

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE TACNA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**TESIS**

“Efecto antimicótico de un enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Estudio in vitro.”

Presentada por:

Bach. Ambar Di Laura Altamirano Alave

Asesor: Mag. Esp. Karina Portugal Motocanche

Tesis para Optar el Título Profesional de:

Cirujano Dentista

**Tacna – 2023**

**DEDICATORIA**

*A mis padres por su constante apoyo, por su sacrificio y por enseñarme que los grandes logros provienen de luchas diarias.*

*A mis hermanas y sobrina que son pura luz iluminando mis días, por su compañía y su cariño incondicional.*

*A mi querido Yoel por sus palabras de motivación, por su amor y su apoyo en el camino hacia el logro de esta meta.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios por estar siempre presente en mi corazón, cuidándome y dándome fortaleza para continuar.*

*A mis padres por siempre haber velado por mi educación, otorgándome la oportunidad de culminar esta hermosa carrera.*

*A mi asesora Mag. Esp. Karina Portugal Motocanche quien fue mi principal guía durante todo el proceso, por sus enseñanzas, tiempo y paciencia permitió el desarrollo del presente trabajo.*

*Al Mblgo. Edwin Obando Velarde por sus consejos y dirección en la ejecución del presente proyecto.*

**INDICE**

Capítulo I El Problema de Investigación	1
1.1 Fundamentación del Problema	1
1.2 Formulación del problema	3
1.3 Objetivos de la Investigación	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos	3
1.4 Justificación	4
Capítulo II Revisión Bibliográfica	
2.1 Antecedentes de la Investigación	5
2.2 Marco Teórico	13
2.2.1 Xenophyllum poposum (pura pura)	13
2.2.1.1 Composición química de Xenophyllum poposum	14
2.2.1.2 Efecto antimicrobiano de Xenophyllum poposum	14
2.2.2 Biofilm oral	15
2.2.3 Candida albicans	16
2.2.4 Candidiasis oral	17
2.2.4.1 Prevalencia	17
2.2.4.2 Factores predisponentes	18
2.2.4.3 Formas de candidiasis oral	19
2.2.4.4 Tratamiento	22

2.2.4.5 Nistatina	22
Capítulo III Hipótesis, Variables y Definiciones Operacionales	24
3.1 Hipótesis	24
3.2 Operacionalización de las variables	25
Capítulo IV Metodología de la Investigación	26
4.1 Diseño de la Investigación	26
4.1.1 Diseño	
4.1.2 Tipo de investigación	
4.2 Ámbito de estudio	27
4.3 Muestra	27
4.4 Procedimientos y métodos	29
4.5 Instrumento de recolección de datos	31
Capítulo V Procedimiento de Análisis de Datos	32
Capítulo VI Resultados	46
Discusión	61
Conclusiones	67
Recomendaciones	69
Bibliografía	70
Anexos	76

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Concentración del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> en los discos para las cepas de <i>Candida albicans</i> .....	36
Tabla 2. Concentraciones reducidas del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> en los discos para las cepas de <i>Candida albicans</i> .....	39
Tabla 3. Volúmenes a utilizar para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> frente a <i>Candida albicans</i> .....	41
Tabla 4. Fórmula unitaria de enjuague bucal a base de aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> .....	43
Tabla 5. Composición fisicoquímica del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> .....	47
Tabla 6. Resultados de los estadísticos descriptivos de la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> en diferentes volúmenes 2,5 µl, 5 µl, 7,5 µl, 10 µl, 12,5 µl y 15 µl frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	50
Tabla 7. Prueba de la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 por el método de difusión de disco (Kirby Bauer).....	51
Tabla 8. Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	54
Tabla 9. Resultados de la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	54
Tabla 10. Resultados de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 mediante el método de difusión de disco (Kirby Bauer).....	55

Tabla 11. Resultados de los estadísticos descriptivos de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> (pura pura) y la Nistatina (Control +), frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	56
Tabla 12. Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk.....	58
Tabla 13. Prueba de homogeneidad de varianzas, test de Levene.....	58
Tabla 14. Resultados del análisis de varianza.....	59
Tabla 15. Comparaciones múltiples, prueba POST HOC, de Tukey.....	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> en diferentes volúmenes frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	52
Figura 2. Intervalos de confianza de la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> (pura pura) en diferentes volúmenes frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	53
Figura 3. Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> (pura pura), la Nistatina (Control +) y el enjuague bucal sin aceite (control -) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	57



**RESUMEN**

Objetivo: Determinar el efecto antimicótico del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*. Material y método: La obtención del aceite se hizo por el método de destilación por arrastre de vapor de agua y la actividad antimicótica fue evaluada por el método de difusión en disco- Kirby Bauer. Posteriormente se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) para a partir de esta obtener la concentración mínima fungicida (CMF) frente a *Candida albicans*. Finalmente se elaboró el enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* empleando la CMF para después comprobar su efecto antimicótico mediante la técnica de Kirby Bauer realizando 9 repeticiones. Resultados: Del estudio de cromatografía de gases de *Xenophyllum poposum*, se obtuvo una mayor proporción de (+)-4-Carene (10.83%), seguido de (+)- $\beta$ -Citronellol (10.77%) y (R)-(+)-Citronellal (7.56%). Se pudo comprobar que la concentración mínima inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 fue de 3,16 mg/ml y la concentración mínima fungicida (CMF) de 3,386 mg/ml. presentando halos de inhibición de 33,78 mm en promedio, a partir de esta concentración se elaboró un enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 formando halos de 29,80 mm en promedio. Conclusiones: El enjuague a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

**Palabras clave:** efecto antimicótico, *Candida albicans*, *Xenophyllum poposum*.

**ABSTRACT**

Objective: To determine the antifungal effect of *Xenophyllum poposum* essential oil-based mouthwash against *Candida albicans*. Material and method: The oil was obtained by the steam distillation method and the antifungal activity was evaluated by the Kirby Bauer-disk diffusion method. Subsequently, the minimum inhibitory concentration (MIC) will be decreased in order to obtain the minimum fungicidal concentration (CMF) against *Candida albicans*. Finally, the *Xenophyllum poposum* essential oil-based mouthwash was prepared using the CMF to later check its antifungal effect using the Kirby Bauer technique, performing 9 repetitions. Results: From the gas chromatography study of *Xenophyllum poposum*, a higher proportion of (+)-4-Carene (10.83%) was obtained, followed by (+)- $\beta$ -Citronellol (10.77%) and (R)-(+)-Citronellal (7.56%). It was found that the minimum inhibitory concentration (MIC) of the essential oil of *Xenophyllum poposum* against *Candida albicans* ATCC 10231 was 3.16 mg/ml and the minimum fungicidal concentration (MFC) was 3.386 mg/ml. presenting inhibition halos of 33.78 mm on average, from this concentration a mouthwash based on *Xenophyllum poposum* essential oil against *Candida albicans* ATCC 10231 was prepared, forming halos of 29.80 mm on average. Conclusions: The *Xenophyllum poposum* essential oil-based rinse has an antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 10231.

Key words: antifungal effect, *Candida albicans*, *Xenophyllum poposum*.

## INTRODUCCIÓN

Diversos microorganismos se ubican en la cavidad bucal como parte de un complejo y diverso ecosistema de la microbiota con una gran implicancia en la salud oral y cuyo desequilibrio origina las diversas enfermedades de la cavidad oral.

Desde hace muchos años las plantas medicinales han sido la principal fuente terapéutica eficaz, accesible y de bajo costo para los antiguos pobladores debido a sus amplias propiedades curativas. A través de los años el interés en la fitoterapia ha crecido exponencialmente en países industrializados. La terapéutica basada en plantas nos facilita disponer de tratamientos menos agresivos que las industrias farmacéuticas actualmente nos ofrecen. (1)

Las investigaciones actuales buscan encontrar nuevos tratamientos que ayuden a recuperar la salud y que permitan el uso de sustancias naturales a partir de la diversa riqueza en plantas medicinales que posee nuestro país megadiverso. El territorio peruano alberga la mayor riqueza de género *Werneria* del que recientemente ha sido extraído el género *Xenophyllum*. *Xenophyllum* consta de 22 especies y 14 de ellos han sido reportados en Perú. (2) La especie *Xenophyllum poposum*, se caracteriza por sus pequeñas hojas con una terminación abrupta en un callo. En nuestro país puede ser recolectada desde el extremo sur en Tacna hasta Huánuco entre los 4000 a 5148 m., y es utilizada en medicina natural por pobladores de las zonas altandinas. (3)

*Xenophyllum poposum* es usado tradicionalmente para el alivio de trastornos digestivos como indigestión, inflamación intestinal, dolor abdominal e hipertensión. Es así que ya se han realizado algunos estudios que demuestran su efecto antibacteriano frente a enfermedades gastrointestinales debido a su composición de numerosos metabolitos

bioactivos. Adicionalmente a esto se ha encontrado que presenta una fuerte actividad antifúngica contra hongos filamentosos, pero aún no se han aplicado métodos in vitro que pongan a prueba su capacidad antimicótica sobre la principal cepa fúngica presente en el ser humano, *Candida albicans*.

Por tal motivo es fundamental realizar investigaciones con base científica que demuestren el efecto de los principios activos de los representantes del reino vegetal que aún son poco estudiados frente a enfermedades tan difundidas como la caries, enfermedad periodontal y la candidiasis oral que es la infección micótica de afectación bucal más frecuente, siendo así la finalidad del presente estudio, determinar la actividad antimicótica de un enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*.

## CAPÍTULO I

### EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

#### 1.1 Fundamentación del Problema

La cavidad oral es un medio ampliamente colonizado por microorganismos, que en una condición normal establecen una convivencia equilibrada. Es así que al alterarse la misma, se produce una enfermedad. El ejemplo más conocido y resaltante es la caries, pudiendo también mencionar a la enfermedad gingivoperiodontal, enfermedades que han estado a lo largo de la historia, y cuyo tratamiento ha sido diverso con el transcurso de los años.

Según el Ministerio de Salud del Perú, se presentan una elevada cantidad de enfermedades bucales, destacando como las más importantes la caries dental y las patologías gingivoperiodontales. Para su tratamiento se utilizan diferentes procedimientos, y con el avance de la ciencia se está aprovechando las sustancias activas de diferentes muestras vegetales para combatir éstas y otras enfermedades, desde un enfoque más natural.

La candidiasis es la principal enfermedad fúngica presente en boca, está relacionada al hongo oportunista *Candida albicans*, y comúnmente afecta a las personas de la tercera edad siendo uno de las principales causas de consulta odontológica en esta población. (4) Es una enfermedad prevalente en ancianos, especialmente en aquellos portadores de prótesis removibles, siendo así la incidencia de *C. albicans* dentro de la cavidad oral en recién nacidos en un 45%, niños sanos 65%, adultos sanos 30-45%, y en personas que usan dentaduras postizas 50% - 65%. (5)

*Xenophyllum poposum* presenta diversas propiedades analgésicas y antisépticas, y es usada de manera popular para tratar algunas molestias y dolencias, por lo que su potencial antimicrobiano puede ser efectivo contra microorganismos como *Candida albicans*, debido a los principales principios activos de su composición química. (6)

El presente estudio se encuentra ubicado dentro de la tercera línea de investigación de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Privada de Tacna correspondiente a la innovación tecnológica y biomateriales dentales cuyo objetivo es fomentar la investigación en el campo del uso de fitoterapéuticos como agentes antibacterianos frente a patógenos orales.

## 1.2 Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto antimicótico del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*?

## 1.3 Objetivo de la Investigación

### 1.3.1 Objetivo General

- Determinar el efecto antimicótico del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la sensibilidad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en diferentes volúmenes frente a *Candida albicans* (ATCC 10231), mediante la técnica de difusión de disco KIRBY BAUER.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* (ATCC 10231).
- Determinar la concentración mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* (ATCC 10231).
- Formular y comparar el efecto antimicótico del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a la nistatina.

## 1.4 Justificación

El reino vegetal ha sido desde siempre punto de investigación para la comunidad científica por sus evidentes beneficios terapéuticos. Comunidades alejadas de la ciudad suelen utilizar a las especies vegetales como recurso para el tratamiento de sus males solo en base a su conocimiento empírico, y lo difunden de generación en generación. Es por ello que desde ha siempre ha nacido la necesidad de tener una base científica que respalde las propiedades curativas de aquellas plantas.

Día tras día, la fitoterapia continúa siendo materia de investigación, pero todavía los estudios acerca de la eficacia de plantas medicinales sobre la mejoría de diversas patologías no son suficientes, más aún de aquellas nuevas especies de plantas que siguen descubriéndose. El territorio peruano alberga una gran diversidad de recursos vegetales que pueden ser utilizados como principios activos para una farmacología menos dañina. *Xenophyllum poposum* se encuentra disponible en las zonas altoandinas de Tacna y recientemente se viene estudiando debido a su alto potencial antimicrobiano.

La presente investigación nos permitirá establecer la actividad antifúngica del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente al hongo *Candida albicans*, que ha sido relacionado a diversas enfermedades bucales y al fracaso de distintos tratamientos odontológicos. Además, que marcará un precedente para futuras investigaciones que se realicen acerca de este recurso natural, que aún no cuenta con ensayos in vitro para medir su eficacia contra este patógeno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación

##### A nivel internacional

**Torres S, Gutiérrez M, Tracanna M. Estudio de la actividad antimicrobiana de *Xenophyllum poposum* sobre microorganismos de la cavidad bucal por el método de difusión radial. Argentina. 2022. (7)**

El presente estudio se propuso como finalidad determinar la actividad antimicrobiana in vitro de distintos tipos de extractos de *Xenophyllum poposum* frente a bacterias y hongos presentes en boca como *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. casei*, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *Candida albicans* y *Veillonella* sp. En la evaluación emplearon la prueba de difusión en agar, utilizando como controles, el etanol y la clorhexidina al 0,12% respectivamente. Para cada cepa microbiana se utilizó un medio de cultivo específico y una atmósfera adecuada de incubación. Los extractos vegetales de *Xenophyllum poposum* obtenidos fueron: Extracto etanólico, clorofórmico, hexánico, aceite esencial y una sustancia aislada de la porción acuosa remanente de la extracción del aceite esencial. El extracto etanólico es el que obtuvo los mejores resultados sobre todos los microorganismos evidenciando porcentajes de efecto inhibitorio relativos al control positivo, pudiendo considerarse de elevado efecto antimicrobiano. Por otra parte, la porción acuosa y el aceite esencial presentaron la menor acción antibacteriana. En conclusión, el extracto etanólico de *Xenophyllum poposum* podría ser utilizado como control químico biopelículas orales.

**Cadena K, Pazán P. Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de Uncaria Tomentosa (Uña de gato) sobre *Candida albicans*: Estudio in vitro. Ecuador. 2018.**

(8) Este estudio se planteó como finalidad establecer la respuesta antimicótica de diversas formulaciones hidroalcohólicas de Uncaria Tomentosa frente a *Candida albicans*. Las concentraciones estudiadas fueron extracto hidroalcohólico de Uña de gato al 25%, 50%, 75% y 100%, además del control positivo que fue Nistatina de 21 ul y como control negativo alcohol etílico de 70°. Cada grupo de estudio fue incluido en una placa Petri con agar Sabourand, la muestra estuvo conformada por 24 placas.

