin Infect Dis*. 1996. 22: p.133-44.
53. Brammer KW, Farrow PR, Faulkner JK. Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev Infect Dis* 1990,12 (Suppl.): S138-S126.

54. Montero-Gei F, Perera A. Therapy with fluconazole for tinea corporis, tinea cruris and tinea pedis. *Clin Infect Dis* 1992; 14 (Suppl): S77-S81.
55. Drake L, Babel D, Stewart DM. Once weekly fluconazole (150, 300 or 450 mg) in the treatment of distal subungueal onychomycosis of the fingernail. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: S87-S94.
56. Carrillo Muñoz A, Tur C, Estivill D, Montsant L, Carceller A, Hernández-Molina J, Torres-Rodríguez J. Resistencia in vitro al fluconazol e itraconazol en aislamientos clínicos de *Candida* spp y *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 50-54.
57. Sandven P, Bjorneklett A, Maeland A, and the Norwegian Yeast Study Group. Susceptibilities of Norwegian *Candida albicans* strains to fluconazole: emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993;37:2443-2448.
58. Muller J. Resistenzphänomene bei systemisch wirksamen Antimykotika und das Problem der empfindlichkeitstestung. *Mycoses* 1992;35 (suppl):1-7.
59. Selmecki A, Forche A, Berman J. Aneuploidy and isochromosome formation in drug-resistant *Candida albicans*. *Rev Science.* 2006 Jul;313(5785):367-370.
60. Coste A, Turner V, Ischer F, Morschhäuser J, Forche A, Selmecki A, Berman J, Bille J, Sanglard D *Genetics.* 2006 Apr; 172(4):2139-56.
61. Anderson JB, Sirjusingh C, Parsons AB, Boone C, Wickens C, Cowen LE, Kohn LM *Genetics.* 2003 Apr; 163(4):1287-98.
62. Cowen LE, Lindquist S *Science.* 2005 Sep 30; 309(5744):2185-9.
63. Forche A, Schönian G, Gräser Y, Vilgalys R, Mitchell TG *Fungal Genet Biol.* 1999 Nov; 28(2):107-25)- (Chen X, Magee BB, Dawson D, Magee PT, Kumamoto CA *Mol Microbiol.* 2004 Jan; 51(2):551-65.
64. Anna Selmecki, Anja Forche, and Judith Berman Aneuploidy and Isochromosome Formation in Drug-Resistant *Candida albicans* *Science* 21 July 2006:Vol. 313 no. 5785 pp. 367-370.

65. Aguilar A., Camacho J.R., Chino S., Jácquez P. y López M.E. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Información Etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.
66. Effect of *Hypericum perforatum* (St John's Wort) in Major Depressive Disorder. Hypericum Depression Trial Study Group, April 10, 2002, Vol 287, No. 14 Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=194814>.
67. R. Giordani, P. Regli, J. Kaloustian, C. Mikail, L. Abou, H. Portugal. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. Phytotherapy Research, December 2004, Vol 18, Is 12, p. 990-995.
68. Schindler, G., Patzak, U., Brinkhaus, B. et al. Urinary excretion and metabolism of arbutin after oral administration of *Arctostaphylos uvae ursi* extract as film-coated tablets and aqueous solution in healthy humans. J Clin Pharmacol 2002; 42: p.920-927.
69. World Health Organization. *Aetheroleum Melaleucae Alternifoliae*. WHO monographs on selected medicinal plants. WHO Graphics, Geneva 2002; p.172-179).
70. Carson, C. F. Riley. T.V. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. Contact Dermatitis 2001; 45 p.65-67.
71. Bassett, I.B., Pannowitz, Baretson, R.S. A comparative study of tea-tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acne. Med J Australia 199; 153: p.455-458.
72. José Waizel Bucay, Salomón Waizel Haiat. Algunas plantas utilizadas popularmente en el tratamiento de enfermedades respiratorias. Parte I. AN ORL MEX Vol 50, No 4, 2005.
73. Massardo F, Rozzi R. Usos medicinales de la flora nativa chilena. ambiente y desarrollo. 1996 sep; Vol12(3):p.76-81.

74. Dawidowicz A, Rado E, Wianowska D, Mardarowicz M, Gawdzik J. Application of PLE for the determination of essential oil components from *Thymus vulgaris* L. *Talanta*. 2006; 76 (4): 878-884.
75. Winward GP, Avery LM, Stephenson T, Jefferson B. Essential oils for the disinfection of grey water. *Water Res*. 2008; 42 (8-9): 2260-2268.
76. Rota MC, Herrera A, Martínez RM, Sotomayor JA, Jordán MJ. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 2008; 19 (7): 681-687.
77. Barrera Laura, García Laura J. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (Carica papaya) *Revista Científica UDO Agrícola*. 2008. Vol. 8, Nº1. p. 33-41. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3094829>.
78. Estrada Orozco Silvia. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro en los extractos de romero (*rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). Tesis de grado previa a la obtención del título de bioquímico farmacéutico. Río Bamba, Ecuador 2010.
79. Estrada Silvia. Determinación de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de Romero (*Rosmarinus officinalis* y Tomillo) y Tomillo (*Thymus vulgaris*). Junio 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/699>.
80. Monografía oficial instituto de salud pública de Chile. Disponible en: http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fce.77s/doc/monografias/Buddleja_Globosa.pdf.
81. Marco. Plantas Medicinales de uso en Chile. 1º Ed. Chile, 2001. p. 69-72.
82. Alonso Jorge. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. 1º Ed. Argentina, Rosario. Corpus Libros, 2004. p. 738-739.
83. Apablaza C., Delporte C., Negrete R., Erazo S., Miranda H.F et al. *Buddleja globosa*: Variación estacional y su influencia sobre las

- propiedades analgésicas. Memoria para optar al título de Químico Farmacéutico, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. Cesia Apablaza. En redacción 2005-2006.
84. Delporte C., Negrete R., Saavedra A., Peredo N., et al. Impacto de la variación estacional en la eficacia de *Ugni molinae* y *Buddleja globosa*, especies nativas chilenas. Simposio FAPRONATURA 20 al 24 de noviembre de 2006, Varadero, Cuba.
85. Montes Marco. Plantas Medicinales de uso en Chile. 1° Ed. Chile, 2001. p. 69-72.
86. Anna Herman-Antosiewicz, Anna Kawiak, Jędrzej Antosiewicz. An Evidence-based Perspective of *Allium Sativum* (Garlic) for Cancer Patients. Evidence-based Anticancer Materia Medica. Evidence-based Anticancer Complementary and Alternative Medicine 2011, pp 193-223.
87. Ramírez Olvera, María del Carmen Patiño Pocha, María Mercedes Maldonado Moreyra, Lourdes. Tratamiento tópico de vaginitis bacteriana con extracto de ajo. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, Julio 2002; pp 11-12. Disponible en: <http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI12739.pdf>.
88. Eliades Ledezma¹, Rafael Apitz-Castro². Ajoeno, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. Revista Iberoamericana de Micología, volume 23, Issue 2, June 2006, pp 75–80.
89. María Ibelise de Gonzales, Mireya Mendoza, María Batardo de Albornoz y Rafael Apitz-Castro. Efectos del ajoeno sobre dermatofitos, *Candida albicans* y *Malassezia furfur*. Rev Iberoam Micol 1998, vol.15: p. 277-281.
90. Sarelle Carrero, Hilda Romero, Rafael Apitz-Castro. Efecto inhibitorio in vitro de ajoeno sobre aislamientos de *Candida* recuperados de secreciones vaginales. *Revista Iberoamericana de Micología*, Volume 26, Issue 3, Pages 189-193.