Para obtener 150 ml de extracto hidroalcohólico fueron necesarios 0.075 gr. de vegetal micropulverizado y 0.25 litros de alcohol etílico de 70°, utilizando el método de maceración. El extracto procedió a ser diluido en búsqueda de tres concentraciones al 75%, 50% y 25%. El análisis estadístico que se usó fue el de Anova y de Bonferroni con un nivel de significancia de 5%. Los halos de inhibición observados fueron 16,5 mm, 14,75 mm, 10,96 mm y 6.46 mm para las formulaciones hidroalcohólicas al 100%, 75%, 50% y 25% en orden respectivo. La nistatina formó un halo inhibitorio de 23,42 mm de diámetro y el control negativo no evidenció ninguna actividad antimicótica. Concluyeron que tanto la nistatina como el extracto hidroalcohólico al 100% de Uña de Gato demostraron sensibilidad, por otro lado las formulaciones al 50% y 75% demostraron sensibilidad intermedia y la formulación más baja manifestó resistencia frente al hongo.

**Sookto T, Srithavaj T. Efectos in vitro del aceite esencial de Salvia officinalis L. sobre Candida albicans. Singapur. 2013. (9)** Los investigadores tuvieron como objetivo definir el potencial antimicrobiano del extracto de Salvia frente a la levadura *Candida albicans*. En primer lugar, se empleó la técnica de Kirby Bauer y posteriormente se halló la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima letal (CML) haciendo uso del método de membrana modificada. Como pruebas de evaluación estadística se realizaron los métodos de ANOVA y de Tukey. Se determinó que el aceite esencial de Salvia si demuestra potencial antifúngico sobre todas las cepas de *Candida albicans* con halos inhibitorios que variaban de 19,5 mm a 40,5 mm. La CMI y la CML del extracto se determinaron como 2.780 g / L sobre todos los microorganismos estudiados. Concluyeron que el aceite esencial de Salvia muestra actividad antifúngica sobre *Candida albicans*.

**Palacios E, Guilcaso J. Efecto inhibitorio del aceite esencial de la cáscara de toronja a diferentes concentraciones y tiempos sobre *Cándida Albicans* y *Enterococcus Faecalis*. Estudio comparativo in vitro. Quito. 2021. (10)** El objetivo de los investigadores fue medir la actividad inhibitoria del aceite esencial de cáscara de toronja en diversas concentraciones al 25%, 50% y 100% y en diferentes horarios frente al hongo *C. albicans* y la bacteria *E. faecalis*, conociéndose las características antiinflamatorias, antitumorales, antiaterogénicas, antioxidantes y antimicrobianas que posee elaceite esencial de cáscara de toronja.

El estudio contó con 120 discos de papel, que fueron divididos en dos grupos, uno por cada microbio. Así mismo cada grupo fue dividido en 5 subgrupos de estudio (aceite esencial en 3 diferentes concentraciones, control positivo y control negativo) atribuyéndole 12 discos a cada subgrupo. En el caso de la levadura el control positivo que se utilizó fue la Nistatina y

para la bacteria, Clorhexidina al 0.12%. Los discos se incluyeron en placas Petri (5 discos por cada placa) a una temperatura de 37°C. Luego se procedió a medir los halos de inhibición a las 24 y 48 horas transcurridas usando de referencia la Escala de Duraffourd. Las pruebas estadísticas que se hicieron fueron de normalidad de KolmogorovSmirnov y Shapiro Wilk. Como resultado se determinó que el aceite esencial de toronja demuestra acciones antifúngicas y antibacterianas frente a *C. albicans* y *E. faecalis* con su media más alta en la concentración al 100% a las 48 horas con promedios de 19,67 mm y 12,33 mm respectivamente. Los investigadores concluyeron que el extracto estudiado demuestra poseer actividad inhibitoria frente a los microorganismos *C. albicans* y *E. faecalis* y este efecto se incrementa si hay mayor concentración con más periodo de exposición.

**Doddana S, Patel S. Actividad antimicrobiana de extractos de plantas sobre *Candida albicans*: un estudio in vitro. India. 2013** (11) El presente estudio tuvo como objetivo identificar plantas económicas, simples y efectivas que puedan prevenir y controlar el crecimiento de *C. albicans*. Evaluaron los efectos antimicrobianos de plantas como hojas de té, hojas y bulbo de cebolla, aloe vera, hojas de menta y hojas de curry sobre *C. albicans* implicadas en la causa de la candidiasis oral. Se midieron los halos de inhibición de *C. albicans* por extractos vegetales acuosos y alcohólicos a las 24 y 48 h. Las hojas de curry mostraron mejor actividad inhibitoria del desarrollo de *C. albicans* con  $23.3 \pm 0.14$  y  $24.05 \pm 0.07$ , seguidas de las hojas de té acuosas con  $17.95 \pm 0.07$  y  $18.10 \pm 0.14$  mm a las 24 y 48 h, respectivamente. Las formulaciones alcohólicas de hojas de cebolla, hojas de té, bulbo de cebolla, aloe vera y hojas de menta mostraron 17.95 mm y 18 mm, 16 mm y 15.95 mm, 13 mm y 13.05 mm, 13 mm y 13 mm, y 12.95 mm y 13 mm a las 24 y 48 h, respectivamente. Concluyeron que en general, todos los extractos de plantas mostraron actividades

antimicrobianas que se extendieron hasta 48 h con la diferencia crítica del 5% ( $P \leq 0.05$ ) y que el uso de estos extractos de plantas como remedios caseros o agregarlos a dentífricos, enjuagues bucales y barnices puede crear un ambiente bucal desfavorable para *C. albicans*. Además, el uso de hojas de curry, hojas de té y cebolla, especialmente por parte de los usuarios de dentaduras postizas, los pacientes diabéticos e inmunocomprometidos puede ser de gran ayuda para prevenir las infecciones orales por candidiasis sin efectos secundarios.

**A nivel nacional**

**Zea Y. Efecto antibacteriano de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) Y *Werneria sp* (pura pura) sobre *Escherichia coli* en condiciones de laboratorio 2018. Puno. 2019. (12)** La

finalidad del estudio consistió en determinar el impacto antibacteriano de los extractos etanólicos de pura pura y pupusa frente a *Escherichia coli*. La investigación fue realizada a mediados del año 2018 en la Universidad Nacional del Altiplano. Para realizar la extracción etanólica primero se tuvo que macerar las hojas y para medir la acción antimicrobiana se optó por la técnica de Kirby Bauer. Las pruebas estadísticas usadas fueron el método de Tukey y ANOVA. En el extracto etanólico de pupusa, se observó gran cantidad de alcaloides, y muy abundantes fenoles y taninos. En el extracto de pura pura abundaron fenoles y taninos, pero en mayor cantidad alcaloides. La formulación etanólica al 100% de pupusa tuvo un diámetro de inhibición de 15.03 mm, mientras que al 25% el halo en promedio formado fue 11.70 mm. Para la pura pura concentrada al 100% se obtuvo 13.96 mm de diámetro de inhibición, y la menor actividad antibacteriana frente a la amoxicilina la presentó la concentración al 25% con un diámetro de 10.74 mm. Concluyeron que la amoxicilina (control positivo) evidencia mayor actividad antibacteriana que el tratamiento al 100% de las formulaciones etanólicas de pupusa y pura pura sobre *E. coli*.

**Villavicencio J, Moromi H. Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas**

**de *Candida albicans*. Lima. 2016. (13)** La finalidad de los investigadores fue determinar el efecto antifúngico del aceite esencial de orégano sobre cepas de *C. albicans*. Para esta investigación fueron seleccionados 4 distintos geotipos de orégano, la técnica elegida para extraer el aceite fue la de destilación por arrastre con vapor de agua y la composición química cuantitativa fue determinada por cromatografía de gases. El efecto antifúngico de

los aceites frente a *C. albicans* fue determinado mediante la técnica de Kirby Bauer. Todas las muestras evidenciaron gran actividad antimicótica desde la concentración de 12,5 % en adelante. Concluyeron que existen diferencias en los efectos antimicóticos de los aceites esenciales de orégano elaborados en base a los diversos geotipos que existen. El aceite esencial de *Origanum vulgare* podría representar una propuesta terapéutica para las infecciones por levaduras en boca.

**Tuyo L. Efecto de la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial de *Tagetes minuta***

**L. “huacatay” frente a *Candida albicans*. Tacna. 2015.** (14) El investigador se planteó como propósito determinar la acción antifúngica del aceite esencial de huacatay sobre el hongo *C. Albicans*. La planta fue recolectada durante finales del 2013 y comienzos del 2014 en el mercado Grau-Tacna. Las hojas y tallos fueron necesarios para extraer el aceite esencial y la metodología usada fue la de destilación por arrastre a vapor. Se aplicó la técnica de Kirby Bauer para medir el efecto antifúngico del aceite esencial, realizándose 4 repeticiones a distintas concentraciones. Una vez obtenida la CMI y la CMF se procedió a leer los resultados. El tubo T1 tuvo un promedio de halo de inhibición de 13,25 mm frente a *Candida albicans*; después de ese tratamiento todos los demás fueron sensibles. La CMI para la levadura *C. albicans* fue de 2,8728 mg/ml (T8), y la CMF fue 3,2886 mg/ml. Se determinó como conclusión que el aceite esencial de huacatay tiene compuestos bioactivos, en su mayoría monoterpenos, con acción antifúngica in vitro sobre el hongo *C. albicans*.

**Vidal J. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con discos de sensibilidad de nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido en pacientes con diagnóstico de estomatitis subprótesis que**

**acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020. Tacna. 2021.** (15) El estudio tuvo como propósito determinar la actividad antimicótica de la fórmula etanólica extraída de vainas de Tara versus un control positivo, frente al hongo *C. albicans*. Los pacientes adultos mayores que llegaron a consulta del Centro de Salud Ciudad Nueva y fueron diagnosticados con estomatitis subprotésica colaboraron con la muestra que sería objeto de estudio. Las cajas Petri fueron inoculadas con estas cepas de *C. albicans*, para así poder medir la actividad antimicótica de las fórmulas etanólicas de Tara mediante la técnica de difusión en agar; con los datos obtenidos se pudo determinar la CMI y CMF. Las concentraciones de 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 100 mg/ml de extracto etanólico de Tara obtuvieron medias de halos de inhibición de 20,17 mm; 22,16 mm; 26,14 mm y 27,71 mm respectivamente, por su parte la Nistatina formó un diámetro de inhibición de 14,69 mm. La CMI hallada fue de 9 mg/ml y la CMF de 9,8 mg/ml. Se concluyó que la fórmula etanólica procedente de las vainas de Tara presenta una mayor actividad antifúngica que la Nistatina.



## 2.2 Marco Teórico

### 2.2.1 *Xenophyllum poposum* (pura pura)

*Xenophyllum poposum* (Philippi) V. A. Funk es una especie vegetal rizomatosa perenne procedente de la Familia Asteraceae y forma parte de las 21 especies del género andino *Xenophyllum*, que se ha extraído recientemente del género *Werneria*. Tradicionalmente, las especies de *Xenophyllum* fueron tratadas como miembros del género *Werneria*, un género morfológicamente cercano que incluye hierbas perennes rosettiformes o escapiformes. *Xenophyllum* se diferencia principalmente de *Werneria* por tener tallos alargados. (16)

*X. poposum*, sub-arbusto conocido bajo los nombres comunes "pura pura" o "pupusa" puede ser visto en las altas montañas del norte de Argentina, Chile, Bolivia y Sur de Perú a 4600-5300 m sobre el nivel del mar. Diferentes infusiones a base de sus hojas se utilizan como remedio natural para la hipertensión, mal de altura y trastornos de digestión, como inflamación intestinal, cólicos, diarrea e indigestión. Además, también es utilizado para los dolores abdominales, el reumatismo y como alimento para convalecientes de neumonía. (6)



### **2.2.1.1 Composición química de *Xenophyllum poposum***

Diversos análisis de los aceites esenciales de *X. poposum* han identificado mono y sesquiterpenoides acompañados de derivados de benzofurano, como tremetona y 6-hidroxitremetona, mientras que a partir de extractos orgánicos de partes aéreas se aislaron derivados de p-hidroxiacetofenona y benzofurano, flavonoides, cumarinas y diterpenoides. 4-hidroxi-3- (isopenten-2-il) -acetofenona es el elemento dominante del extracto de metanol junto con cantidades menores de 6- hidroxitremetona; ambos compuestos muestran un efecto hipotensor en ratas y ratones. Dos componentes de su aceite esencial, T-cadinol y  $\alpha$ -cadinol poseen una actividad antiinflamatoria significativa e inhiben la producción de óxido nítrico (17).

Existe bastante información disponible que respalda los usos de *X. poposum* en la medicina tradicional, debido a sus numerosos metabolitos bioactivos, se deben esperar efectos fuertes después del consumo de esta hierba. En consecuencia, la dosis (cantidad consumida) debe controlarse cuidadosamente para evitar efectos indeseables. (17)

### **2.2.1.2 Efecto antimicrobiano de *Xenophyllum poposum***

La mayoría de los elementos relevantes del aceite esencial de *X. poposum* son compuestos bioactivos. Así, benzofurano (2R)-6-hidroxitrimetona muestra una potente actividad anticancerígena contra la leucemia y líneas celulares HeLa, es inhibidor del crecimiento vegetal, presenta actividades anti-VIH-1 y alergénicas. Asu vez, epi- $\alpha$ -cadinol (T-cadinol) induce células dendríticas de monocitos y se ha demostrado que el T-cadinol disminuye la hipersecreción intestinal en ratones y contracciones inducidas eléctricamente del íleon aislado de cobaya. Además, posee propiedades antagonistas del calcio. T-cadinol y  $\alpha$ -

cadinol también demostraron suprimir la producción de óxido nítrico inducida por lipopolisacáridos y poseen actividad antiinflamatoria significativa. (6)

El cribado antibacteriano de aceite esencial presenta actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*. Además, contra las cepas clínicas *B. cepacia* y *H. alvei* en concentraciones de 1,1 mg / mL. Adicionalmente presenta una fuerte actividad antifúngica contra hongos filamentosos con un mínimo de concentraciones inhibitorias (CMI) que varían entre 0.025-0.05 mg / mL. El extracto de metanol también muestra actividades antifúngicas similares a las del aceite esencial contra hongos filamentosos. (6)

*X. poposum* contiene cantidades significativas de varios potentes compuestos bioactivos, posee los conocidos efectos inhibidores de *T-cadinol* sobre la hipersecreción intestinal y las contracciones del íleon así como sus propiedades antagonistas del calcio respaldan el uso de *X. poposum* en la medicina popular para tratar trastornos digestivos tales como indigestión, inflamación intestinal, cólicos intestinales, dolor abdominal e hipertensión. (6)