91. S Yoshida, S Kasuga, N Hayashi, T Ushiroguchi, H Matsuura, and S Nakagawa. Antifungal activity of ajoene derived from garlic. *Applied and Environmental Microbiology*. Mar 1987; vol. 53(3): 615–617.
92. Harris, J.C., Cottrell, S. L., Plummer, S. y Lloyd D. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57: 282 – 286.
93. L.A. Betancur Galvis A.C. Mesa Arango, J.G. Bueno Sánchez. Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap*, Diciembre 2004; Vol.17 (Nº 4): p.325-331.
94. María Ibelise de Gonzales, Mireya Mendoza, María Batardo de Albornoz y Rafael Apitz-Castro. Efectos del ajoeno sobre dermatofitos, *Candida albicans* y *Malassezia furfur*. *Rev Iberoam Micol* 1998, vol.15: p. 277-281.
95. Khodavandi A, Alizadeh F, Harmal NS, Sidik SM, Othman F, Sekawi Z, Chong PP. Expression analysis of SIR2 and SAPs1-4 gene expression in *Candida albicans* treated with allicin compared to fluconazole. *Trop Biomed*. 2011 Dec;28 vol.3. p.589-98.
96. Khodavandi A, Harmal NS, Alizadeh F, Scully OJ, et al. Comparison between allicin and fluconazole in *Candida albicans* biofilm inhibition and in suppression of HWP1 gene expression. *Phytomedicine*. 2011 Dec 15;19(1). p.56-63.
97. Manual de Normas de Manejo y Tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), 2008. Disponible en: <http://www.minsal.gob.cl/portal/url/item/85381414c56411a9e04001011e015920.pdf>.
98. Ministerio de Salud (Minsal). Departamento del Programa Nacional de Prevención y Control del VIH/SIDA e ITS - Atención de las ITS. Disponible en: http://www.minsal.cl/portal/url/page/minsalcl/g_conozcanos/g_subs_salud_publica/g_divisiones/g_diprece/g_conasida/conasida_atencionits.html.

99. Determinación del efecto fungicida de extractos de canelo (*Drimys winteri*), matico (*Buddleja globosa*), peumo (*Cryptocarya alba*), boldo (*Peumus boldus*) y bailahuen (*Haplopappus taeda* y *H. multifolius*) sobre hongos fitopatógenos (*Fusarium oxysporium*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium spp.*).
extraído de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IscScript=BIBACL.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=033019>).

IX. ABREVIATURAS

AE: Aceites Esenciales

ATCC: American Type Culture Collection.

CMF: Concentración mínima fungicida.

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

DEIS: Departamento de estadísticas e información de salud.

DMSO: Dimetil Sulfoxido.

ITS: Infección de transmisión sexual.

LCR: Líquido céfalo raquídeo.

MINSAL: Ministerio de Salud.

OMS: Organización mundial de la salud.

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

VVC: Vulvovaginitis candidiasica.

UNACESS: Unidad de atención y control de salud sexual.

X. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

American Type Culture Collection Centro de biorecursos global sin fines de lucro y además es una organización investigadora que se preocupa de proveer productos biológicos, servicios técnicos y programas de educación¹⁴.

Antidepresivos: Son medicamentos que actúan sobre el sistema nervioso central, que se utilizan para el tratamiento de condiciones neurológicas o psiquiátricas (psicofármacos) que pueden provocar trastornos depresivos, los que pueden aparecer en forma de uno o más episodios a lo largo de la vida¹⁵.

Antifúngico: medicamento o sustancia que combate los hongos o evita su aparición¹⁶.

Antibacteriano: Se dice de la sustancia química producida por un ser vivo o fabricada por síntesis, capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos, por su acción bacteriostática, o de causar la muerte de ellos, por su acción bactericida¹⁶.

Antimicóticos: Que impide el crecimiento de los hongos y los mata¹⁷.

Antioxidante: Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor)¹⁶.

Antiviral: Dicho de un medicamento, de una sustancia, de un procedimiento, que se utilizan para combatir los virus¹⁶.

Balanoprepucial: Relativo o perteneciente al pene y al prepucio.

Biopelícula: Es un ecosistema microbiano organizado, conformado por uno o varios microorganismos asociados a una superficie viva o inerte, con características funcionales y estructuras complejas. Este tipo de conformación

microbiana ocurre cuando las células planctónicas se adhieren a una superficie o sustrato, formando una comunidad.¹⁸

Candidiasis: Infección de la piel y las mucosas producida por hongos del género *Candida*.¹⁶

Concentración de extractos aplicados: determina las diversas concentraciones que se utilizarán en cada ensayo o experimento para establecer si a mayor concentración de estos, existe menor resistencia por parte del hongo *Cándida albicans*.

Concentración mínima fungistática: define la menor concentración del extracto natural o del fluconazol que resulta en impedir o inhibir la actividad vital de los hongos en comparación con el crecimiento en los pocillos control que no han sido tratados a las 48 horas post siembra.

Concentración mínima fungicida: Concentración más baja de una sustancia con acción fungicida (antifúngico o antimitótica) para impedir el crecimiento o eliminar los hongos al cabo de 1 semana.

Concentración mínima inhibitoria: En microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano, el que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo, después de su incubación. La concentración mínima inhibitoria es importante en diagnósticos de laboratorio para confirmar la resistencia de microorganismos a un agente antimicrobiano y además para monitorizar la actividad de los nuevos agentes antimicrobianos.¹⁹

Comensal: Organismo que obtiene alimentos o protección a expensas de otro sin producirle daño ni beneficio.

Cosmopolitas: Dicho de un ser o de una especie animal o vegetal: Aclimatado a todos los países o que puede vivir en todos los climas.¹⁶

Departamento de Estadísticas e Información de Salud: Genera informes estadísticos para la formulación de políticas, planificación y ejecución, de las diversas acciones de salud.²⁰

Dermatofitosis: son un conjunto de micosis superficiales que afectan a la piel, específicamente a la epidermis, y sus anexos (uñas y pelos). Son causadas por un grupo de hongos parásitos de la queratina llamados dermatofitos.²¹

Enfermedades: Alteración más o menos grave de la salud.¹⁶

Efectos Secundarios: Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es cualquier reacción nociva no intencionada que aparece a dosis normalmente usadas en el ser humano para profilaxis, diagnóstico o tratamiento para modificar funciones fisiológicas.

Embriotóxico: Este adjetivo se aplica a cualquier sustancia dañina para un embrión en cualquier sentido²².

Endocarditis: Es una enfermedad que se produce como resultado de la inflamación del endocardio, es decir, un proceso inflamatorio localizado en el revestimiento interno de las cámaras y válvulas—bien sea nativas o protésicos—cardíacas. Se caracteriza por la colonización o invasión de las válvulas del corazón formando vegetaciones compuestas por plaquetas, fibrina y microcolonias de microorganismos y, ocasionalmente, células inflamatorias.²³

Endógena: Que se origina en virtud de causas internas.²⁴

Ergosterol: es un componente de las membranas celulares de los hongos, que cumple la misma función que el colesterol realiza en las células animales²⁵.

Esteroles: son esteroides con 27 a 29 átomos de carbono. Su estructura química deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano, una molécula de 17 carbonos formada por tres anillos hexagonales y uno pentagonal. El esteroles más

común en los humanos y animales es el colesterol, que forma parte de las membranas de todas las células eucariotas y micoplasmas.

Estrato córneo: Es la última capa y más superficial de la piel. Está formada por 15 o 20 asientos, colocados unos encima de otros como las tejas de un tejado. Estos asientos están compuestos por células muertas, aplanadas, sin núcleo y queratinizadas.

Exógeno: De origen externo¹⁶.

Expectorantes: Que hace Arrancar y arrojar por la boca las flemas y secreciones que se depositan en la faringe, la laringe, la tráquea o los bronquios¹⁶.

Extractos: Producto sólido o espeso obtenido por evaporación de un zumo o de una disolución de sustancias vegetales o animales¹⁶.

Exudados: Producto de la exudación, generalmente por extravasación de la sangre en las inflamaciones¹⁶.

Fitofármaco: "Fito": palabra griega que significa "planta"; "Fármaco": es el medicamento. Por lo tanto, se define como medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente de plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas.²⁶

Gemación: Modo de reproducción asexual, propio de muchas plantas y de muchos animales invertebrados, que se caracteriza por separarse del organismo una pequeña porción del mismo, llamada yema, la cual se desarrolla hasta formar un individuo semejante al reproductor¹⁶.

Hidrófilo: Dicho de una materia: Que absorbe el agua con gran facilidad¹⁶.

Hipoglucemias: Nivel de glucosa en la sangre inferior al normal¹⁶.

Infusión: Bebida que se obtiene de diversos frutos o hierbas aromáticas, como té, café, manzanilla, etc., introduciéndolos en agua hirviendo¹⁶

Inflorescencia: Es la disposición de las flores sobre las ramas o la extremidad del tallo; su límite está determinado por una hoja normal.¹⁶

Inmunocompetentes: Se dice que una persona es inmunocompetente cuando todas sus funciones de defensa están presentes en cantidad y calidad normal y suficiente.

Inmunodeprimidos: Organismo que padece fuerte disminución de la respuesta inmunitaria¹⁶.

In vitro: Producido en el laboratorio por métodos experimentales¹⁶.

Infecciones de Transmisión Sexual: Grupo heterogéneo de enfermedades transmisibles, que afectan a hombres y mujeres, cuyo elemento en común es la transmisión por vía sexual²⁷.

Liliáceas: Familia de plantas angiospermas monocotiledóneas, generalmente herbáceas, anuales o perennes, de raíz bulbosa y fruto capsular, como el ajo, el espárrago y el lirio²⁸.

Líquido ceforraquídeo: Líquido de color transparente, que baña el encéfalo y la médula espinal. Circula por el espacio subaracnoideo, los ventrículos cerebrales y el canal ependimario sumando un volumen entre 100 y 150 ml, en condiciones normales²⁹.

Microbiota: Es el conjunto de microorganismos que se localizan de manera normal en distintos sitios del cuerpo humano.

Microorganismos: Nombre genérico que designa los seres organizados solo visibles al microscopio; p. ej. Las bacterias, los infusorios, las levaduras, etc¹⁶.

Mutágeno: Agente capaz de producir mutaciones¹⁶.

Onicomycosis: es una infección superficial en las uñas, que dejan como apariencia el grosor, y el color de manera anormal, tanto de las manos como de los pies,

causadas por tres tipos de hongos: dermatofitos (de los géneros *Trichophyton* y *Microsporum*), levaduras (*Cándida* en personas inmunosuprimidas).

Organización Mundial de la Salud: Autoridad directiva y coordinadora de la acción sanitaria en el sistema de las Naciones Unidas.

Principio Activo o Componente Activo: Concepto que se emplea en el ámbito de la química para nombrar al componente que porta las cualidades farmacológicas presentes en una sustancia. Esto quiere decir que el principio activo de un fármaco es aquel que permite prevenir, tratar o curar una enfermedad u otro tipo de trastorno de salud.

Resistencia Farmacológica: Capacidad de los organismos patógenos para resistir los efectos de fármacos que previamente eran tóxicos para ellos.

Sustancias naturales: Aquella sustancia que se encuentra en el ambiente y que no requiere de un proceso químico para obtenerse.

Teratógeno: Agente que produce malformaciones en el embrión o feto¹⁶.

Tratamientos: Conjunto de medios que se emplean para curar o aliviar una enfermedad¹⁶.

Tromboflebitis: Inflamación de las venas con formación de trombos¹⁶.

Vulvovaginitis Candidiasica: Es una infección de mucosa vaginal y piel vulvar producida por especies de *Candida*.

XI. MARCO TEÓRICO

La vagina alberga en su interior una cantidad importante de especies bacterianas y cuantitativamente millones de bacterias y hongos. Los rangos de prevalencia de algunas bacterias son bastantes amplios, especialmente aquellas potencialmente patógenas como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides fragilis*, *Mycoplasma* y *Ureaplasma*. Por esto hay que aceptar que en la flora vaginal hay bacterias potencialmente patógenas que se comportan como comensales y en determinadas condiciones pueden invadir el organismo causando serios daños o incluso la muerte. En situaciones normales esto no ocurre porque existe un delicado equilibrio en la flora vaginal y entre ésta y el huésped a través del epitelio vaginal, constituyendo un verdadero ecosistema. Los microorganismos de la vagina necesitan un mínimo de requerimientos: macro y micronutrientes, temperatura, humedad, pH y tensión de oxígeno adecuado. El epitelio vaginal proporciona estas condiciones¹⁴.

El pH vaginal es una característica especial de este nicho. El pH normal es de 4.5 a 5.0. Fuera de ese rango pueden producirse alteraciones cualitativas de la flora y a su vez las alteraciones de la flora pueden alterar el pH de la vagina. El envejecimiento, la actividad sexual y las duchas vaginales pueden influir en el pH. La inactividad sexual y la atrofia vaginal en la posmenopausia producen aumento de pH. Las duchas vaginales bajan el pH. La rara asociación entre vaginosis y candidiasis vaginal se debe a la producción de putresceína y cadaverina, aminas que son liberadas por algunas bacterias que predominan en la vaginosis y que inhibe el crecimiento de *Candida albicans* en su forma patógena o tubular.¹⁴

La interacción entre microorganismos propios de la flora vaginal y de la pared vaginal, muchas veces impiden el crecimiento de ciertos organismos, así se observa con algunas bacterias que producen una sustancia llamada candicidina que inhibe el crecimiento de *Candida albicans*. Esto se expresa claramente

cuando se administran antibióticos de amplio espectro que elimina estas bacterias haciendo que inmediatamente se desarrollen las levaduras.¹⁵

En cuanto a la interrelación de la flora vaginal con el sistema inmune, en el epitelio vaginal existen inmunoglobulinas que actúan como factor estabilizador y que impiden el paso de bacterias más allá de esa barrera. Estos anticuerpos (IgA-1 por ejemplo) pueden ser inactivados por proteasas bacterianas. Las endotoxinas y los polisacáridos de la pared celular de las bacterias pueden tener un efecto mutagénico en los linfocitos B. Los bacteroides producen succinato que tienen efecto antifagocitario. En las pacientes con diabetes mellitus se producen trastornos metabólicos que llevan a deficiencias en el sistema inmunitario, lo que se manifiesta en una mayor tolerancia a las infecciones, especialmente por *Candida albicans*.¹⁵

Las infecciones de transmisión sexual (ITS), incluido el VIH, representan un problema de salud pública importante en términos de morbilidad y mortalidad (infertilidad, enfermedad pélvica inflamatoria, cáncer de cérvix, SIDA, etc.). Desde principios de los años noventa ha aumentado de forma notable el número de casos declarados de ITS globalmente.¹⁶

Como se indicaba anteriormente las ITS son una problemática a nivel mundial. Así lo demuestran estimaciones realizadas en el año 2005 por la OMS, según las cuales cada año se producen en el mundo 448 millones de nuevos casos de ITS curables incluyendo sólo la Sífilis, Gonorrea, Clamidiasis y Tricomoniasis, en adultos entre 15 y 49 años y que el año 2008 aumentó el número de nuevos casos a 498.9 millones de adultos en el mismo rango etario esto es un aumento del 11.3%.^{30; 31}

De las ITS no notificadas en este grupo, la candidiasis o VVC no presentan disponibles porcentajes a nivel mundial, ya que son enfermedades de notificación en establecimientos centinelas, pero que sin embargo van en aumento de la mano de las ITS nombradas en primera instancia.

Las cifras estimadas que se manejan, indican que un 75% de las mujeres experimentan al menos un episodio de VVC durante su vida y 40%-45% experimentarán dos o más episodios. En un pequeño porcentaje de mujeres (probablemente <5%) este cuadro será recurrente.³²

Levaduras del género *Candida* están frecuentemente presentes en humanos de forma comensal, especialmente en la composición de la microbiota normal de la piel y de mucosas, como en la cavidad bucal, en tractos gastrointestinales y en la vagina, estando en equilibrio con la microbiota normal y con el sistema inmune del hospedero.¹⁷

Sin embargo, determinados factores capaces de producir alteraciones del estado fisiológico o inmune del hospedero pueden favorecer el cambio de estado comensal de estas levaduras hacia un estado patogénico, haciéndolas capaces de causar desde infecciones superficiales de las mucosas hasta, en algunos casos, infecciones sanguíneas diseminadas.¹⁸

El género *Candida* está formado por 163 especies, de las cuales aproximadamente 10 son las responsables de las infecciones en el hombre, describiéndose a *C. albicans* como la especie más importante. Estos agentes son cosmopolitas y forman parte de la microbiota del hombre y animales, colonizando mucosas del tracto intestinal (50 a 70%), boca (30 a 50%), vaginal (5 a 30%) y piel (4 a 7%).¹⁹