### **2.2.2 Biofilm oral**

La caries y la enfermedad periodontal son patologías infecciosas de la cavidad bucal en donde las biopelículas orales desempeñan un papel causal. Las biopelículas microbianas orales son comunidades bacterianas estructuradas tridimensionales adheridas a superficies sólidas como el esmalte de los dientes, la superficie de la raíz o los implantes dentales y están incrustadas en una matriz de exopolisacárido. Las biopelículas orales sirven como un sistema modelo para la adhesión bacteriana y la resistencia a los antibióticos debido a su amplia presencia y accesibilidad. *Actinomyces* sp., *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Spirochaetes* y *Synergistetes* es dominante en la placa subgingival. *Lactobacillus* sp. son las células centrales de los agregados bacterianos en la placa subgingival, y *Streptococcus* sp. y

la levadura *Candida albicans* forman estructuras de mazorcas de maíz en la placa supragingival. Los patógenos periodontales colonizan biopelículas ya formadas y forman microcolonias en ellas. (18)

### **2.2.3 *Candida albicans***

*C. albicans* catalogada como la especie fúngica más importante en los seres humanos, comúnmente coloniza las superficies mucosas del huésped como organismo comensal. Este hongo oportunista puede volverse patógeno en condiciones como la disfunción inmunológica y causar infecciones que van desde un crecimiento excesivo de la mucosa localizada hasta una invasión profunda, lo que resulta en condiciones sistémicas graves. (19)

La cavidad bucal alberga una comunidad microbiana compleja y muy diversa. *C. Albicans* se ha visto presente en biopelículas polimicrobianas relacionadas con estomatitis protésica, mucositis oral, lesiones cariosas, patologías periodontales, periimplantitis e infecciones endodónticas. Además de ello la interacción *Candida* - biofilm bacteriano cumple un papel potencial en la patogénesis de enfermedades orales, especialmente infecciones de las mucosas y caries dentales. (20)

La patobiología de la caries dental es compleja. Aunque existe hegemonía de procariotas cariogénicos clásicos como *S. mutans* en la formación de la caries, también se ha añadido la implicancia del microorganismo patológico fúngico oral eucariota *Candida* en el desarrollo de caries. (21) Debido a la interacción entre reinos, *Streptococcus mutans* mejora sinérgicamente tanto la formación como la virulencia de biopelículas de placa con *C. albicans* in vivo, lo que da como resultado lesiones cariosas graves. (19)

Los atributos de virulencia de las especies de *Candida*, como su acidogenicidad y naturaleza acidúrica, la capacidad de desarrollar biopelículas abundantes, fermentar y asimilar los

azúcares de la dieta y producir proteinasas colagenolíticas, son todos indicativos de su potencial cariogénico latente pudiendo desempeñar un papel fundamental como agente secundario que perpetúa el proceso de caries, especialmente en la caries dentinaria. (22)

Además *Candida Albicans* también se encuentra presente en lesiones cariosas radiculares debido a que la colonización de *C. albicans* aumenta la cariogenicidad de la biopelícula oral al alterar su ecología microbiana, lo que conduce a una biopelícula polimicrobiana con acidogenicidad mejorada y, en consecuencia, exagera la desmineralización de los dientes y la gravedad de las lesiones cariosas. (22)

#### **2.2.4 Candidiasis oral**

Esta enfermedad surge a causa de una infección por especies comensales de una levadura saprofítica del género *Candida*. Estas cepas pueden ser observadas en personas sanas como parte normal de su microflora oral ya que sólo un pequeño grupo sería capaz de desarrollar la patología en determinadas condiciones. (23)

##### **2.2.4.1 Prevalencia**

El género *Candida* se encuentra habitualmente en la cavidad oral (7-65%). A pesar de ello, muy pocas personas padecen infecciones por *Candida*. Un dato importante es que las concentraciones de *Candida* en sujetos que presentan diferentes formas de candidiasis son muy superiores a las concentraciones encontradas en sujetos sanos, recuentos superiores a 20.000 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) comparado con 300-800 UFC/ml de saliva respectivamente. Esta información es limitada ya que sujetos sanos son capaces de presentar altas concentraciones de la levadura sin portar la patología, mientras que concentraciones bajas podrían desencadenarla en individuos débiles o inmunodeprimidos. La candidiasis oral es considerada una patología frecuente. A la consulta

general se considera que más de 4/1000 pacientes presentan signos de infección. Sin embargo, la prevalencia debe ser mayor dado que muchos casos no presentan sintomatología aparente. La incidencia real de esta patología es desconocida, pero se tiene información certera de que existe una mayor prevalencia en ciertos casos: edades extremas (neonatos y adultos mayores), sujetos portadores prótesis removibles, xerostomía o en enfermedades relacionadas. (24) Además de los casos ya mencionados el estado del portador se ve afectado por determinados factores como el estado de salud principalmente enfermedades del sistema inmune o endocrino, determinados tratamientos con medicamentos, tabaquismo, etc. También ha sido comprobado que esta patología tiene una tendencia a desarrollarse en el dorso lingual, el paladar y la mucosa bucal, además de variaciones del estado de portador a lo largo del día. Respecto a la edad, los valores promedio de incidencia son variables. En los recién nacidos, se observa cifras bajas (16%); van aumentando conforme pasan los 18 primeros meses de vida (44%), las cifras caen hasta llegar a la niñez (6%) para, de nuevo, incrementarse en los años de vida adulta y precipitarse en la senectud. Razones como la hiposalivación, el uso de dentaduras postizas, patologías del sistema inmune y/o endocrino y la medicación dan cabida a que los pacientes adultos mayores sean usualmente portadores de *C. albicans*. (24)

#### **2.2.4.2 Factores predisponentes**

Uno de los principales factores predisponentes son las condiciones alteradas en que se encuentra la cavidad oral.

-Agentes locales: Variación en la barrera mucosa, xerostomía, empleo de prótesis removibles, deficiente higiene bucal, consumo de tabaco.

-Agentes sistémicos: tratamiento con medicamentos, empleo de medicamentos inmunomodulares y citotóxicos, uso de medicamentos que producen sequedad en boca, causas fisiológicas, problemas endocrinos, problemas de dieta, problemas inmunológicos, discrasias sanguíneas y malignidad. El progreso de la candidiasis oral se relaciona mucho a las condiciones en las que se encuentra el huésped es por eso por lo que hay una más alta probabilidad de prevalencia en sujetos inmunodeprimidos (VIH y SIDA), niños o neonatos y adultos mayores. (23)

#### **2.2.4.3 Formas de candidiasis oral**

- Candidiasis pseudomembranosa: se conoce como “afta oral” y es considerada una infección aguda; de forma clínica se pueden observar como placas blancas en la cavidad oral (mucosa labial, bucal, paladar duro, blando y lengua). Se presenta generalmente en neonatos y adultos mayores; pueden ser retiradas raspando suavemente, exponiendo una mucosa eritematosa característica de la enfermedad. La sintomatología suele ser muy escasa, aunque en ocasiones los pacientes pueden relatar pérdida del gusto, mal sabor de boca y ardor, o incluso dolor. Esta patología va a depender de las circunstancias del huésped, podría mantenerse por meses o años (candidiasis pseudomembranosa crónica) en el caso de pacientes inmunodeprimidos; además podría desencadenar otro tipo de complicaciones como dolor al pecho y dificultad para ingerir, el uso de inhaladores de esteroides por asma también es una causa para que la patología pueda desarrollarse en el paladar blando.(23)



- Candidiasis eritematosa aguda: De forma clínica se observan como placas o zonas de color rojizo más o menos intenso, no desprendibles, que pueden asentarse sobre cualquier superficie de la mucosa oral, preferentemente en el paladar, el dorso lingual y las mucosas yugales. Dentro de sus síntomas se presenta dolor en la mucosa oral y suelen percibirse como una sensación de quemazón, que puede intensificarse con la ingesta de alimentos calientes, salados o picantes y el consumo de alcohol. El uso de medicamentos antibióticos que son de amplio espectro está asociado a esta infección porque reducen la flora en la cavidad oral haciendo más fácil su exposición al microorganismo, la supresión del uso del medicamento contribuirá a la desaparición de la lesión. Por este factor es que se le conoce como “boca dolorosa por antibiótico”. (23)





- Candidiasis hiperplásica crónica: Se puede observar como lesiones blancas en ambos lados de las comisuras. Existen 2 tipos: la homogénea son lesiones lisas blancas y la heterogénea con eritemas de aspecto nodular o manchado, la segunda suele convertirse en una lesión maligna, presenta displasia y desarrollo subsecuente de cáncer oral en la lesión. Predomina en hombres adultos que consumen tabaco y es una forma extraña de candidiasis oral, no presenta síntomas y no es posible remover por raspado suave. (23)



- Estomatitis protésica: Se presenta como zonas rojizas en la mucosa bucal bajo la superficie de una prótesis, con mayor frecuencia en el paladar; se origina por distintas causas como una deficiente higiene bucal o prótesis mal adaptadas. La estomatitis protésica frecuentemente es asintomática, pero cuando los signos y síntomas están presentes pueden mostrar sangrado de la mucosa, hinchazón, hormigueo u otras sensaciones dolorosas, halitosis, sabor desagradable y sequedad en la boca. (23)



#### **2.2.4.4 Tratamiento**

En primer lugar, el tratamiento requiere la eliminación o atenuación de las causas relacionadas a la aparición de la candidiasis; siendo éste el primer paso importante en el tratamiento de esta enfermedad en el paciente adulto mayor y disminuyendo la probabilidad de recidiva de las lesiones después de concluir la medicación antifúngica designada. (22)

Pasada esa etapa se empieza con el tratamiento antimicótico, tanto por vía general como por vía tópica. Va a depender del hongo, de la localización de la infección superficial y de la extensión de la lesión si decidimos tratar con un agente tópicoo sistémico. Generalmente las infecciones más simples son tratadas de manera tópica, a diferencia de las más severas que se tratan por vía sistémica. Para realizar la terapia tópica correctamente es necesario el contacto entre el medicamento y la mucosa oral por un lapso adecuado. Para evitar la reaparición de la enfermedad, es recomendable seguir con el tratamiento 14-21 días más, aunque los signos y síntomas hayan desaparecido. La nistatina, anfotericina B, y derivados azólicos (miconazol, clotrimazol, econazol y ketokonazol) son los antifúngicos más utilizados. (24)

#### **2.2.4.5 Nistatina**

La nistatina es un antibiótico aplicado desde hace ya muchos años, de importante y reconocida acción antimicótica, con un patrón de seguridad adecuado para el abordaje en el tratamiento de candidiasis oral. (25)

##### **- Mecanismo de acción**

La nistatina actúa bajo un mecanismo de acción propio de la familia a la que pertenece que son los antifúngicos polienos. Nistatina se une a los esteroides de las membranas celulares,

desorganizando su configuración espacial, formando canales iónicos en la membrana que cambian la permeabilidad de la membrana con pérdida de aminoácidos, purinas e iones, modificando el metabolismo celular. Su selectividad se explica en que tiene mayor afinidad por el ergosterol (esterol de membrana celular de los hongos) que por el colesterol (esterol de membranas celulares humanas). Sin embargo, el hecho de presentar capacidad de unión por colesterol hace que sea muy tóxica en el caso de una aplicación sistémica, ya que la integridad de membrana de unión de las células se deteriora, produciendo la pérdida de potasio y otros contenidos intracelulares. Bacterias, virus y protozoos no presentan esteroides en sus membranas celulares, por lo que nistatina resulta ineficaz en ellas. (25)

## CAPÍTULO III

### HIPÓTESIS, VARIABLES Y DEFINICIONES OPERACIONALES

#### 3.1 Hipótesis

**Ho:** El enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) no presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

**H1:** El enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

#### 3.2. Variables

##### **Variable independiente**

Enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura).

##### **Variable dependiente**

Actividad antimicótica

### 3.2 Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADOR	VALOR FINAL	ESCALA MEDICIÓN
Enjuague bucal	Aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i> (pura pura) a diferentes volúmenes	2,5 ul 5,0 ul 7,5 ul 10,0 ul 12,5 ul 15,0 ul	Cuantitativa - De razón
	Nistatina (control)	100 UI	Cuantitativa - De razón
VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADOR	VALOR FINAL	ESCALA MEDICIÓN
Actividad antimicótica	-Halos de inhibición	-Milímetros (mm)	Cuantitativa - De razón
	-CMI	-Turbidez	
	-CMF	-UFC (unidades formadoras de colonias)	

## CAPÍTULO IV

### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 4.1 Diseño de la Investigación

##### 4.1.1 Diseño

El presente estudio es planteado como un diseño experimental debido a que se utilizarán métodos *in vitro* en el que participarán cultivos de microorganismos sobre los que se dejará actuar distintas concentraciones del aceite esencial a base de *Xenophyllum poposum* para medir su efecto antimicótico.

##### 4.1.2 Tipo de investigación

- Experimental debido a que el investigador creará intencionalmente el efecto que será objeto de su estudio e intervendrá de manera directa en las condiciones de la investigación para posteriormente evaluar los resultados.
- Transversal porque en un momento y tiempo específicos se verán analizadas las variables de estudio.
- Prospectivo ya que la información recopilada es de primera fuente.
- Analítico debido a que proporcionará información acerca del efecto antifúngico del enjuague a base de aceite esencial frente a la cepa microbiana.

## 4.2 Ámbito de estudio

Laboratorio de la Escuela de Biología y Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna (UNJBG) ubicada en la Av. Miraflores S/N.

## 4.3 Muestra - unidad de estudio

**Muestra:**

Tamaño de la muestra:

**Resultados**

**Comparación de medias independientes**

**Datos**

Varianzas:

Opción 1

Diferencia de medias a detectar:

Desviación estándar común:

Opción 2

Diferencia estandarizada de medias:

Razón entre tamaños muestrales:

Nivel de confianza:  %

**Calcular**

Tamaño de la muestra

Potencia

**Potencia (%)**

Mínimo:

Máximo:

Incremento:

Potencia (%)	Tamaño de la muestra		
	Población 1	Población 2	Total
80,0	2	2	4

Es así que se obtendrán 8 muestras como mínimo por cada grupo de estudio y grupo control, dando como resultado un total de 64 muestras.

- Unidad de estudio: Placas Petri sembradas con *Candida albicans* ATCC10231 en las que se aplicará variadas concentraciones de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* y el enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*.

- Unidades de muestreo microbiano: Colonia de microorganismos de *Candida albicans*

ATCC 10231.

- Unidades de muestreo biológico: Aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en distintos volúmenes y enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*.