Candida albicans, la más frecuente causante de la candidiasis vaginal, es una levadura oval, produce un pseudomicelio en los cultivos, tejidos y exudados, se reproduce por gemación. Miembro de flora normal de mucosas del aparato respiratorio, digestivo y genital femenino. Puede producir infección sistémica, tromboflebitis, endocarditis, infección ocular (introducida por vía venosa, catéteres, hiperalimentación, agujas, etc).²⁰ La candidiasis vaginal es una infección endógena del tracto genital inferior femenino pues *Candida* pertenece a la flora (no patógena) vaginal que en ciertas circunstancias produce patología.²¹

Aun así la candidiasis podría tener un origen exógeno ya que se encontró 20 % de *Candida spp* en el surco balanoprepucial de parejas con candidiasis vulvovaginal a pesar de que no se la considera de transmisión sexual o se puede considerar exógena también por probable contagio en piscinas, baños, etc.²²

Los mecanismos de defensa en la edad adulta ante la infección micótica incluyen: Desarrollo anatómico de las estructuras vulvoperineales, vello, ácido undecilénico de las glándulas vulvovestibulares, moco cervical con propiedades antimicóticas y antiparasitarias.²³ En el embarazo aumentan las secreciones cervicales y vaginales con disminución de la respuesta local asociado al papel de la progesterona en los linfocitos T y en la actividad anticándida de los polimorfonucleares.²⁴ La hiperglicemia mejora la habilidad de *C. albicans* para ligarse a células del epitelio vaginal.²⁵ Existen diferentes mecanismos de regulación en el ecosistema vaginal normal, como la ácido génesis, la que mantiene un pH entre 3.8 a 4.5, dificultando el crecimiento de especies que no crecen en un ambiente ácido; la producción de H₂O₂ por los *Lactobacillus*, el cual inhibe la proliferación bacteriana.²⁶ La interferencia bacteriana y la presencia de Inmunoglobulina A secretoria (IgAs). Según la sintomatología y los episodios de vulvovaginitis candidiásica se tiene tres grupos de mujeres: a) Mujeres que jamás desarrollarán vulvovaginitis a pesar de ser colonizadas por meses o años con *Cándida*. b) Mujeres con episodios aislados. c) Mujeres con episodios recurrentes (más de tres episodios por año).^{1; 26; 27; 28.; 29}

Además *Candida albicans* es el causal del 85 a 90% de las pacientes cuyos cultivos de hongos son positivos, las especies restantes son *C. glabrata* y *C. tropicalis*.³³

La realidad país nos indica que según el DEIS, e incorporadas a las Normas de Manejo y Tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual, el año 2006 se notificaron 1997 casos de ITS, representando del total un 0.7% los casos en

hombres y 6.1% de mujeres. De los casos de candidiasis notificados (134 en total), 120 son mujeres (89.5%) y 14 son hombres (10.4 %).

Cabe destacar que entre las ITS notificadas, ocupa el 4º lugar en orden descendente.

Por otro lado la candidiasis en neonatología es cada vez más reconocida como causa de sepsis nosocomial en las unidades de cuidados intensivos neonatales²⁶ Aunque *Candida albicans* continua siendo la especie más frecuente, estudios recientes destacan la importancia clínica y epidemiológica de otras especies como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. lusitaniac*.³⁴

La candidiasis sistémica se considera una causa importante de morbilidad y mortalidad neonatal, afectando, principalmente, a recién nacido pre término de muy bajo peso, sometidos durante largo tiempo a ventilación mecánica, nutrición parenteral a través de catéteres intravasculares y uso de antibióticos de amplio espectro.²⁶ Las infecciones por *Candida* estan también ampliamente relacionadas a pacientes inmunodeprimidos.

El tratamiento estándar utilizado para tratar la Candidiasis esta descrita en las Normas de Manejo y tratamiento de Infecciones de Transmisión Sexual (Minsal 2008) y lo que recomienda UNACESS es: “debe contar con un arsenal farmacológico propio para el manejo de patologías específicas”. Dentro de éstas se encuentra el Fluconazol, que se puede administrar de la siguiente manera:

- Tratamiento Candidiasis Genital: Fluconazol 150 mg. Oral Dosis única
- Candidiasis recurrente: Fluconazol 150 mg. Oral 3 días seguidos
- Tratamiento de mantención: Fluconazol 150 mg. Oral 1 vez por semana, 6 meses”.⁵

El Fluconazol pertenece a la familia de los Azoles, estos inhiben a la citocromo P-450-3-A de la célula fúngica, a través de la inactivación de la enzima C-14- α -

dimetilasa, con lo cual se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular.

Debido a la falta de ergosterol se comienzan a acumular esteroides tóxicos intermedios, aumenta la permeabilidad de la membrana y se interrumpe el crecimiento del hongo.³⁶ Pudiéndolo administrar tanto por vía oral o parenteral. Su mecanismo de acción, al igual que la de otros azoles, se basa en la interrupción del paso de lanosterol a ergosterol mediante su unión al citocromo fúngico P-450, lo cual provoca la alteración de la permeabilidad de la membrana fúngica. La absorción del fluconazol es rápida administrado por vía oral, alcanzando la concentración máxima plasmática entre la primera y segunda hora después de la administración sin depender del medio ácido o de la alimentación. A diferencia de los antifúngicos imidazólicos y de otros triazólicos, fluconazol se une poco a las proteínas plasmáticas. Esto hace que haya grandes cantidades de fármaco libre en la circulación y, por consiguiente, una mayor disponibilidad para su distribución tisular mediante difusión pasiva y por el sudor. Alcanza buenos niveles cutáneos y ungueales, penetrando rápidamente, pero es eliminado muy lentamente de la piel permitiendo una administración menos frecuente con una dosis más alta, la concentración en piel es diez veces mayor que en plasma acumulándose en el estrato córneo.³⁷

Prácticamente no es metabolizado y es eliminado por vía urinaria donde los niveles son más elevados que los plasmáticos. Su característica más específica son los buenos niveles que alcanza en el líquido cefalorraquídeo. Al poseer una mayor selectividad por el enzima fúngico los efectos secundarios y las interacciones medicamentosas se reducen. Las reacciones adversas relacionadas con este fármaco son las gastrointestinales y la cefalea. El fluconazol no es embriotóxico o teratógeno en animales, excepto a dosis muy elevadas, y no es mutagénico. Tiene interacciones con diferentes fármacos: rifampicina disminuye los niveles de fluconazol, las sulfonilureas aumentan su vida media produciendo hipoglucemias y cuando se administra con warfarina, aumenta el tiempo de

protrombina. Así mismo, aumenta los niveles de fenitoína y teofilina; sin embargo los niveles de ciclosporina no son prácticamente modificados, lo que hace de fluconazol el fármaco de elección en pacientes trasplantados que sufren una infección fúngica concomitante. La vida media en plasma de fluconazol es de 30 h. En piel se detectan niveles altos hasta 10 días después de terminar la ingesta, lo que permite emplear dosis semanales en el tratamiento de infecciones fúngicas superficiales.³⁸ Se ha empleado sobre todo en el tratamiento de candidiasis sistémicas en pacientes inmunodeprimidos con excelentes resultados, siendo el fármaco de referencia para el tratamiento de las candidiasis sistémicas, tanto en pacientes inmunocompetentes como, y sobre todo, inmunodeprimidos, salvo aquellas cuyo agente es *Candida krusei*, que es una especie resistente. Su empleo se ha extendido también a las dermatofitosis con buenos resultados, estando en estudio diversas pautas posológicas semanales (dosis de 150, 300 o 450 mg) aprovechando su particular farmacocinética para el tratamiento de las onicomycosis, pero los resultados todavía son limitados aunque con buenas perspectivas. Alcanzando niveles de curación similares a los obtenidos con terbinafina o itraconazol.³⁹

En cuanto a la sensibilidad y resistencia, especialmente en cepas de *Candida*, un estudio realizado *in vitro* revela que el fluconazol es más sensible en cepas de *Candida albicans* y *Candida parapsilosis* y que tiene una sensibilidad de intermedia a resistente para *Candida krusei*; Para las cepas que fue resistente este medicamento fueron *Candida galbrata* y *Candida tropicalis*. En este mismo estudio además se evaluó los niveles *in vitro* del fluconazol y otros antifúngicos como la anfotericina B, 5-fluorocitosina, itraconazol, ketoconazol y tioconazol, con niveles correspondientes al 69,7%, ocupando el tercer lugar por sensibilidad. Los niveles de resistencia en cambio, alcanzan un 9% para el fluconazol.^{40; 41; 42}