## 4.4 Procedimiento, técnicas e instrumentos

### 4.4.1. Instrumentos de laboratorio

Para poder ejecutar el presente estudio se requirió de los siguientes elementos

Equipos:	Materiales de vidrio:
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Autoclave</li> <li>– Microscopio</li> <li>– Refrigeradora</li> <li>– Hornillas eléctricas</li> <li>– Incubadora</li> <li>– Horno de calor seco</li> <li>– Balanza de precisión</li> <li>– Micropipetas de rango variable (0,5-10 ul, 10-100 ul, 100–1000 ul)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Balones de vidrio de diferente gradación (250 y 500 ml)</li> <li>– Placas Petri 100 x 15 mm</li> <li>– Matraces (100, 250,500 ml)</li> <li>– Tubos de ensayo</li> <li>– Pipetas</li> <li>– Vasos precipitados (500 ml)</li> <li>– Probetas</li> <li>– Peras de decantación</li> <li>– Asa Digralsky</li> <li>– Viales</li> </ul>

Cultivos, reactivo y bacteria:	Otros:
<ul style="list-style-type: none"> <li>– Medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA)</li> <li>– Agar Mueller Hinton</li> <li>– Caldo BHI (Brain Heart Infusion)</li> <li>– Alcohol etílico</li> <li>– Alcoholyodado</li> <li>– DMSO (Dimetilsulfóxido)</li> <li>– Agua destilada</li> <li>– Discos de sensibilidad de Nistatina 100 UI</li> <li>– Ron industrial</li> <li>– Bacteria Candida albicans ATCC 10231</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Pinzas</li> <li>– Asa bacteriológica</li> <li>– Gradillas</li> <li>– Puntas descartables para micropipetas</li> <li>– Espátulas</li> <li>– Rejilla de asbesto</li> <li>– Papel Kraft y papel filtro</li> <li>– Cubrebocas descartables</li> <li>– Guantes quirúrgicos descartables</li> <li>– Algodón pabilo</li> <li>– Papel de aluminio</li> <li>– Mandil</li> <li>– Vernier digital</li> <li>– Marcadores</li> </ul>

#### **4.5 Instrumento de recolección de datos**

Libreta de campo en la cual se registró los efectos de la actividad antifúngica (halos de inhibición), concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima fungicida (CMF) y del enjuague experimental.

## CAPÍTULO V

### PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS

#### 5.1. RECOLECCIÓN, UBICACIÓN Y MANEJO DE VARIABLES

##### **5.1.1 Procedimiento de recolección:**

El proyecto inicia obteniendo la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre que es emitida por el Servicio Nacional Forestar y de Fauna Silvestre - SERFOR (ver anexo 1) para poder realizar la recolección de nuestra muestra *Xenophyllum poposum*, ya que es la entidad que regula la captura de plantas silvestres. La muestra fue recolectada de las zonas altoandinas del Sur del Perú de la ciudad de Tacna, en el distrito de Palca.

Se recogieron alrededor de 4000 gramos de la planta *Xenophyllum poposum*, conservando hojas y tallos. Luego se procedió a esparcir las sobre papeles craft en una habitación oscura con ventilación, lejos de la humedad para evitar posibles efectos externos que podrían ocasionar el daño de la muestra.

##### **5.1.2 Identificación de *Xenophyllum poposum* (pura pura):**

Se solicitó la taxonomía de la variedad biológica recolectada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, según el formato requerido. (ver anexo 1)

##### **5.1.3 Obtención del aceite esencial de *Xenophyllum poposum*:**

Las hojas y tallos de *Xenophyllum poposum* fueron cortados en trozos más pequeños de aproximadamente 5 cm. para luego ser llevados a un balón de vidrio de base plana de 1 litro. La extracción de aceite de *X. poposum* se realizó con la ayuda de un equipo de

destilación por arrastre de vapor, se empleó el sistema de doble balón de vidrio en el que se utilizó 150 mg. de hojas de *X. poposum* en un balón y 1 litro de agua destilada en el otro. El balón con agua destilada fue expuesto al calor con ayuda de una hornilla eléctrica para que pueda hervir a 100°C, una vez que el agua hirvió, se cerró el balón y los vapores de agua pasaron a través de un tubo de vidrio al siguiente balón que contenía la planta. El vapor mixto (aceite - agua) producido por el segundo balón pasó hacia el tubo refrigerante donde regresa a su estado líquido debido al cambio de temperatura. El aceite resultante se depositó en un tubo cerrado y estéril, en esta etapa del proceso es que pudimos observar el estado bifásico entre el aceite y el agua que como se sabe no pueden juntarse debido a que la densidad del aceite es menor a la del agua.

De esta forma pudimos filtrar el aceite de *X. Poposum* utilizando pipetas Pasteur, lo trasladamos a un recipiente de vidrio tapado herméticamente y fue envuelto con papel aluminio, almacenándolo en la refrigeradora a 6°C. Por 150 mg. de planta se extrajo 1,5 ml. de aceite esencial a base de *Xenophyllum poposum*.

#### **5.1.1 Determinación de la concentración del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura).**

Determinación de la densidad:

Donde:

d = densidad (g/ml)

m = masa (g)

v = volumen (ml)

m = 0,8159 g

v = 1 ml

$$D = \frac{m}{v}$$

$$d = \frac{0,8159 \text{ g}}{1 \text{ ml}}$$

$$d = 0,8159 \text{ g/ml}$$

$$1000 \text{ mg} \text{ ----- } 1 \text{ g}$$

$$x \text{ ----- } 0,8159 \text{ g}$$

$$x = 815,9 \text{ mg / ml}$$

$$815,9 \text{ mg} \text{ ----- } 1000 \text{ ul}$$

$$24,477 \text{ mg} \text{ ----- } 30 \text{ ul}$$

### 5.1.2 Reconocimiento de elementos del aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

El reconocimiento de los componentes por el método de cromatografía fue realizado en el Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, con sede en la ciudad de Cusco, Perú. (ver anexo 2)

### 5.1.3 Obtención de *Candida albicans*

La cepa de *Candida Albicans ATCC 10231* se obtuvo de una empresa proveedora de cepas microbianas (GenLab).

#### **5.1.4 Estimación de la actividad antifúngica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura).**

La actividad antimicótica del aceite esencial fue evaluada mediante la técnica de difusión en agar- Kirby Bauer.

##### **a. Preparación de medios de cultivo**

Empezamos con la preparación del medio caldo BHI (infusión cerebro corazón) según las proporciones del fabricante que indicaba 37 g en un litro de agua destilada, por lo que pesamos 3,7 g de polvo en la balanza de precisión para obtener 100 ml de medio líquido, distribuidos en 10 tubos de ensayo con 10 ml de caldo BHI cada uno.

El siguiente medio que preparamos fue el Agar Mueller Hinton que es un medio de cultivo especial para realizar antibiogramas y técnicas de difusión en disco. El fabricante indicaba 38g en un litro de agua destilada, para los fines del estudio se pesó 11,4 g de polvo para así obtener 300 ml de agar que después se repartirán de forma homogénea en 20 placas Petri, dando un volumen de 15 ml por placa.

Por último, se preparó Agar Papa Dextrosa (PDA) que es un medio de cultivo específico para trabajar con levaduras. Al igual que el caldo BHI, este agar también nos ayudó en la activación de la cepa *Candida albicans*. Las instrucciones indicaban 39 g en un litro de agua destilada. Eran necesarios 10 viales con 7 ml de medio cada uno, por lo que se pesó 2,73 g de polvo para obtener 70 ml de agar PDA.

Todos los medios preparados fueron llevados a la autoclave, que trabaja bajo el principio de calor húmedo, realizando el proceso de esterilización a 121°C, con una presión de 2 atm por un lapso de 15 minutos.

## b. Preparación de discos de sensibilidad

Los discos antibióticos estandarizados marca Liofilchem fueron obtenidos del distribuidor GenLab. Se necesitaron un total de 54 discos de sensibilidad con una determinada cantidad de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*. Se trabajó con 6 volúmenes de aceite esencial (17.5, 20.0, 22.5, 25.0, 27.5, 30.0 ul) y 9 repeticiones por cada tratamiento. Además, para el control positivo se usaron 3 discos con Nistatina 100 UI y para el control negativo de igual forma 3 discos en blanco. Fue necesario desprender el principio activo de la nistatina de los discos antibióticos es por ello que pasaron por un proceso de desnaturalización mediante esterilización, para eso colocamos 57 discos dentro de un vaso precipitado con agua destilada (350 ml aproximadamente) y lo ingresamos a la autoclave a 121°C con una presión de 2 atm por un lapso de 15 minutos. Finalmente desechamos el agua destilada y los discos pasaron a ser sometidos a calor seco a 180°C dentro del horno del laboratorio, antes de ello fueron separados y apoyados en las paredes del vaso precipitado para que no se peguen uno sobre otro.

**Tabla 1.** Concentración del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en los discos para las cepas de *Candida albicans*

N° de tratamiento	Volumen (ul)	Concentración [ ] (mg/ul)
1	17.5	14.278
2	20.0	16.318
3	22.5	18.358
4	25.0	20.397
5	27.5	22.437
6	30.0	24.477



**c. Activación de Candida albicans**

Realizamos una siembra por suspensión en caldo BHI. Con la ayuda de un asa de Kolle se recogió un poco de muestra del vial con Candida albicans para trasladarlo a un tubo con caldo BHI y lo almacenamos en la incubadora a 37°C durante 24 hrs. Al día siguiente se hizo un resembrado tomando una asada fúngica o micótica del tubo sembrado el día anterior y lo llevamos a un vial con Agar Papa Dextrosa realizando una siembra por estría o agotamiento, y nuevamente lo incubamos por 24 hrs a 37°C. Con estas activaciones consecutivas se buscó que la levadura pueda multiplicarse y aprender a nutrirse de caldo BHI y agar PDA.

**d. Preparación del inóculo micótico**

Empezamos realizando la última activación en caldo BHI, tomando un raspón de muestra del vial cultivado el día anterior y lo disolvemos en un tubo con caldo realizando una siembra por suspensión. Esta vez lo incubamos a 37°C por un periodo de 2 a 3 hrs. para poder observar el crecimiento bacteriano y se realizó la comparación de turbidez con el tubo 0,5 de la escalade Mc Farland de  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.

**e. Inoculación de placas**

Las placas de agar Mueller Hinton fueron inoculadas con la suspensión previamente estandarizada de Candida albicans a una concentración de  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml. Utilizando la micropipeta se cargó 100 ul de la solución y se sirvió en cada placa, luego con un asa Digrafsky se procedió a esparcir en forma circular por toda la superficie del agar realizando así una siembra por dispersión.

**f. Distribución de discos**

Tomamos el depósito que contenía el aceite esencial y con la ayuda de la micropipeta extrajimos la medida del volumen indicado para cada disco. Los discos fueron embebidos con 17,5 ul; 20 ul; 22,5 ul; 25 ul; 27,5 ul; y 30 ul de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*.

**g. Incubación**

Se envolvieron las placas en papel craft y se llevó a la incubadora a 37°C durante 24 hrs para hacer la lectura de los resultados al día siguiente.

**h. Lectura de resultados**

Transcurridas las 24 hrs se procedió a realizar la medición de los halos de inhibición, pero no hubo crecimiento micótico en ninguna de las placas sembradas por lo que se determinó que las concentraciones utilizadas presentaban una gran actividad fungicida frente al hongo *Candida albicans*. Para poder determinar la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima fungicida fue necesario reducir las concentraciones anteriormente trabajadas a 2,5 ul; 5 ul; 7,5 ul; 10 ul; 12,5 ul; y 15 ul.; repitiendo todo el proceso previamente hecho.

**Tabla 2.** Concentraciones reducidas del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en los discos para las cepas de *Candida albicans*

N° de tratamiento	Volumen (ul)	Concentración [ ] (mg/ul)
1	2.5	2.039
2	5.0	4.079
3	7.5	6.119
4	10.0	8.159
5	12.5	10.198
6	15.0	12.238

Después de haber trabajado con concentraciones más bajas se utilizó un calibrador digital para calcular la medida de los halos de inhibición. El diámetro de esta zona de inhibición es directamente proporcional a la acción antimicótica del aceite esencial sobre *Candida albicans*. Para el análisis de los resultados se hizo la comparación con la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz en base a la acción del aceite esencial:

- Nula (-): menor o igual a 8 mm.
- Sensibilidad limite (+): de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad media (++) : de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible (+++): igual o superior a 20 mm.

#### 5.1.5 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Sólo se tomó en cuenta a las concentraciones que evidenciaron zonas de inhibición fúngica. Para la obtención de la CMI para *Candida albicans* se empleó la técnica de macrodilución en tubos con medio caldo BHI, preparando diluciones del aceite esencial de *Xenophyllum Poposum* a distintas concentraciones, posteriormente se agregó una suspensión

microbiana constante de acuerdo al estándar de turbidez de 0,5 de Mc Farland. Fueron necesarios 11 tubos de 15 X 125 mm a los que se les añadió caldo BHI, aceite esencial de *Xenophyllum poposum* + DMSO y microorganismos de *C. albicans*.

Se tomó en consideración que la concentración inicial del aceite esencial fue disuelta en 3000 µl de volumen final, resultando en la concentración final de la solución lista para pasar la prueba de CMI.

Los tubos fueron llevados a incubación a 37°C por el lapso de 24 hrs. Los distintos tratamientos fueron comparados con los controles positivo (con solución microbiana) y negativo (sin solución microbiana).

Después de 24 hrs. se pudo observar la turbidez de las soluciones lo que significó la presencia de microorganismos. El tratamiento sin turbidez indicó la ausencia del crecimiento micótico (igualando al control negativo), que se denomina Concentración Mínima Inhibitoria.

**Tabla 3.** Volúmenes a utilizar para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*

Número de tratamiento	Vol. Aceite (ul)	[ ] (mg/ml)	Vol. final aceite (ul)	[ ] final (mg/ml)	DSMO (ul)	Caldo Brain Heart Infusion (BHI)	Vol. Hongo (ul)	Vol. final solución (ul)
T1	2,5	2,03	7,5	6,09	7,5	2685	300	3000
T2	2,78	2,256	8,34	6,768	8,34	2683,32	300	3000
T3	3,06	2,482	9,18	7,446	9,18	2681,64	300	3000
T4	3,33	2,708	9,99	8,124	9,99	2680	300	3000
T5	3,61	2,934	10,83	8,802	10,83	2678,34	300	3000
T6	3,89	3,16	11,67	9,48	11,67	2676,66	300	3000
T7	4,17	3,386	12,51	10,158	12,51	2674,98	300	3000
T8	4,44	3,612	13,32	10,836	13,32	2673,36	300	3000
T9	4,73	3,838	14,19	11,514	14,19	2671,62	300	3000
T10	5,0	4,07	15,00	12,21	15,00	2670	300	3000
T11	5,27	4,29	15,81	12,87	15,81	2668,38	300	3000
Control +	-	-	-	-	300	2400	300	3000
Control -	-	-	-	-	-	3000	-	3000

### **5.1.6 Determinación de la Concentración Mínima Fungicida (CMF) para *Candida albicans***

Obtenida la CMI por la técnica de macrodilución en medio líquido se pudo determinar la Concentración Mínima Fungicida (CMF), escogiendo los 3 tratamientos que no presentaron turbidez. Se cargó 100 µl de cada uno de los 3 tubos para resembrar en recipientes Petri con el medio Agar Mueller Hinton, con el asa bacteriológica se diseminó y llevamos a incubación a 37 °C por 24 hrs. Luego, se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) existentes para cada concentración del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* y se determinó como CMF a la placa en la que se observó  $\leq 1$  UFC.

### 5.1.7 Fabricación del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

El enjuague de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* se elaboró en base a la CMF hallada que fue de 3,386 mg/ml. Se utilizó una fórmula base que estuvo constituida por:

Agua destilada, glicerina, sorbitol, propilenglicol y el principio activo (aceite esencial a base de *Xenophyllum poposum*).

El tensoactivo hidrófilo fue elemental en el procedimiento de incorporar el aceite esencial en la fórmula.

Todos los elementos fueron usados en proporciones dentro de los rangos sugeridos. (26) En la Tabla 1 se muestra la fórmula unitaria para una presentación de 20 ml.:

**Tabla 4.** Fórmula unitaria de enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

Sustancia	Cantidad
Propilenglicol	0,75 g
Glicerina	3,675 g
Sorbitol	1,125 g
Alcohol 96°	1,25 ml
Aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i>	83,4 ul
Agua destilada	c.s.p.20 ml

### **Elaboración del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum***

El primer paso fue medir con la ayuda de una micropipeta, las cantidades necesarias para una presentación de 20 ml de enjuague bucal. Seguido a ello se procedió a agregar los ingredientes previamente medidos a un frasco de vidrio estéril mezclándolos en un agitador vórtex y poco a poco se fue añadiendo el disolvente (agua destilada) hasta llegar al volumen total necesario para la fórmula. Se mezcló durante 10 minutos aproximadamente y se dejó reposar.

### **Evaluación antibacteriana del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum***

Previo a la elaboración del enjuague bucal se hizo activaciones consecutivas del hongo *Candida albicans* tal y como se realizó en la determinación de actividad antibacteriana del aceite esencial de *Xenophyllum poposum*. Se hizo la comparación con un tubo 0.5 de la escala de Mac Farland y se sembró en placas Petri, distribuyendo la levadura homogéneamente. Se desarrollaron 9 repeticiones, por lo que llevamos 30 ul de nuestro enjuague formulado a cada disco. Finalmente se incubó a 37°C durante 24 horas para hacer la lectura de los resultados al día siguiente y así poder determinar la acción antibacteriana de nuestro enjuague bucal frente a *Candida albicans*.



## 5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos que se obtuvieron y se llenaron en las fichas fueron revisados minuciosamente para evitar errores. Posterior a ello, los resultados obtenidos fueron digitados en el programa Microsoft Excel 2016, para tener una base de datos general óptima y pueda ser analizada estadísticamente mediante estadística descriptiva e inferencial en el programa SPSS Statistics 25.

La estadística descriptiva se determinó con medidas de tendencia central (media aritmética y mediana) y medidas de dispersión (análisis de varianza, valor máximo, valor mínimo y el rango entre ellos).

Para escoger la prueba estadística inferencial primero tuvimos que evaluar la distribución de los datos obtenidos a través de la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk y prueba de igualdad de varianzas de Levene; luego de confirmar la normalidad de las variables se realizó una prueba estadística inferencial paramétrica. Se elaboraron gráficos de error con un intervalo de confianza del 95 % y error 5 %.

La prueba estadística inferencial paramétrica que se utilizó fue la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA) de dos factores y después de ello la prueba de comparaciones múltiples de Tuckey.

## **CAPITULO VI**

### **RESULTADOS**

#### **6.1 DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO**

Las actividades en el laboratorio consistieron en una primera fase, en la extracción del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en las instalaciones del laboratorio de Biología y Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann en septiembre del 2022.

La ejecución de las pruebas de laboratorio, desde la evaluación de la actividad antifúngica mediante la técnica de difusión en agar – Kirby Bauer hasta la fabricación del enjuague a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* se realizaron en el laboratorio de Biología y Microbiología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (Tacna) durante el periodo de octubre y noviembre del 2022.

Finalmente, se entregó la muestra del aceite esencial al Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – Pabellón de Control de Calidad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cusco. Los resultados fueron procesados con el programa SPSS Statistics 25. Se hizo uso de la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA) como prueba estadística inferencial paramétrica.

#### **6.2 DISEÑO DE LA PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS**

- Resultados descriptivos
- Contraste de hipótesis

**Tabla 5.** Composición fisicoquímica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

<b>Compuestos orgánicos volátiles (VOC)</b>	<b>Contenido Relativo %</b>
$\beta$ -Thujene	0.46
(-)- $\alpha$ -Pinene	3.16
Camphene	0.09
Hexanoic acid	0.28
$\beta$ -Phellandrene	1.00
(-)- $\beta$ -Pinene	6.54
$\beta$ -Myrcene	0.33
Hexanoic acid, ethyl ester	0.12
Octanal	0.07
$\alpha$ -Phellandrene	0.28
(+)-4-Carene	10.83
o-Cymene	3.28
$\beta$ -Phellandrene	4.10
$\gamma$ -Terpinene	1.15
cis- $\beta$ -Terpineol	0.12
1-Undecene	0.07
(+)-4-Carene	0.45
Linalol	0.72
cis-4-thujanol	0.15
(-)-Rose oxide	0.17
Octanoic acid, methyl ester	1.02
3-Octenoic acid, methyl ester, (Z)-	0.30
trans-Rose oxide	0.08
(R)-(+)-Citronellal	7.56
Isopulegol	0.43
4-Ethyl-2-hexynal	0.04
(-)-Terpinen-4-ol	3.51
Methyl 6-methyloctanoate	0.08
$\alpha$ -Terpineol	0.20
Estragole	1.30
trans-piperitol	0.07
Benzofuran, 2,3-dihydro-	0.08
(R)-(+)- $\beta$ -Citronellol	10.77
(Z)-citral neral	0.89
Geraniol	0.63
(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	0.66
Piperitone	0.47
$\alpha$ -Citral	1.43

2-Propenal, 3-phenyl-	0.13
6-Tetradecene, (Z)-	0.09
Carvacrol	0.26
Decanoic acid, methyl ester	0.04
2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester	0.08
8-hydroxyneomenthol	0.08
$\beta$ -Cadinene	0.11
2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	0.37
$\alpha$ -Cubebene	0.13
Eugenol	0.91
(+)- $\alpha$ -Longipinene	0.40
Copaene	0.70
6S-2,3,8,8-Tetramethyltricyclo [5.2.2.0(1,6)] undec-2-ene	0.04
$\beta$ -Cubebene	0.04
Fumaric acid, hexadecyl propyl ester	0.05
Caryophyllene	1.47
Acetic acid, cinnamyl ester	0.43
$\alpha$ -Cubebene	0.25
Humulene	0.39
$\alpha$ -Amorphene	0.98
(+)-epi-Bicyclosesquiphellandrene	0.17
gamma-Muurolene	0.26
(E)-germacrene	0.35
$\alpha$ -Muurolene	2.83
$\alpha$ -Amorphene	3.28
delta-cadinene	5.70
Epizonarene	0.12
Naphthalene	0.28
(+)-alpha-Muurolene	0.43
1, 1, 5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	0.17
trans-Nerolidol	0.26
13-Tetradecene-11-yn-1-ol	0.07
2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	0.10
Caryophyllene oxide	0.09
1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,4,7- tetramethyl-, [1aR- (1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.beta.,7a.beta ,7b.alpha.)]-	0.07
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6- dimethyl-4-(1-methylethyl)- .tau.-Cadinol	0.27
	2.65

Copaene	0.13
$\alpha$ -Cadinol	2.87
(+)-Ledene	0.39
6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	0.87
6-Amino-2,4-dimethyl-5-methoxyquinoline	0.05
Benzyl Benzoate	0.27
Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl	4.74
2-Propenoic acid, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-, methyl ester	0.05
Nonadecane	0.10
Manoyl oxide	0.10
Heneicosane	0.09

---

Fuente: Laboratorio

La tabla 5, muestra la composición fisicoquímica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum*. El tipo de análisis realizado fue un Perfil de Compuestos orgánicos en aceite esencial mediante el método de Cromatografía de Gases GC-MSD. Se encontraron distintos elementos químicos que son de utilidad farmacéutica, destacándose en mayor proporción el (+)-4-Carene con 10.83%, (R)-(+)-Citronellal con 7.56% y (R)-(+)- $\beta$ -Citronellol con 10.77%. Estos dos últimos tienen una especial importancia ya que poseen una fuerte actividad antifúngica debido al daño que causan sobre la membrana celular de distintas especies de *Candida*.

### Objetivo específico 1

**Tabla 6.** Prueba de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 por el método de difusión de disco (Kirby Bauer)

	VOL 15 ul [] 12,23 mg/ul	VOL 12.5 ul [] 10,19 mg/ul	VOL 10 ul [] 8,15 mg/ul	VOL 7.5 ul [] 6,11 mg/ul	VOL 5 ul [] 4,07 mg/ul	VOL 2.5 ul [] 2,03 mg/ul	Control +	Control -
D1 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	20,96	6,52	21,18	6,04
D2 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	17,89	6,54	22,49	6,02
D3 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	14,17	6,53	21,75	6,01
D4 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	14,47	6,54	21,51	6,02
D5 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	14,96	6,53	22,16	6,02
D6 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	14,51	6,52	21,69	6,03
D7 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	16,13	6,52	21,07	6,01
D8 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	15,87	6,54	22,28	6,00
D9 (mm)	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	16,44	6,53	22,13	6,04
<b>Prome dio</b>	> 45,00	> 45,00	> 45,00	> 45,00	16,15	6,53	21,80	6,02

### INTERPRETACIÓN:

En la Tabla 6 (prueba de Kirby Bauer) se puede observar que a volúmenes superiores a 5 ul el diámetro del halo de inhibición no fue registrable ya que superaba las dimensiones de la placa Petri (>45,00 mm) mientras que para el volumen de 5 ul el promedio de halo de inhibición fue de 16,15 mm y para el volumen de 2,5 ul el promedio fue de 6,53 mm. En el caso del control positivo (nistatina) el promedio de halo de inhibición fue de 21,80 mm y para el control negativo fue de 6,02 mm.

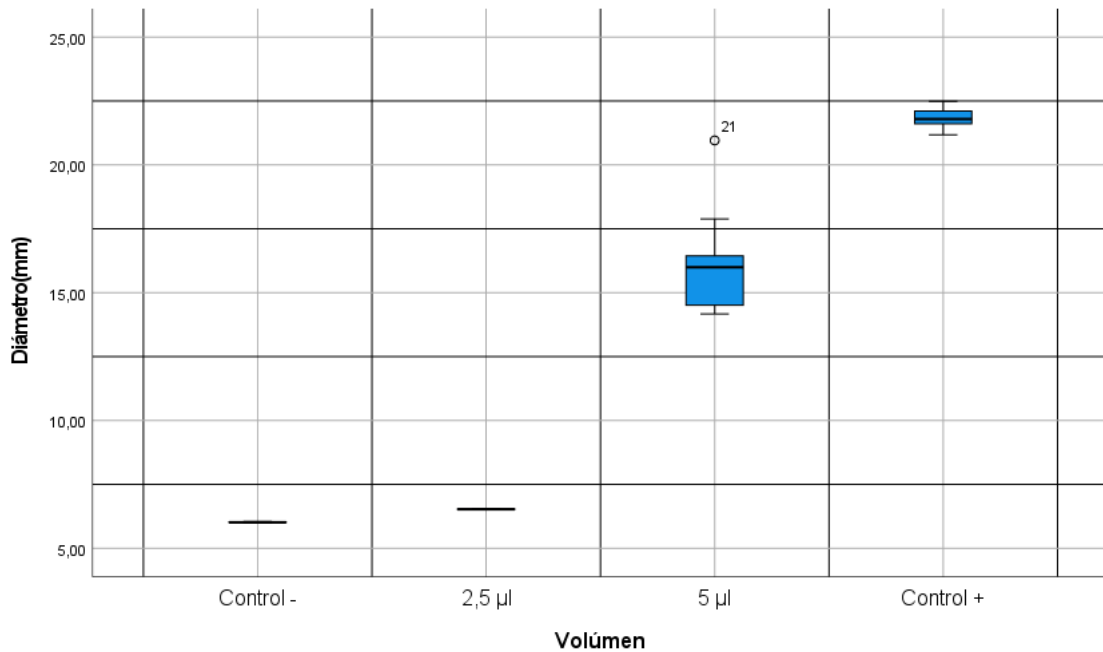
**Tabla 7.** Resultados de los estadísticos descriptivos de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en diferentes volúmenes 2,5 µl, 5 µl, 7,5 µl, 10 µl, 12,5 µl y 15 µl frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Volumen	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Vol. 2,5 µl	9	0,02	6,52	6,54	6,5300	0,00816
Vol. 5 µl	9	6,79	14,17	20,96	16,1550	2,03237
Vol. 7,5 µl	9	*	*	*	*	*
Vol. 10 µl	9	*	*	*	*	*
Vol. 12,5 µl	9	*	*	*	*	*
Vol. 15 µl	9	*	*	*	*	*
Control +	9	1.31	21.18	22.49	21.8370	0.36123
Control -	9	0.04	6.01	6.05	6.0270	0.01636

\* los valores son > 45 mm.

#### INTERPRETACIÓN:

En la Tabla 7 se observa la distribución por estadísticos descriptivos donde la actividad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) para el volumen de 2,5 µl y 5 µl frente a *Candida albicans* (ATCC 10231) tienen medias de 6,53 mm y 16,155 mm de diámetro de halos respectivamente y desviaciones estándar de 0,00816 y 2,03237. Con respecto a los demás volúmenes, los diámetros de sus halos superaron el diámetro del disco (> 45 mm).

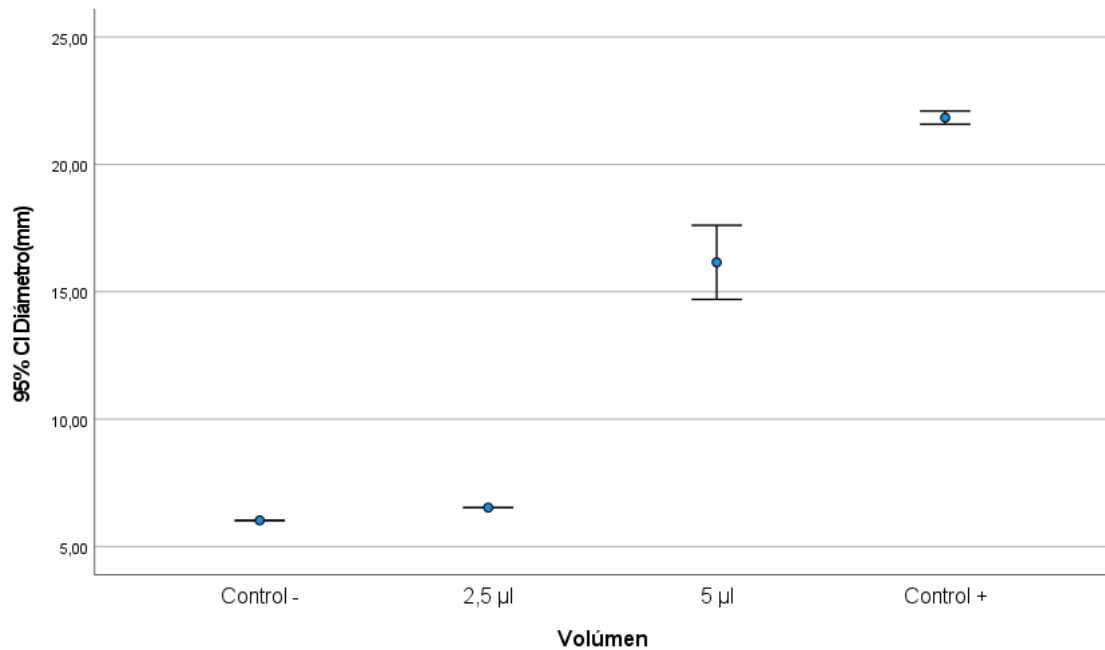


**Figura 1.** Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* en diferentes volúmenes frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

#### INTERPRETACIÓN:

Se puede ver en la Figura 1, que la distribución de datos para el volumen 2,5 µl están muy próximos a la media 6,53 mm (menor varianza), es decir, no hay variación significativa, además de que los resultados se aproximan al control (-). Para el grupo de 5 µl se puede apreciar una distribución de datos con mayor varianza, que se puede apreciar en la caja con bigotes, es decir, hay variación significativa comparado con los grupos control, además de que los resultados se aproximan al control (+).