La resistencia a los escasos antimicóticos disponibles en la actualidad es un tema preocupante, sobre todo en lo respectivo a micosis por *Candida albicans* en humanos, ya que los antimicóticos tienen un rango de toxicidad muy cercano a la sensibilidad de nuestras células. Se ha caracterizado un mecanismo de recombinación genética presente en *Candida albicans* que potencia la expresión de resistencia a fármacos antifúngicos, principalmente mediante modificaciones en la síntesis de lípidos de membrana (ergosterol) y proteínas de membrana (transportadores tipo ABC, que expulsan tóxicos).⁴³

La evolución de la resistencia a los azoles puede ocurrir a través de diferentes vías, por ejemplo, aumento de la actividad de factores de transcripción que regulan las bombas de infusión⁴⁴ o mutaciones en la ruta biosintética del ergosterol⁴⁵ y puede ser facilitado por la proteína de choque térmico Hsp90⁴⁶ Aunque la cepa *Candida albicans* no tiene un ciclo sexual completo, encuestas de cepas clínicas sugieren que tolera flexibilidad genoma que genera un nivel moderado de la diversidad genética seleccionable.⁴⁷

Se ha encontrado que la aneuploidía en general y una aneuploidía segmentaria específica, que consiste en un isocromosoma compuesto por los dos brazos izquierdos del cromosoma 5, se asociaron con resistencia a los azoles. Las formas isocromosoma alrededor de un único centrómero flanqueado por una repetición invertida y se encontró como un cromosoma independiente o fusionarse en el telómero de un homólogo de longitud completa del cromosoma 5. Incrementos y disminuciones en la resistencia a los medicamentos fueron fuertemente asociada con la ganancia y la pérdida de este isocromosoma, que lleva los genes que expresan la enzima en la vía de ergosterol dirigida por azoles, bombas de flujo, y un factor de transcripción que regula positivamente un subconjunto de los genes de la bomba de flujo.⁴⁸

Los productos naturales empleados con el objetivo de mejorar los males que aquejaban al hombre le han acompañado en el transcurso de los siglos. Ya desde

la Edad Antigua la utilización de las plantas y algunos de sus derivados eran empleados en China, Babilonia y Egipto. El primer texto escrito en relación con la medicina sobre la base de plantas se reporta en la arcilla, en la cual se agrupaban una serie de tabletas grabadas con caracteres cuneiformes sobre las plantas y los autores de estas notas, redactadas 3 000 años a.n.e. Desde los sabios del Alto Egipto hasta los druidas místicos de los bosques galos, desde los médicos chinos de hace 5 000 años hasta los grandes científicos del siglo XVIII, no se ha dejado nunca la búsqueda hacia el conocimiento de las plantas y sus virtudes terapéuticas.⁴⁹

En la actualidad la utilización de sustancias naturales, especialmente las de origen vegetal, en el tratamiento de diferentes enfermedades constituye un desafío en la medicina y se ofrece como una alternativa que va en aumento, especialmente en aquellas enfermedades en las cuales los microorganismos se han hecho resistentes a los tratamientos actuales; se sabe que muchos de esto son capaces de desarrollar cambios en sus estructuras para crear resistencia farmacológica. Por esta razón es que se han realizado diversos estudios con plantas y diferentes extractos de estas, las cuales tienen un alto potencial para actuar sobre microorganismos y que han sido probados tanto in vitro como in vivo con buenos resultados.

Plantas productoras de extractos útiles, que definidos como su principio activo, pueden actuar como antimicrobianos, anti fúngicos, antioxidantes, expectorantes, e incluso antidepresivos, como por ejemplo el compuesto de hipericina, una antraquinona aislada de planta de San Juan (*Hypericum perforatum*), utilizado como un antidepresivo.⁵⁰

Como agentes antimicrobianos, el tomillo (*Thymus vulgaris*)⁵¹ el cual también actúa como antifúngico, la manzanilla (*Matriarca chamomilla*), cuyo principio activo, la arbituna, se ha utilizado a lo largo de los años en el tratamiento de la infección urinaria.⁵²

Se han establecido estudios en el cual el aceite esencial del té verde, como tratamiento para el acné, es efectivo, este si tarda más tiempo en la mejoría de la enfermedad provoca menos efectos secundarios que los tratamientos comunes para el acné.^{53; 54}

En Australia se usa como antifúngico, un fitofármaco obtenido de la destilación de las hojas de la planta australiana *Melaleuca alternifolia*, de la cual se obtiene el aceite esencial del té, este fitofármaco mostro una actividad antimitótica, antimicrobiana y antiinflamatoria. El aceite se utiliza en tratamientos de infecciones en la piel por hongos de *Candida* y *Malassezia*, y en las onicomicosis por dermatofitos.⁵⁵

De las enfermedades que mas prevalecen en el mundo el resfrió, es el más común, el asma, tos, gripe, rinitis, etc. El cual, muchas veces no tiene un medicamento realmente efectivo para su mejoría, sin embargo, desde tiempos remotos las personas, y sobre todo las mujeres adultas han utilizado diversas hierbas en forma de infusión para curar o mejorar la gravedad de este cuadro, como la amapola, el tomillo, ajo y la manzanilla.⁵⁶

Estos ejemplos dan cuenta del poder indudable que puede tener el reino vegetal, como una fuente potencial de tratamientos a futuro en la medicina.

En Chile se registra el uso de un 70% de plantas medicinales, principalmente especies nativas endémicas, con mayor frecuencia en zonas rurales y marginales no obstante cada vez es mayor el uso y acceso a extractos naturales de la población en general, que sustentada en las bases científicas y reconocidas por el Ministerio de Salud que a mediados de los años 90 realizó un catastro de las plantas medicinales utilizadas empíricamente por la población, de las cuales 130 tenían alguna validez científica. Este gran paso en la medicina natural herbolaria o de fitofármaco nos propone el uso de la naturaleza como una gran fuente de apoyo para patologías tan comunes como son las producidas por hongos.⁵⁷

El Tomillo (*Thymus vulgaris L*) es una planta cultivada oriunda de la región mediterránea occidental en especial del sur de Italia. Prefiere climas cálidos, suelos ligeros, ricos, calcáreos y fértiles. Se propaga por semillas las que tardan entre 7 y 21 días en germinar, o por división de plantas adultas. Para obtención del aceite esencial el material recopilado se procesa de inmediato; para uso doméstico se seca la planta a la sombra o en secadoras a no más de 40°C. En medicina popular la infusión de las partes aéreas de esta planta se emplea para tratar malestares digestivos (cólicos, diarrea, dispepsia, flatulencia, parásitos, vómitos), respiratorios (amigdalitis, laringitis, bronquitis, catarro, tos, resfrío); por vía tópica una infusión más concentrada se utiliza para lavar heridas y ayudar a su cicatrización, tratar eczemas, psoriasis, hacer enjuagues contra la gingivitis, el mal aliento, y en forma de compresas para calmar dolores reumáticos.⁵⁸

A lo largo del tiempo se han realizado variados estudios sobre otras propiedades que podría presentar el *Thymus vulgaris L*, como fungicida. Los estudios de actividad antifúngica del Aceites Esenciales (AE) de *T. vulgaris* y *C. citratus*, y sus componentes mayoritarios, timol y citral, muestran que todos son activos contra *C. acutatum* bajo condiciones *in vitro*. La actividad observada puede ser atribuida a daños letales sobre la célula fúngica, ya que se alteran la capacidad reproductiva y germinativa; sin embargo, no se cuenta con la información adecuada que posibilite determinar el sitio o sistemas biológicos afectados por estos compuestos.¹²

Estudios de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, se evalúa la actividad antifúngica contra la especie *C. acutatum* de los A.E. de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios, timol y citral. Los resultados demuestran que el timol a 125 mg/L y el citral a 300 mg/L inhiben el crecimiento micelial completamente durante once días de incubación.¹³

Además el efecto antifúngico de aceites esenciales y sus compuestos fue investigado en bioensayos de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium sp.*

.Durante ocho días de incubación se midió el diámetro de la colonia y se determinó la tasa de crecimiento micelial. En general, el mejor efecto antifúngico fue observado con el aceite de *Thymus vulgaris*, el cual presentó una total inhibición a 200, 250 y 300 µg/ml.⁶¹

La investigación de la actividad antibacteriana “in vitro” de los extractos de Romero y Tomillo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae*. ATCC 13883, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Pseudomonas aeruginosa*.⁶²

En esta investigación para el efecto se obtuvo los extractos por maceración de las hojas y tallos en un balón aforado con hexano, alcohol y agua, luego se realizó el control de calidad y se evaporó el solvente a baño María. Posteriormente se usó tres concentraciones diferentes y la mezcla de los extractos blandos frente a las distintas bacterias y se comprobó sus propiedades antimicrobianas utilizando el método de Mitscher el cual consiste en la determinación del crecimiento de los microorganismos en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano en este caso los extractos, que se encuentran diluidos en el medio de cultivo. Luego de 24 y 48 horas de incubación; se observó que los extractos de ambas plantas presentan actividad antibacteriana destacándose la mezcla de los extractos hexánicos a concentraciones de 10000 y 1000 µg / mL frente a *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Pseudomonas aeruginosa* debido a los compuestos fenólicos como el timol, carvacrol y cineol presentes en el aceite esencial por lo que se recomienda la utilización de la mezcla de los extractos de Romero y Tomillo en infecciones causadas por bacterias y hongos.⁶³

El A.E. de tomillo, presenta como componente mayoritario el timol y en algunas variedades su composición puede alcanzar valores hasta del 80%.⁵⁸ Tanto los A.E. obtenidos de las especies de *Thymus*, como el timol, han sido reconocidos por su actividad antibacteriana y antifúngica, razón por la cual se emplean

industrialmente en la preparación de desinfectantes de uso humano, enjuagues bucales y otros agentes antimicrobianos utilizados a nivel doméstico.^{59; 60}

Otra planta de interés es el matico cuyo nombre científico *Buddleja globosa* Hope. Conocido además por sus nombre vulgares: Matico chileno, pañil, palguín, yerba del soldado, chuzalongo (español), migla (Ecuador), matico (portugués), matico (inglés), maticobaum (alemán), matico (italiano), matico(francés).⁶⁴

Su hábitat es Chile, Perú y Argentina. En Chile habita desde Santiago hasta la Patagonia, generalmente en sitios húmedos, a la vera de los caminos matorrales cordilleranos y plantaciones de piretro.^{65; 66}

Se postula que su composición varía dependiendo de la época de recolección afectando sus propiedades farmacológicas (hojas recolectadas en otoño y en verano). Por lo que es muy importante estandarizar química y farmacológicamente un extracto activo, para el desarrollo de un producto farmacéutico con efectos analgésicos y antiinflamatorios de máxima eficacia.^{67; 68}

Presenta compuestos de tipo:

- Iroides: se comportan como antibacterianos,
- Fenilpropanoides: bactericidas.
- Angarósido *A*: es un producto activo contra *Staphylococcus aureus*. Recientes investigaciones indican que extractos de raíces de *Buddleja globosa* tienen efectos inhibitorios sobre algunas enzimas implicadas en el proceso inflamatorio. Algunos ensayos *in vitro* demostraron actividad antibacteriana contra gérmenes Gram (+) y (-).⁹

Respecto a la actividad antiviral, el extracto acuoso demostró *in vitro* inhibir la replicación del virus de la estomatitis vesicular, pero no demostró actividad sobre la replicación del poliovirus.⁹

Por la habilidad detergente de algunos de sus compuestos que remueven la grasa, barro y bacterias del tejido, la *Buddleja globosa* actúa como antibacteriano.^{10; 11}

También se ha evaluado la actividad antifúngica del matico, sobre hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporium*, *Botrytis cinerea* y *Penicillium spp*, obteniendo los extractos a través de maceración en frío con metanol, que luego se llevaron a seco con evaporador rotario y posteriormente se liofilizaron. Este ensayo utilizó el método de difusión en Agar, específicamente en Agar Papa Dextrosa como medio de cultivo. Los inóculos se prepararon en solución de agua destilada más Tween-20 y se estandarizaron con la cámara de Neubauer entre 65.000 y 150.000 conidias/ml. Las concentraciones de extractos utilizados en los diferentes ensayos fueron 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 4%, 8%, 12% y 16%. Los ensayos se incubaron 24 horas a 5 grados C y luego 48 horas a 25 grados C, realizando lecturas a partir de las 48 horas en adelante, observando posteriormente halos de inhibición. La concentración de los extractos utilizado fue de 8%. Los ensayos se incubaron 48 horas a 30 grados C con una alta humedad relativa, observando posteriormente zonas de inhibición.⁹⁹

Una de las plantas más usadas por el hombre desde tiempos inmemorables y que ha suscitado especial interés es el *Allium sativum*, comúnmente llamado “ajo”, que es originario del Asia Central; pertenece a la familia de las *Liliáceas*. Esta planta crece en casi todo el mundo, sobre todo en climas templados y cálidos. El ajo tiene un amplio espectro de acciones; se le atribuye efecto antiséptico, antibacteriano, antimicótico y antiviral⁶⁷ además tiene efecto sobre el sistema cardiovascular e inmunitario e incluso se ha descrito actividad anti-proliferativa hacia las células del cáncer.^{6; 70}

El ajo es una planta que ya se conocía y cuyo cultivo se inicia en tiempos remotos, muchas han sido las generaciones que lo han utilizado. Independiente de sus otras acciones terapéuticas, a la par de las culinarias, hoy en día se le atribuye propiedades especialmente antifúngica. Estas propiedades sido objeto de diversos

estudios, los cuales han logrado determinar que ciertas sustancias de su composición, son las que poseen este valor medicinal.⁶ Se conoció la existencia de la alicina, el ajoeno, los tiosulfatos, vitaminas A, B1, B2, C y una gama de compuestos organosulfurados como componentes esenciales. Esta compleja composición hace que el bulbo (cabeza) del ajo ejerza una variada acción en el organismo^{7; 8}. Sin embargo, el ajoeno, un producto de gran estabilidad, que se origina de la ruptura y la reparación no enzimática de la alicina; y la alicina, compuesto que le da el olor característico al ajo.^{71; 72}

Existen diversos estudios en los cuales se ha demostrado actividad biológica *in vitro* del ajoeno. Por ejemplo, frente a dermatofitos, en el que se logró inhibir el crecimiento a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 60 ug/mL y una Concentración Mínima Fungicida (CMF) de 75 ug/mL. También se comprobó el efecto *in vitro* en crema al 0.4% aplicada una vez por día por un lapso de cinco días. Esto logró un bajo porcentaje de curación; sin embargo se obtuvo una excelente respuesta clínica. Existen otros trabajos en los que se señalan las propiedades y potencialidades del ajoeno sobre levaduras del género *Candida*, obtenidas de secreciones vaginales, especialmente en *Candida albicans*, logrando la inhibición del crecimiento fúngico en un 98,2 % a una CMI igual o inferior a 15 ug/ml o 20 ug/ml.^{73; 74; 75}

La alicina, al igual que el ajoeno, tiene un fuerte potencial antifúngico, sin embargo, es más inestable por su degradación.⁷⁶ A pesar de esto, se han establecido comparaciones entre la alicina y el fluconazol, tratamiento estándar para *Candida albicans*, donde, se determina que la alicina es uno de los compuestos volátiles del ajo recién machacado, y cuya acción antimicótica es similar a la del fluconazol, siendo en ocasiones igual o más efectiva que este. Ambos tienen un efecto inhibitorio en ciertos genes implicados en la formación y desarrollo de *Candida albicans*, las cuales en el organismo se reproducen formando una biopelícula, una especie de capa que aumenta su resistencia. Por lo

tanto, con la alicina, siendo extracto de ajo, y con el Fluconazol disminuye la producción de estos microorganismos.^{77; 78}

Con respecto a políticas públicas en Chile, la candidiasis, al ser una ITS está regulada por el Código Sanitario (Párrafo II, del Título II, del Libro I, art nº 38 y 39), el Reglamento sobre Infecciones de Transmisión Sexual (Reglamento 206, art nº 8 y 13) y por las Normas de Manejo y Tratamiento de las Infecciones de Transmisión Sexual del MINSAL, año 2008.