**Figura 2.** Intervalos de confianza de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) en diferentes volúmenes frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

#### INTERPRETACIÓN:

Se puede observar en la Figura 2, los intervalos de confianza, con un 95% de confianza y 5% de error, en diferentes volúmenes del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

**Objetivo específico 2:**

**Tabla 8.** Resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Tubo	Concentración del aceite esencial (mg/ml)	Turbidez CMI
1	2,03	(+)
2	2,256	(+)
3	2,482	(+)
4	2,708	(+)
5	2,934	(+)
<b>6</b>	<b>3,16</b>	<b>(-)</b>
7	3,386	(-)
8	3,612	(-)
9	3,838	(-)
10	4,07	(-)
11	4,29	(-)

Positivo (+): Indica presencia de microorganismos (crecimiento micótico)

Negativo (-): Indica ausencia de microorganismos

**INTERPRETACIÓN:**

En la Tabla 8, se puede observar que, a partir de la concentración 3,16 mg/ml a más, no se observa turbidez en los tubos lo que indica soluciones con ausencia de microorganismos o ausencia del crecimiento micótico, por lo que, la concentración mínima inhibitoria es 3,16 mg/ml.

**Objetivo específico 3:**

**Tabla 9.** Resultados de la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Tratamiento	Concentración del aceite esencial (mg/ml)	UFC
Tubo N° 6	3,16	15
<b>Tubo N° 7</b>	<b>3,386</b>	<b>1 (CMF)</b>
Tubo N° 8	3,612	0

**INTERPRETACIÓN:**

De la Tabla 8, se pudo determinar que la CMI es 3,16 mg/ml, luego, tomando los tubos N° 6,7 y 8 los cuales no presentaron turbidez, se determinó la concentración mínima fungicida observándose 1 unidad formadora de colonia (UFC) que se encontró en el tubo N° 7 cuya concentración fue de 3,386 mg/ml.

**Objetivo específico 4:**

**Tabla 10.** Resultados de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante el método de difusión de disco (Kirby Bauer)

<b>Halos de inhibición (mm)</b>	<b>Enjuague bucal a base de aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i></b>	<b>Control Positivo</b>	<b>Control Negativo (Enjuague sin aceite esencial)</b>
Halo 1	27,94	22,14	6,09
Halo 2	28,73	21,75	6,02
Halo 3	28,47	21,91	6,05
Halo 4	32,76	21,56	6,03
Halo 5	31,90	22,38	6,04
Halo 6	32,37	21,82	6,01
Halo 7	30,18	22,19	6,06
Halo 8	28,25	22,06	6,02
Halo 9	27,66	21,47	6,08
Promedio	29,80	21,92	6,04

**INTERPRETACIÓN:**

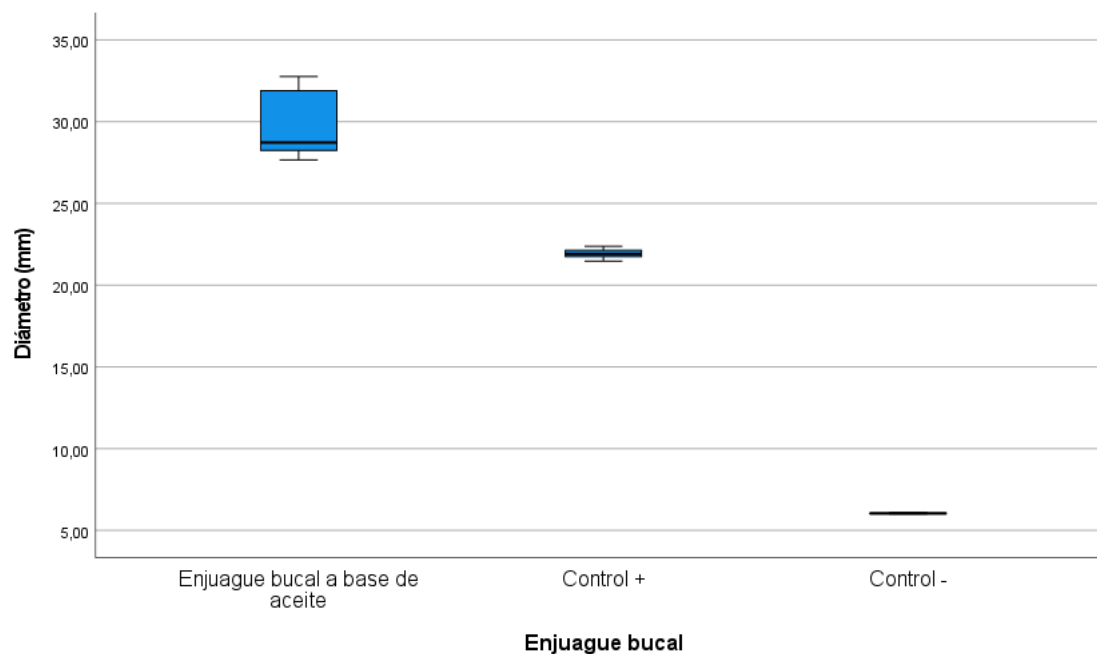
En la tabla 10 se observa el promedio de los halos de inhibición del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* a una concentración única de 3,386 mg/ml. con un promedio general de 29,80 mm, superando al control positivo (discos de sensibilidad de nistatina) con un promedio de halo de inhibición de 21,92 mm.

**Tabla 11.** Resultados de los estadísticos descriptivos de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) y la Nistatina (Control +), frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Enjuague bucal	N	Rango	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
<b>Enjuague bucal a base de aceite esencial de <i>Xenophyllum poposum</i></b>	9	5,10	27,66	32,76	29,8067	2,03949
<b>Nistatina (Control +)</b>	9	0,91	21,47	22,38	21,9200	0,30075
<b>Enjuague sin aceite esencial (Control -)</b>	9	0,08	6,01	6,09	6,0444	0,02789

**INTERPRETACIÓN:**

Se observa en la Tabla 11, la distribución de los estadísticos descriptivos de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura), la Nistatina y el enjuague sin aceite esencial frente a *Candida albicans* (ATCC 10231); tienen medias de 29,81 mm, 21,92 mm y 6,04 mm de diámetro de halos respectivamente y desviaciones estándar de 2,03949, 0,30075 y 0,02789.



**Figura 3.** Diagrama de cajas y bigotes de la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura), la Nistatina (Control +) y el enjuague bucal sin aceite (control -) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

#### **INTERPRETACIÓN:**

En la Figura 3 se puede observar que, la distribución de datos del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) es dispersa en comparación a los controles positivo y negativo, es decir, hay variación significativa con respecto a los controles, además de que los resultados del enjuague a base de aceite son mayores a los resultados del control (+) y mucho mayores a los resultados del control (-).

## CONTRASTE DE HIPÓTESIS

Para comprobar la hipótesis, previamente se realizó la prueba de normalidad, para nuestro caso ( $n < 50$ ), para lo cual, haremos uso de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, Tabla 5.

**Tabla 12.** Pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk.

Enjuague bucal		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Diámetro (mm)	Enjuague bucal a base de aceite esencial	0,257	9	0,089	0,852	9	0,078
	Control +	0,124	9	0,200*	0,975	9	0,936
	Control -	0,143	9	0,200*	0,938	9	0,557

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

H<sub>0</sub>: Los datos se distribuyen de manera normal.

H<sub>1</sub>: Los datos se distribuyen de manera No normal

La Tabla 12, muestra los valores p ó significancia, los cuales son mayores a 0,05; por lo que aceptamos H<sub>0</sub>, los datos se distribuyen de manera normal. Por lo tanto, debe usarse una prueba Paramétrica. Luego, elegimos la prueba paramétrica de análisis de varianza (ANOVA). Adicionalmente, realizaremos la prueba de homogeneidad de varianzas, test de Levene, Tabla 13.

**Tabla 13.** Prueba de homogeneidad de varianzas, test de Levene

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro(mm)	Se basa en la media	38,203	2	24	0,000
	Se basa en la mediana	8,795	2	24	0,001
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	8,795	2	8,170	0,009
	Se basa en la media recortada	36,714	2	24	0,000

Se puede ver, en la Tabla 13, que el valor  $p$  es aproximadamente cero, lo que implica, que las varianzas son distintas o diferentes.

Realizamos la prueba de ANOVA para demostrar la diferencia de medias entre los grupos estudiados, los resultados se muestran en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Resultados del análisis de varianza

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	2636,628	2	1318,314	930,415	0,000
<b>Dentro de grupos</b>	34,006	24	1,417		
<b>Total</b>	2670,634	26			

**H<sub>0</sub>:** El enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) no presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

**H<sub>a</sub>:** El enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

De acuerdo a la Tabla 14, se puede ver que el  $p$  - valor o significancia es menor a 0,05 por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, el enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans*.

También, consideramos una prueba POST HOC, de Tukey, para comparaciones múltiples, entre los grupos de estudio.

**Tabla 15.** Comparaciones múltiples, prueba POST HOC, de Tukey.

Enjuague bucal (I)	Enjuague bucal (J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
<b>Enjuague bucal a base de aceite</b>	Control +	7,88667*	0.56113	0.000	6.4854	9.2880
	Control -	23,76222*	0.56113	0.000	22.3609	25.1635
<b>Control +</b>	Enjuague bucal a base de aceite	-7,88667*	0.56113	0.000	-9.2880	-6.4854
	Control -	15,87556*	0.56113	0.000	14.4742	17.2769
	Enjuague bucal a base de aceite	-23,76222*	0.56113	0.000	-25.1635	-22.3609
	Control +	-15,87556*	0.56113	0.000	-17.2769	-14.4742

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Los resultados mostrados en la tabla 15, para los  $p$  - valores menores a 0,05, indican la existencia de diferencias significativas entre los grupos de estudio. Es decir, el efecto antimicótico para cada grupo de estudio es diferente.



## DISCUSIÓN

Las enfermedades bucales representan uno de los problemas más comunes en la salud universal. Las diversas patologías que afectan a la salud bucal surgen a partir de la formación de comunidades microbianas complejas organizadas en una matriz extracelular que se adhiere a las superficies dentales, denominada biopelícula o biofilm microbiano.

El cepillado dental es el método de higiene más importante en el control de las biopelículas microbianas. A pesar de ello, su efecto puede ser no tan eficaz en ciertos tipos de pacientes, por lo que puede ir acompañado de agentes quimioterapéuticos antimicrobianos.

Los agentes antimicrobianos de origen sintético son eficaces para reducir el número de microorganismos, sin embargo, poseen muchos efectos secundarios por lo que el interés en la investigación del empleo de plantas y derivados naturales de ellas ha ido creciendo. Siendo señalados los agentes naturales como opciones de tratamientos seguros, eficaces y accesibles para la población.

*Xenophyllum poposum* se encuentra ampliamente distribuida por Argentina, Bolivia, Chile y en las zonas altoandinas de Perú. Los pobladores de la zona rural la usan como medicina tradicional para tratar enfermedades digestivas, hipertensión, mal de altura

y neumonía, además de ser utilizada como antipirético, sedante y antiinflamatorio. Por consiguiente, la finalidad de esta investigación es establecer la actividad fúngica de un enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*.

El primer procedimiento que se hizo fue extraer el aceite esencial de *Xenophyllum poposum*, al que después se le realizó un perfil de compuestos orgánicos. Los principales componentes encontrados fueron el (+)-4-Careno (10,83%), (R)-(+)- $\beta$ -Citronelol (10,77%), (R)-(+)-Citronelal (7,56%), (-)- $\beta$ -Pinenol (6,54%),  $\delta$ -cadineno (5,70%), Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl (4,74%),  $\beta$ -Felandreno (4,10%), (-)-Terpinen-4-ol (3,51%),  $\alpha$ -Amorfeno (3,28%), o-Cimeno (3,28%), (-)- $\alpha$ -Pinenol (3,16%),  $\alpha$ -cadinol (2,87%) y  $\alpha$ -Muuroleone (2,83%); que en conjunto representan el 69,17 % del total del aceite esencial, en ese sentido, resultados similares en cuanto a la presencia de los elementos en mención, reportan González A. M. y Cols. (6) en el año 2012 en Argentina, quienes realizaron uno de los primeros estudios acerca de la composición química y las propiedades antimicrobianas del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* identificando 56 compuestos que representan el 92,9% del aceite, de los cuales  $\delta$ -cadineno (16,5 %), 6-hidroxitretonea (14,7 %), epic- $\alpha$ -cadinol (12,0 %),  $\alpha$ -cadinol (8,8 %),  $\gamma$ -cadineno (7,5 %), 1 - *epi* -cubenol (4,2%) y  $\alpha$ -muuroleone (3,0%) fueron los componentes principales.

Abella A. y Cols. (27) realizaron un artículo de investigación acerca de la etnobotánica, aceites Volátiles y tejidos de secreción de *Werneria Poposa* de Argentina. En dicho artículo treinta y un componentes fueron detectados en el aceite esencial mediante análisis GC/MS. El aceite se caracterizó por la presencia de alto contenido de  $\beta$ -pineno (21,7%),  $\alpha$ -pineno (5,5%), terpineno-4-ol (5,3%),  $\alpha$ -terpineno (5,2%),  $\beta$ -felandreno + 1,8-cineol (4,8%), isopulegol (4,8%) y  $\beta$ -citronelal (4,6%).