Los documentos nombrados establecen la confidencialidad y la gratuidad de la atención a personas en el Sistema de Salud Público y además la necesidad de que cada Red Asistencial determine los establecimientos que otorgarán atención especializada para este tipo de infecciones.⁷⁹

El encargado de otorgar esta atención es la Unidad de Atención y Control de Salud Sexual (UNACESS), que realiza el acceso a exámenes de pesquisa, diagnóstico, tratamiento y seguimiento, entrega de consejería y medidas preventivas como entrega de condones, formando así una atención integral de salud. El acceso a esta unidad se hace por demanda espontánea, además del sistema de referencia y contrarreferencia desde Atención Primaria o Servicios de Urgencia.⁸⁰

De acuerdo a esto, los profesionales de salud, y en especial el profesional matrona/matrón cumplen un importante rol en el diagnóstico y tratamiento de esta infección, generalmente, producida por la Cepa *Candida albicans*, ya que, como se ha mencionado anteriormente, forma parte de la microbiota normal en la mujer y en la mayoría de los casos la VVC no es adquirida por contacto sexual. Las mujeres adquieren la infección desde el intestino, donde *Candida albicans*, comensal habitual, puede colonizar en forma asintomática la vagina, ano y periné, por un desbalance de la flora local. Como es asintomática, en un principio, es inusual su detección por las mismas usuarias y es cuando asisten a la matrona,

generalmente, por otro motivo de consulta, donde se determina la existencia de Candidiasis, mediante la observación clínica y posteriormente exámenes de laboratorio.⁸¹

Además, del diagnóstico y tratamiento clínico, el profesional matrona/matrón, tiene un gran compromiso con la educación y consejería en salud, que tiene como objetivo corregir conductas, factores de riesgo reproductivo, o patologías que puedan alterar la evolución normal de su diario vivir.⁸²

XII.OBJETIVO GENERAL

- ❖ Estudiar los efectos de extractos naturales de las plantas Tomillo, Ajo y Matico sobre el crecimiento de *Candida albicans* comparada con la utilización del fármaco Fluconazol utilizado como estándar de tratamiento de esta patología.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Demostrar actividad antifúngica de extractos naturales (ajo, matico, tomillo) chilenos sobre *Candida albicans*.
- Corroborar la efectividad del tratamiento estándar Fluconazol sobre *Candida albicans*.
- Comparar los efectos de extractos naturales de plantas con el tratamiento estándar Fluconazol.
- Determinar eficacia fungicida de los extractos de Tomillo en combinación con extractos de Matico y extractos de ajo versus el uso de Fluconazol.

XIII.VARIABLES

Objetivo 1: Demostrar actividad antifúngica de extractos naturales chilenos sobre *Candida albicans*

Nombre	Definición	Dimensión	Indicadores	Subindicadores
Efectividad Tomillo	Acción antifúngica de extracto de tomillo sobre <i>Candida albicans</i> .	Concentración mínima fungistática	Crecimiento 48 hrs Crecimiento a la semana	Mg/ml
		Concentración mínima inhibitoria.	Alta. Media. Baja.	Mg/ml
		Concentración de extracto aplicado.	X X ₁ X ₂	Mg/ml
Efectividad Matico	Acción antifúngica de extracto de matico <i>Candida albicans</i> .	Concentración mínima fungistática	Crecimiento 48 hrs Crecimiento a la semana	Mg/ml
		Concentración mínima inhibitoria.	Alta. Media. Baja.	Mg/ml

		Concentración de extracto aplicado.	X X ₁ X ₂	Mg/ml
Efectividad Ajo	Acción antifúngica de extracto de ajo sobre <i>Candida albicans</i> .	Concentración mínima fungistática	Crecimiento 48 hrs Crecimiento a la semana	Mg/ml
		Concentración mínima inhibitoria.	Alta. Media. Baja.	Mg/ml
		Concentración de compuestos aplicados.	X X ₁ X ₂	Mg/ml

Objetivo 2: Corroborar la efectividad del tratamiento estándar con fluconazol sobre *Candida albicans*

Nombre	Definición	Dimensión	Indicadores	Sub indicadores
Concentración mínima fungistática	Menor concentración del fluconazol que resulta en		Crecimiento 48 hrs	

	<p>impedir o inhibir la actividad vital de los hongos en comparación con el crecimiento en los pocillos control que no han sido tratados a las 48 hrs post ensayo.</p>		<p>Crecimiento a la semana</p>	
<p>Concentración mínima inhibitoria de fluconazol</p>	<p>Concentración más baja de Fluconazol, en la que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de su incubación.</p>		<p>Alta. Media. Baja.</p>	
<p>Concentración de fluconazol aplicada</p>	<p>Diversas concentraciones de fluconazol que serán aplicadas en los diferentes experimentos.</p>		<p>Dosis única vía oral</p>	<p>150 Mg/ml</p>

Objetivo 3: Comparar los efectos de extractos naturales de plantas con el tratamiento estándar Fluconazol.

Nombre	Definición	Dimensión	Indicadores	Sub indicadores		
Eficacia del extracto tomillo versus la del fluconazol	Capacidad de lograr la supresión del crecimiento de <i>Candida albicans</i> con extracto natural de tomillo versus la del fluconazol, a través de parámetros de crecimiento.	Concentración mínima fungistática	Crecimiento a las 48 hrs	Extracto	Fluconazol	
				2	2	
			1	1		
			0	0		
		Concentración de extractos aplicados.	Baja.	Media.	2	2
					1	1
			Alta.	0	0	
				Mg/ml		

Eficacia del extracto de matico versus la del fluconazol	Capacidad de lograr la supresión del crecimiento de <i>Candida albicans</i> con extracto natural de matico versus la del fluconazol, a través de parámetros de crecimiento.	Concentración mínima fungistática	Crecimiento a las 48 hrs	Extracto	Fluconazol
				2	2
			Crecimiento a la semana	1	1
				0	0
		Concentración mínima Inhibitoria (MIC).	Baja.	2	2
			Media.	1	1
			Alta.	0	0
		Concentración de extractos aplicados.	Mg/ml		

Eficacia del extracto de ajo versus la del fluconazol	Capacidad de lograr la supresión del crecimiento de <i>Candida albicans</i> con extracto natural de ajo versus la del fluconazol, a través de parámetros de crecimiento.	Concentración mínima fungistática	Crecimiento a las 48 hrs	Extracto	Fluconazol
				2	2
			Crecimiento a la semana	1	1
				0	0
		Concentración mínima Inhibitoria (MIC).	Baja.	2	2
			Media.	1	1
			Alta.	0	0
		Concentración de extractos aplicados.	Mg/ml		
Score eficacia fungicida.	Clasificación de eficacia fungicida según la sumatoria de los puntajes obtenidos para las variables antes determinadas.		Bueno	6-5	
			Regular	4-3	
			Malo	2-0	

		MIC de fluconazol.	Baja. Media. Alta.	2 1 0
Concentración de compuestos aplicados.	Diversas concentraciones de los extractos que serán aplicados en los diferentes experimentos.	Concentración de compuestos aplicados de la mezcla de los extractos de plantas (tomillo y matico). Concentración de compuestos aplicados del fluconazol.	Mg/dl Mg/dl	2 1 0 2 1 0
Score eficacia fungicida	Clasificación de eficacia fungicida según la sumatoria de los puntajes		Bueno Regular	6-5 4-3

	obtenidos para las variables antes determinadas.		Malo	2-0
--	--	--	------	-----

XIV. Hipótesis de investigación:

H1: Los extractos naturales obtenidos de plantas de tomillo (*Thymus vulgaris*), matico (*Buddleja globosa*) y ajo (*Allium sativum*) tienen igual o mayor efecto que el fluconazol, sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

H0: Los extractos naturales obtenidos de plantas de tomillo (*Thymus vulgaris*), matico (*Buddleja globosa*) y ajo (*Allium sativum*) tienen menos efecto que el fluconazol, sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