En cuanto a la composición orgánica del aceite esencial podemos discutir y establecer comparaciones con el estudio realizado por González A. M. y Cols. (6) en el que su muestra de aceite esencial estuvo dominada por los sesquiterpenoides (72,2 %) con cantidades casi iguales de hidrocarburos sesquiterpénicos (36,0 %) y sesquiterpenos oxigenados (36,2 %). La cantidad de monoterpenoides fue muy baja representando apenas el 3,6% del aceite. Además de contener cantidades significativas de 6-hidroxitremetona (14,7 %) y tremetona (1,7 %). Mientras que en nuestra muestra la presencia de monoterpenoides fue mayor con más del 58,83% del total del aceite, seguido de los sesquiterpenoides con 23,45% y cantidades nulas de 6-hidroxitremetona. Referente a los componentes orgánicos en específico hallamos coincidencias en el  $\delta$ -cadineno presentándose en 16,5 % en la muestra de González A. M. y Cols. (6) y un 5,70% en nuestra muestra. Por otra parte, también encontramos coincidencia en  $\alpha$ -cadinol, compuesto que en el estudio de González A. M. y Cols. (6) se encontró en 8,8% mientras que en la muestra obtenida por nosotros se encontró en un 2,87%. En el estudio realizado por Abella A. y Cols. (27) sobre *Xenophyllum*

poposum recolectada en un lugar no revelado de la Puna Argentina produjo un aceite volátil cualitativamente más semejante a nuestra muestra en cuanto a la dominancia de los monoterpenoides con un 76,4% y la ausencia de análogos de tremetona. Además, encontramos coincidencias en el  $\beta$ -pineno, pero en diferentes porcentajes, presentándose en un 21,8% en la muestra de Abella A. y Cols. (27) y un 6,54% en la muestra recolectada por nosotros. De igual manera el  $\beta$ -citronelal con la presencia de un 4,6% en el estudio realizado por Abella A. y Cols. (27), mientras que en nuestro aceite estuvo presente en un 10,77%. Estas similitudes respecto a la composición química, pero diferencias en cuanto a porcentajes sugieren la posibilidad de estarse tratando con quimiotipos diferentes, un rasgo que se encuentra con frecuencia en las plantas aromáticas debido a la diferencia de climas, distintas zonas de recolección y gran número de factores que pueden intervenir en la muestra.

En lo que respecta al objetivo de determinar la sensibilidad antifúngica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a *Candida albicans*, mediante la técnica de difusión de disco, se encontró que el valor promedio observado en los halos de inhibición frente a *C. albicans* cuando aplicamos el aceite esencial de *Xenophyllum poposum* es de 33,78 mm, mientras que cuando aplicamos el enjuague elaborado a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* es de 29,80 mm en promedio. Los valores por encima de los 20 mm son considerados sumamente sensibles según la escala de sensibilidad de Duraffourd y Lapraz. Torres S.C. y Cols. (7) estudiaron la actividad antimicrobiana de *Xenophyllum poposum* sobre microorganismos de la

cavidad bucal por el método de difusión radial. En dicho estudio formularon distintos tipos de extractos a base de *Xenophyllum poposum*, en el que el extracto etanólico presentó la mayor actividad antibacteriana, especialmente contra *Candida albicans* (Halo de 15 mm.), *A. odontolyticus* (Halo de 15 mm.), *S. mutans* (Halo de 14 mm.), *S. sobrinus* (Halo de 14 mm.), *A. naeslundii* (Halo de 14 mm.) y *L. casei* (Halo de 12 mm.). Teniendo en cuenta el porcentaje de inhibición, el extracto etanólico de *Xenophyllum poposum* podría ser considerado de alta efectividad antimicrobiana ya que éste resultó ser superior al 70% con respecto a la clorhexidina sobre todas los microorganismos evaluados. Por otro lado el extracto de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* reveló una sensibilidad límite contra *Candida albicans* (Halo de 10 mm.) y una sensibilidad nula frente a los demás microorganismos. En esta investigación el aceite esencial fue el que menor acción antimicrobiana demostró sobre los microorganismos estudiados.

Zea Y. (12) estudió el efecto antibacteriano de *Xenophyllum dactylophyllum* (pupusa) y *Werneria sp* (pura pura) sobre *Escherichia coli* en condiciones de laboratorio. La mayor inhibición se encontró en la concentración de 100% con un promedio de halo de inhibición de 15,03 mm para *Xenophyllum dactylophyllum* y 13,96 mm en el caso de *Werneria sp*. De igual manera que en nuestra investigación, a mayor concentración, mayor grado de inhibición microbiana. Comparando estas investigaciones a la nuestra los valores difieren y siguen estando muy por debajo de los hallados para el enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum*

poposum (29,80 mm.) y el aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (33,78 mm.) que elaboramos en nuestro estudio.

En cuanto a la concentración mínima inhibitoria (CMI) se pudo identificar la ausencia de crecimiento micótico a partir de la concentración 3,16 mg/ml a más. González A. M. y Cols. (6) evaluaron las concentraciones mínimas inhibitorias (mg/ml) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a distintos microorganismos como *Escherichia coli* ATCC 35218 (CMI 0,74 mg/ml), *Pseudomonas aeruginosa* (CMI 0,71 mg/ml), *Staphylococcus aureus* (CMI 0,5 mg/ml), *Aspergillus fumigatus* (CMI 0,025 mg/ml), mostrando resistencia para *Candida albicans*.

En este estudio también se halló la concentración mínima fungicida (CMF) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) que fue de 3,386 mg/ml con lo que se elimina el 99% de *C. albicans* ATCC 10231. En ese sentido, Vidal (15) halló un CMF de 9,8 mg/ml, concluyendo que su fórmula etanólica procedente de las vainas de Tara presentan una mayor actividad antifúngica que la Nistatina al igual que en la presente investigación pero con la diferencia de que nuestro aceite esencial de *Xenophyllum poposum* presenta un valor más bajo de CMF frente a *Candida albicans*.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó que el enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* presenta un efecto antimicótico frente a *Candida albicans* con un promedio general de 29,80 mm. de diámetro de halo de inhibición a una concentración única de 3,386 mg/ml.
2. Se determinó la sensibilidad antimicótica del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) en diferentes volúmenes frente a *Candida albicans* (ATCC 10231), cuyos resultados fueron los siguientes: para 2,5 µl se obtuvo una media de 6,53 mm de diámetro de halo, que corresponde a una sensibilidad Nula(-) en la escala de sensibilidad de Duraffourd; para 5 µl se obtuvo una media de 16,155 mm de diámetro de halo, que corresponde a una sensibilidad media (++); y para los volúmenes 7,5 µl, 10 µl, 12,5 µl y 15 µl, los diámetros de halos superaron el diámetro del disco (>45 mm.).
3. Al evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a *Candida albicans* (ATCC 10231) se determinó que, para concentraciones mayores 3,16 mg/ml, se obtuvo soluciones con ausencia de microorganismos, por lo que, la concentración mínima inhibitoria es 3,16 mg/ml.

4. Se determinó la Concentración Mínima Fungicida (CMF) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a *Candida albicans* (ATCC 10231), cuyo resultado fue de 3,386 mg/ml.
  
5. Se comparó la actividad antimicótica del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a la nistatina, los resultados obtenidos muestran diferencias significativas con una media de 29,80 mm. de halo de inhibición del enjuague bucal a base de aceite esencial frente a una media de 21,92 mm. de halo de inhibición de la nistatina. El enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) tiene mayor efecto antimicótico que la Nistatina.



## RECOMENDACIONES

- Enfocar a complementar con otras pruebas como la citotoxicidad, para luego continuar con estudios in vivo en animales y poder valorar los posibles efectos tóxicos del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*.
- Seguir incentivando a estudiar plantas oriundas de Tacna para poner a prueba de forma científica otras propiedades de diversas plantas que se conocen sólo de forma empírica.
- Continuar con la línea de investigación, en vista de sus buenos resultados de acción antimicrobiana, además de recomendar su promoción, uso y elaboración de recetas farmacéuticas de carácter odontológico que incorporen sus componentes naturales.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Martínez S., Mollinedo P., Mamani O. Estudio in vitro de la actividad antifúngica de extractos vegetales del género *Baccharis* sobre *Candida albicans*. Rev. Bol. Quim v.28 n.1 La Paz 2011. [En línea] Recuperado de [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0250-54602011000100006](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602011000100006)
  
2. Lock O., Rojas R. Phytochemistry and Biological Activities of *Werneria* and *Xenophyllum* species. [En línea] 2019. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Olga-Lock/publication/336720825\\_Revision\\_Review\\_Phytochemistry\\_and\\_Biological\\_Activities\\_of\\_Werneria\\_and\\_Xenophyllum\\_species/links/5daf28154585155e27f7cf1d/Revision-Review-Phytochemistry-and-Biological-Activities-of-Werneria-and-Xenophyllum-species.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Olga-Lock/publication/336720825_Revision_Review_Phytochemistry_and_Biological_Activities_of_Werneria_and_Xenophyllum_species/links/5daf28154585155e27f7cf1d/Revision-Review-Phytochemistry-and-Biological-Activities-of-Werneria-and-Xenophyllum-species.pdf)
  
3. Beltrán H. Sinópsis del Género *Xenophyllum* (Asteraceae: Senecioneae) del Perú. *Arnaldoa* 23 (1): 351 - 362, 2016 [En línea] 2016. Recuperado de <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/viewFile/250/219>
  
4. Fiallos V. Actividad antifúngica del té verde (*Camellia Sinensis*) y tomillo (*Thymus Vulgaris*) frente a *Candida albicans*. (Tesis). Universidad Nacional de Chimborazo. [En línea]. Ecuador, 2021.

5. Pérez O, Vallejos E. Actividad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de Rosmarinas officinalis contra Candida albicans. J Selva Andina Res Soc [Internet]. 2019 [citado el 21 de abril de 2022]; 10(1):45–51. Disponible en: [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2072-92942019000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942019000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
6. González A, Tracanna M, Amani S, Schuff C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties of the volatile oil and methanol extract of Xenophyllum poposum. Natural Product Communications [Internet]. 2012;7(12):1663–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1177/1934578x1200701230>
7. Torres S, Gutiérrez de Ferro M, Tracanna M, Gutiérrez S. Estudio de la actividad antimicrobiana de Xenophyllum poposum sobre microorganismos de la cavidad bucal por el método de difusión radial. Acta Bioquim Clin Latinoam [Internet]. 2022 [citado el 21 de febrero de 2023];56(1):37–42. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572022000100037&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572022000100037&script=sci_abstract&tlng=pt)
8. Cadena P., Pazán P., Farfán A. Efecto antifúngico de diferentes concentraciones del extracto de Uncaria Tomentosa sobre Candida albicans: Estudio in vitro. RO [Internet]. 15 de octubre de 2018 [citado 13 de diciembre de 2021];19(2):30-9. Disponible en: <https://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/odontologia/article/view/1073>

9. Sookto T, Srithavaj T, Thaweboon S, Thaweboon B, Shrestha B. In vitro effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2013;3(5):376–80. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169113600805>
  
10. Guilcaso J., Palacios E. Efecto inhibitorio del aceite esencial de la cáscara de toronja a diferentes concentraciones y tiempos sobre *Cándida Albicans* y *Enterococcus Faecalis*. Estudio comparativo in vitro. (Tesis) Universidad Central del Ecuador [En línea]. Quito, 2021.
  
11. Doddanna S, Patel S, Sundarrao M, Veerabhadrapa R. Antimicrobial activity of plant extracts on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian J Dent Res* [Internet]. 2013 [citado el 13 de diciembre de 2021]; 24(4):401–5. Disponible en: <https://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2013;volume=24;issue=4;spage=401;epage=405;aulast=Doddanna>
  
12. Zea Y. Efecto antibacteriano de *Xenophyllum dactylophyllum* (PUPUSA) y *Werneria* sp (pura pura) sobre *Escherichia coli* en condiciones de laboratorio 2018. (Tesis) Universidad Nacional del Altiplano [En línea]. Puno, 2019.
  
13. Villavicencio Gastelú JE, Moromi Nakata H, Salcedo- Moncada D, Pineda-Mejía M, Ramos Perfecto D, Zambrano de la Peña LS, et al. Efecto Antimicótico in vitro de *Origanum vulgare* sobre cepas de *Candida albicans*. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 2017 [citado el 12 de diciembre de 2021];19(2):5.

Disponible en:

<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/12907>

- 14.** Tuyo L. Efecto de la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial de *Tagetes minuta* L. “huacatay” frente a *Candida albicans*. (Tesis) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann [En línea]. Tacna, 2015.
  
- 15.** Vidal J. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico obtenido de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) comparado con discos de sensibilidad de nistatina, sobre un cultivo de *Candida albicans* obtenido en pacientes con diagnóstico de estomatitis subprótesis que acuden al Centro de Salud Ciudad Nueva de Tacna en el año 2020. (Tesis) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann [En línea]. Tacna, 2021.
  
- 16.** Calvo J, Moreira-Muñoz A. Taxonomic revision of the Andean genus *Xenophyllum* (Compositae, Senecioneae). *PhytoKeys* [Internet]. 2020; 158:1–106. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3897/phytokeys.158.50848>
  
- 17.** Catalán C, Sampietro D. *Xenophyllum poposum* (Philippi) V.A. Funk. En: Máthé Á, Bandoni A, editores. *Medicinal and Aromatic Plants of the World*. Cham: Springer International Publishing; 2021. p. 525–35.
  
- 18.** Zijng V, Van Leeuwen M, Degener J, Abbas F, Thurnheer T, Gmür R, et al. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS One* [Internet]. 2010;5(2):

e9321. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0009321>

- 19.** Fujinami W, Nishikawa K, Ozawa S, Hasegawa Y, Takebe J. Correlation between the relative abundance of oral bacteria and *Candida albicans* in denture and dental plaques. *J Oral Biosci* [Internet]. 2021;63(2):175–83. Disponible en:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1349007921000165>
- 20.** Negrini T, Koo H, Arthur R. *Candida*-bacterial biofilms and host-microbe interactions in oral diseases. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2019; 1197:119–  
41. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31732939/>
- 21.** Pereira D, Seneviratne C, Koga-Ito C, Samaranayake L. Is the oral fungal pathogen *Candida albicans* a cariogen? *Oral Dis* [Internet]. 2018;24(4):518–  
26. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28513096/>
- 22.** Du Q, Ren B, He J, Peng X, Guo Q, Zheng L, et al. *Candida albicans* promotes tooth decay by inducing oral microbial dysbiosis. *ISME J* [Internet]. 2021;15(3):894–908. Disponible en:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33149208/>
- 23.** Vasquez L. Efecto antifúngico in vitro del extracto etanólico de *Prosopis Pallida* (Algarrobo) sobre *Candida Albicans* ATCC 90028. (Tesis) Universidad César Vallejo. [En línea]. Piura, 2017.