XV. RESULTADOS:

Tablas Placas

○ = CRECE

◦ = CRECE POCO

X = NO CRECE

T= tiempo

Vol= Volumen o concentración

C= control de la placa

MATICO

FECHA	Vol.												
26/05	T	C	76	69	62	55	48	44	34	27	20	13	
	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

FECHA	Vol.												
02/06	T	C	200	175	150	125	100						
	48h	○	X	X	X	X	○						

FECHA	Vol.												
09/06	T	C	128	121	114	107	100						
	48h	○	○	○	○	○	○						

FECHA	Vol.												
16/06	T	C	140	137	134	131	128	125	122	119	116	113	110
	48h	○	○	◦	X	X	X	X	X	X	◦	○	○
23/06	48h	○	X	X	○	○	○	X	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.												
07/07	T	C	142	140	138	136	134	132	130	128	126	124	122
	48h	○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

FECHA	Vol.												
18/08	T	C	142	140	138	136	134	132	130	128	126	124	122
	48h	○	◦	◦	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	150	148	146	144	142	140	138	136	134	132	130
		25/08	48h	○	○	○	○	X	X	X	○	X	X
01/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
01/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
08/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	150	145	140	135	130	125	120	115	110	105	100
		22/09	48h	○	X	○	○	X	X	X	X	X	X
22/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
29/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
07/10	48h	X	X	X	○	X	X	X	○	X	X	X	X

FECHA	Vol. T	C	150	147	144	141	138	135	132	129	126	123	120
		09/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
09/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	190	186	182	178	174	170	166	162	158	154	150
		13/10	48h	○	X	X	X	X	○	X	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	180	176	172	168	164	160	156	152	148	144	140
		20/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
20/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
29/10	48h		○	○	○	○	○	X	X	X	○	X	X	X
	1sem		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	48h		○	○	○	○	○	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
03/11	48h		○	X	○	○	○	○	○	○	○	○	○	X
	1sem		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

AJO

FECHA	Vol.													
	T		C	50	41	32	23	13						
26/05	48h		○	○	○	○	○	○						

FECHA	Vol.													
	T		C	60	58	55	53	50						
02/06	48h		○	○	○	○	X	X						

FECHA	Vol.													
	T		C	55	53	51	49	47						
09/06	48h		○	○	○	○	○	○						

FECHA	Vol.													
	T		C	80	76	72	68	64	60	56	51	48	44	40
16/06	48h		○	X	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
23/06	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	84	82	80	78	76	74	72	70	68	66	64
07/07	48h		○	X	○	X	X	X	○	○	○	○	○	
15/07	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
18/08	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	90	88	86	84	82	80	78	76	74	72	70
25/08	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	100	98	96	94	92	90	88	86	84	82	80
01/09	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
01/09	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	85	81	77	73	69	65	61	57	53	49	45
08/09	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	80	77	74	71	68	65	62	59	56	53	50
22/09	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
22/09	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol.													
	T		C	150	145	140	135	130	125	120	115	110	105	100
29/09	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	○
07/10	48h		○	X	X	X	○	○	○	○	○	○	○	X
07/10	48h		○	X	X	X	X	X	○	X	X	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	150	148	146	144	142	140	138	136	134	132	130
		09/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
09/10	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	190	186	182	178	174	170	166	162	158	154	150
		13/10	48h	○	X	X	X	X	X	X	X	○	X
	1sem	○	X	X	X	X	X	○	X	○	X	○	○
15/10	48h	○	X	X	X	X	X	○	X	○	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
15/10	48h	○	X	X	X	○	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

TOMILLO

FECHA	Vol. T	C	50	41	32	23	13						
		26/05	48h	○	X	○	○	○	○				

FECHA	Vol. T	C	50	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40
		09/06	48h	○	○	X	X	X	X	X	X	○	X

FECHA	Vol. T	C	60	57	54	51	48	45	42	39	36	33	30
		16/06	48h	○	X	X	X	○	X	X	X	X	X
23/06	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	66	64	62	60	58	56	54	52	50	48	46
		07/07	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
15/07	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
23/07	48h	○	○	X	○	X	X	○	○	○	○	○	○
18/08	48h	○	X	X	X	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	70	69	68	67	66	65	64	63	62	61	60
		25/08	48h	○	○	○	○	○	X	○	○	○	○
01/09	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
01/09	48h	○	X	○	○	X	X	X	○	○	X	○	○

FECHA	Vol. T	C	75	74	73	72	71	70	69	68	67	66	65
		08/09	48h	○	X	○	○	X	X	X	○	X	X

FECHA	Vol. T	C	75	73	71	69	67	65	63	61	59	57	55
		22/09	48h	○	X	X	X	X	X	X	X	X	○
22/09	48h	○	○	○	X	○	○	○	○	○	○	○	○

FECHA	Vol. T	C	82	80	78	76	74	72	70	68	66	64	62
		29/09	48h	○	X	X	○	○	X	X	X	○	○
29/09	48h	○	X	X	○	X	X	X	○	X	X	○	○

FECHA	Vol. T	C	82	80	78	76	74	72	70	68	66	64	62
		07/10	48h	○	X	X	○	X	X	X	X	X	X
09/10	48h	○	X	X	X	X	○	○	○	○	○	○	○
09/10	48h	○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

FECHA	Vol.		C	76	74	72	70	68	66	64	62	60	50	40
	T													
13/10	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	○	○
	1sem		○	X	X	X	X	○	○	○	○	○	○	○
13/10	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		○	X	X	X	X	X	○	○	X	○	○	○
15/10	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		○	○	X	○	○	X	X	○	○	X	○	○
15/10	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		○	X	X	○	X	X	X	○	○	X	○	○

FECHA	Vol.		C	60	59	58	57	56	55	54	53	52	51	50
	T													
20/10	48h		○	X	X	○	X	X	○	○	○	○	○	○
	1sem		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
20/10	48h		○	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem		○	○	X	X	○	X	X	X	X	○	X	X

FECHA	Vol.		C	60	55	50	45	40	35	30	25	20	15	10
	T													
29/10	48h		○	○	X	X	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
29/10	48h		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem		○	○	○	X	○	○	○	○	○	○	○	○
03/11	48h		○	○	X	X	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem		○	○	○	X	○	○	○	○	○	○	○	○

MEZCLA DE EXTRACTOS: TOMILLO CON MATICO

EN ESTE ENSAYOS SE UTILIZO SIEMPRE TOMILLO 60 UI y control 230 ul los volúmenes con matico son los que se manipularon y que aparecen detallado en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	170	166	163	160	157	154	151	149	146	143	140
		10/11	48h	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

EN ESTE ENSAYOS SE UTILIZO SIEMPRE TOMILLO 60 UI y control 250 ul los volúmenes con matico fueron los que se manipularon y que aparecen detallado en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	190	185	180	175	170	165	160	155	150	145	140
		10/11	48h	○	○	○	○	X	X	X	X	X	X
	1sem	○	X	X	○	○	○	○	○	○	○	○	○

En este ensayo se utilizó tomillo 60ul y control 220ul, los volúmenes con matico fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	160	155	150	145	140	135	130	125	120	115	110
		02/12	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

En este ensayo se utilizó tomillo 60ul y control 200ul, los volúmenes con matico fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	140	137	134	131	128	125	122	119	116	113	110
		02/12	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

MEZCLA DE EXTRACTO: MATICO CON TOMILLO

En este ensayo se utilizó matico 190 ul y control 250ul, los volúmenes con tomillo fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	60	58	56	54	52	50	48	46	44	42	40
		10/11	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	○	X	X	○	X	X	X	○	X	X	X	○

En este ensayo se utilizó matico 170 ul y control 230ul, los volúmenes con tomillo fueron los que se manipularon y aparecen detallados en la siguiente tabla.

FECHA	Vol. T	C	60	58	56	54	52	50	48	46	44	42	40
		10/11	48h	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	1sem	○	○	○	○	X	X	○	X	X	X	○	X

FLUCONAZOL

FECHA	Vol. T	C	80	60	40	20	10						
		15/10	48h	○	X	X	X	X	X				
	1sem	○	○	○	○	○	○						
03/11		C	40	35	30	25	20	15	10	8	6	4	2
	48h	○	X	X	X	X	X	X	X	○	○	○	○
	1sem	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○