- 24.** Otero E, Peñamaría M, Rodríguez M. Candidiasis oral en el paciente mayor. Av Odontoestomatol [Internet]. 2015 [citado el 7 de marzo de 2022];31(3):135–48. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852015000300004&script=sci\\_arttext&tlng=en](https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852015000300004&script=sci_arttext&tlng=en)
- 25.** Benavent C. Desarrollo galénico de nuevas formulaciones de nistatina para uso en candidiasis oral. (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid. [En línea]. Madrid, 2019.
- 26.** Mosquera T, Veloz T. Eficacia in-vitro de un colutorio elaborado con aceite esencial de la hoja de ishpingo *Ocotea quixos* (Lam.) Kostern. ex O.C.Schmidt y clavo de olor *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry. Granja [Internet]. 2011 [citado el 13 de enero de 2023];13(1):31. Disponible en: <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/13.2011.04>
- 27.** Abella L, Cortella AR, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso MJ. Ethnobotany, volatile oils and secretion tissues of *werneria poposa* from Argentina. Pharm Biol [Internet]. 2000;38(3):197–203. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1076/1388-0209\(200007\)3831-SFT197](http://dx.doi.org/10.1076/1388-0209(200007)3831-SFT197)

## Anexo 1: Identificación de la especie biológica



### HERBARIO TAKANA (TKA)

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann  
Facultad de Ciencias  
Ciudad Universitaria - Av. Miraflores s/n, Tacna - Perú



*"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"*

#### Constancia N° 005 – TKA- 2023

EL DIRECTOR DEL HERBARIO TAKANA (TKA) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra alcanzada a este despacho por **Ambar Di Laura Altamirano Alave**, identificado con DNI N° 47895168, con domicilio legal en Asoc. Guillermo Auza Arce Mz D Lte 19; estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Privada de Tacna, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del proyecto de Tesis: "Efecto antimicótico de un enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* (pura pura) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Estudio in vitro", ha sido estudiada y clasificada como: *Xenophyllum poposum* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION MAGNOLIOPHYTA

CLASE MAGNOLIOPSIDA

ORDEN ASTERALES

FAMILIA ASTERACEAE

GENERO *Xenophyllum*

ESPECIE *Xenophyllum poposum* (Phil.) V.A. Funk

Nombre vulgar: Pura pura

Determinado por: Bach. Cs. Biol. Javier Máximo Ignacio Apaza

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Tacna, 09 de febrero del 2023



**Dr. PABLO JUAN FRANCO LEON**  
Director del Herbario (TKA)

cc: Herbario TKA



## Anexo 2: Resultados de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

## RESULTADOS

Cusco, 25 de Noviembre del 2022<sup>57</sup>

Solicitante : Ambar Di Laura Altamirano Alave  
 Tipo de Análisis : Perfil de Compuestos orgánicos en aceite esencial  
 Método : Cromatografía de Gases GC-MSD.  
 Cantidad y tipo de Muestra : 1 frascos con contenido liquido denominado aceite esencial de *Xenophyllum poposun* 1.5 ml aprox.  
 Almacenamiento : 4 °C.

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
1	7.09	$\beta$ -Thujene	028634-89-1	93	0.46
2	7.33	(-)- $\alpha$ -Pinene	007785-26-4	96	3.16
3	7.75	Camphene	000079-92-5	98	0.09
4	8.23	Hexanoic acid	000142-62-1	90	0.28
5	8.37	$\beta$ -Phellandrene	000555-10-2	94	1.00
6	8.53	(-)- $\beta$ -Pinene	018172-67-3	97	6.54
7	8.71	$\beta$ -Myrcene	000123-35-3	91	0.33
8	8.87	Hexanoic acid, ethyl ester	000123-66-0	93	0.12
9	9.04	Octanal	000124-13-0	98	0.07
10	9.23	$\alpha$ -Phellandrene	000099-83-2	91	0.28
11	9.60	(+)-4-Carene	029050-33-7	98	10.83
12	9.80	<i>o</i> -Cymene	000527-84-4	97	3.28
13	9.99	$\beta$ -Phellandrene	000555-10-2	91	4.10
14	10.79	$\gamma$ -Terpinene	000099-85-4	95	1.15
15	11.07	cis- $\beta$ -Terpineol	007299-41-4	96	0.12
16	11.61	1-Undecene	000821-95-4	91	0.07
17	11.70	(+)-4-Carene	029050-33-7	97	0.45
18	11.91	Linalol	000078-70-6	96	0.72
19	12.02	cis-4-thujanol	015537-55-0	96	0.15
20	12.31	(-)-Rose oxide	016409-43-1	91	0.17
21	12.60	Octanoic acid, methyl ester	000111-11-5	83	1.02
22	12.72	3-Octenoic acid, methyl ester, (Z)-	069668-85-5	78	0.30
23	12.85	trans-Rose oxide	000876-18-6	91	0.08
24	13.57	(R)-(+)-Citronellal	002385-77-5	95	7.56
25	13.86	Isopulegol	007786-67-6	97	0.43
26	14.22	4-Ethyl-2-hexynal	071932-97-3	47	0.04
27	14.48	(-)-Terpinen-4-ol	020126-76-5	97	3.51
28	14.69	Methyl 6-methyloctanoate	005129-62-4	74	0.08
29	14.82	$\alpha$ -Terpineol	000098-55-5	96	0.20
30	15.01	Estragole	000140-67-0	98	1.30

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11 (se reporta mayores al 70%)

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)



*Jorge Chequenaira Pari*  
 Quijilico, Jorge Chequenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 CDP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

**RESULTADOS**

continua

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
31	15.31	trans-piperitol	016721-39-4	81	0.07
32	15.44	Benzofuran, 2,3-dihydro-	000496-16-2	74	0.08
33	15.80	(R)-(+)-β-Citronellol	001117-61-9	98	10.77
34	16.25	(Z)-citral neral	000106-26-3	97	0.89
35	16.54	Geraniol	000106-24-1	78	0.63
36	16.68	(S)-(-)-Citronellic acid, methyl ester	1000333-55-1	99	0.66
37	16.79	Piperitone	000089-81-6	96	0.47
38	17.08	α-Citral	000141-27-5	97	1.43
39	17.23	2-Propenal, 3-phenyl-	000104-55-2	98	0.13
40	17.59	6-Tetradecene, (Z)-	041446-61-1	78	0.09
41	17.92	Carvacrol	000499-75-2	91	0.26
42	18.51	Decanoic acid, methyl ester	000110-42-9	98	0.04
43	18.56	2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, methyl ester	002349-14-6	96	0.08
44	19.01	8-hydroxyneomenthol	1000374-16-1	87	0.08
45	19.17	β-Cadinene	000523-47-7	95	0.11
46	19.34	2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	002792-39-4	98	0.37
47	19.55	α-Cubebene	017699-14-8	99	0.13
48	19.67	Eugenol	000097-53-0	98	0.91
49	19.74	(+)-α-Longipinene	005989-08-2	99	0.40
50	20.39	Copaene	003856-25-5	98	0.70
51	20.62	6S-2,3,8,8-Tetramethyltricyclo [5.2.2.0(1,6)] undec-2-ene	137235-48-4	90	0.04
52	20.74	β-Cubebene	013744-15-5	96	0.04
53	21.06	Fumaric acid, hexadecyl propyl ester	1000330-39-0	78	0.05
54	21.69	Caryophyllene	000087-44-5	99	1.47
55	22.01	Acetic acid, cinnamyl ester	000103-54-8	99	0.43
57	22.48	α-Cubebene	017699-14-8	90	0.25
58	22.61	Humulene	006753-98-6	97	0.39
59	22.82	α-Amorphene	000483-75-0	97	0.98
60	23.04	(+)-epi-Bicyclosesquiphellandrene	054274-73-6	81	0.17

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11 (se reporta mayores al 70%)

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)



*Jorge Chiquenaira*

Químico, Jorge Chiquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

**RESULTADOS**

continúa

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
61	23.10	gamma-Murolene	030021-74-0	99	0.26
62	23.32	(E)-germacrene	023986-74-5	99	0.35
64	23.72	α-Murolene	031983-22-9	97	2.83
65	24.14	α-Amorphene	000483-75-0	98	3.28
66	24.32	delta-cadinene	000483-76-1	97	5.70
67	24.42	Epizonarene	041702-63-0	96	0.12
68	24.60	Naphthalene	016728-99-7	99	0.28
69	24.72	(+)-alpha-Murolene	017627-24-6	98	0.43
70	24.90	1, 1, 5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	1000357-25-8	80	0.17
71	25.10	trans-Nerolidol	040716-66-3	91	0.26
72	25.31	13-Tetradec-11-yn-1-ol	1000131-00-4	86	0.07
73	25.67	2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	1000191-76-5	90	0.10
74	26.06	Caryophyllene oxide	001139-30-6	90	0.09
75	26.26	1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro- 1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR- (1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.beta.,7a.beta. .,7b.alpha.)]-	028580-43-0	92	0.07
76	26.75	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6- dimethyl-4-(1-methylethyl)-	016728-99-7	90	0.27
78	27.36	.tau.-Cadinol	005937-11-1	93	2.65
79	27.46	Copaene	003856-25-5	97	0.13
80	27.70	α-Cadinol	000481-34-5	99	2.87
81	28.09	(+)-Ledene	021747-46-6	90	0.39
82	28.92	6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl- 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2- ol	1000189-10-2	90	0.87
83	29.50	6-Amino-2,4-dimethyl-5-methoxyquinoline	084264-47-1	70	0.05
84	30.21	Benzyl Benzoate	000120-51-4	98	0.27
85	30.94	Dihydrocoumarin, 4,4,5,7,8-pentamethyl	039170-97-3	70	4.74
86	32.59	2-Propenoic acid, 3-(3,4- dimethoxyphenyl)-, methyl ester	005396-64-5	94	0.05
87	32.75	Nonadecane	000629-92-5	98	0.10
88	36.14	Manoyl oxide	000596-84-9	95	0.10
89	37.33	Heneicosane	000629-94-7	99	0.09

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11 (se reporta mayores al 70%)

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)



*[Handwritten Signature]*

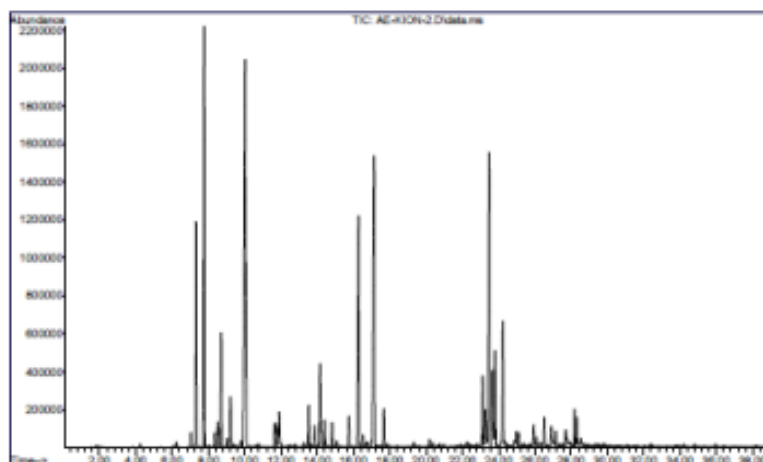
Químico. Jorge Chequenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - UNSAAC.  
 COP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE CIENCIAS  
 LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad  
 AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

## RESULTADOS

### Cromatograma



#### Condiciones de analisis para Aceite esencial

Cromatógrafo: Agilent 6890N  
 Software de Control: Chemstation B.030  
 Detector de Masas: Agilent 5975B  
 Energía de Ionización: 70eV  
 Modo de Ionización: Impacto Electrónico (IE)  
 Modo de escaneo de masas: 40 a 400 uma  
 Retraso del disolvente: 0.0 minutos  
 Inyector Automático: Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno inicial 60 °C, incremento de 5 °C/minuto hasta 230 °C, 5 min 230 °C

Puerto de Inyección  
 Modo : Split (con división)  
 Relación de Split : 70:1  
 Temp. Inicial : 200 °C  
 Tipo de Gas : Helio  
 Flujo : 1 mL/min  
 Volumen de Inyección : 0.1 uL  
 Muestra inyecta : Puro  
 Tiempo de Análisis : 39.0 min

#### Referencia

- Pino Alea, J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN



  
 Quirico, Jorge Choquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría – UNSAAC.  
 CQP - 914

#### Anexo 4: Galería de fotografías



Figura 3-4: Muestra vegetal de *Xenophyllum poposum* (pura pura)

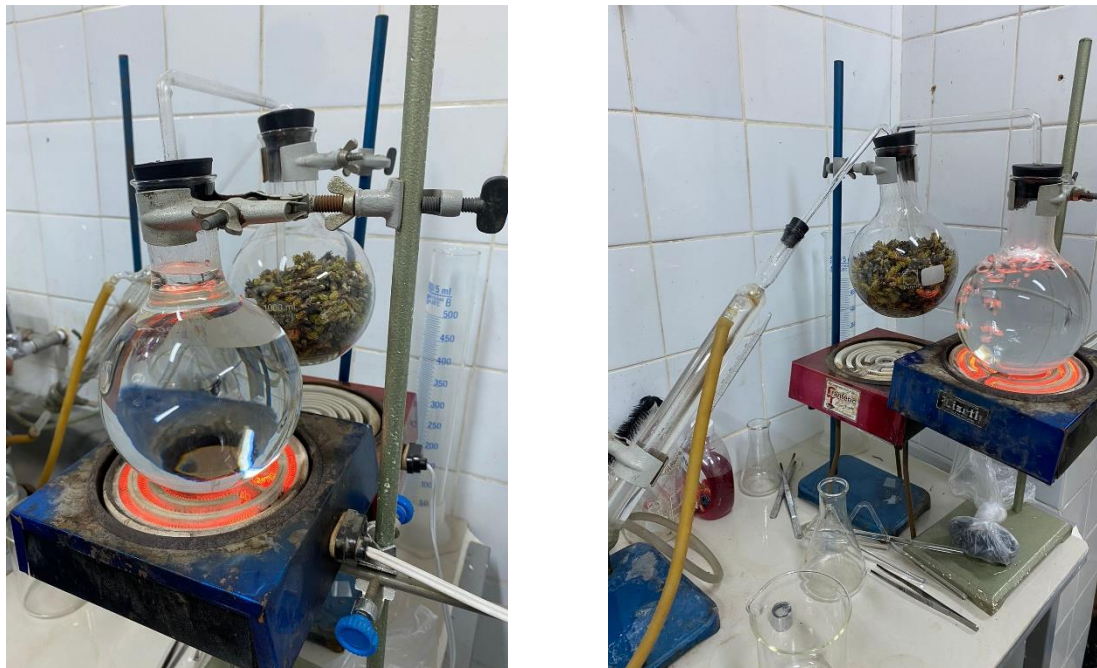


Figura 5-6: Método de destilación por arrastre de vapor para *Xenophyllum poposum*



Figura 7: Aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

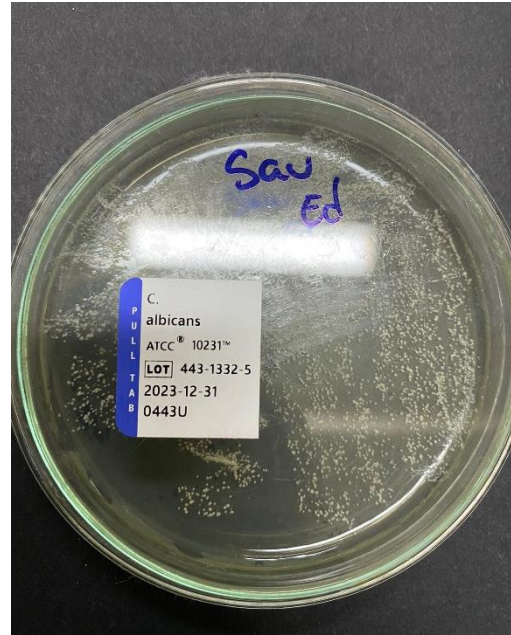


Figura 8-9: Cepa microbiana de Candida albicans ATCC 10231



Figura 10-11: Activación de la cepa microbiana de Candida albicans ATCC 10231



Figura 12-13-14: Medios de cultivo utilizados



Figura 15-16: Preparación de medios de cultivo



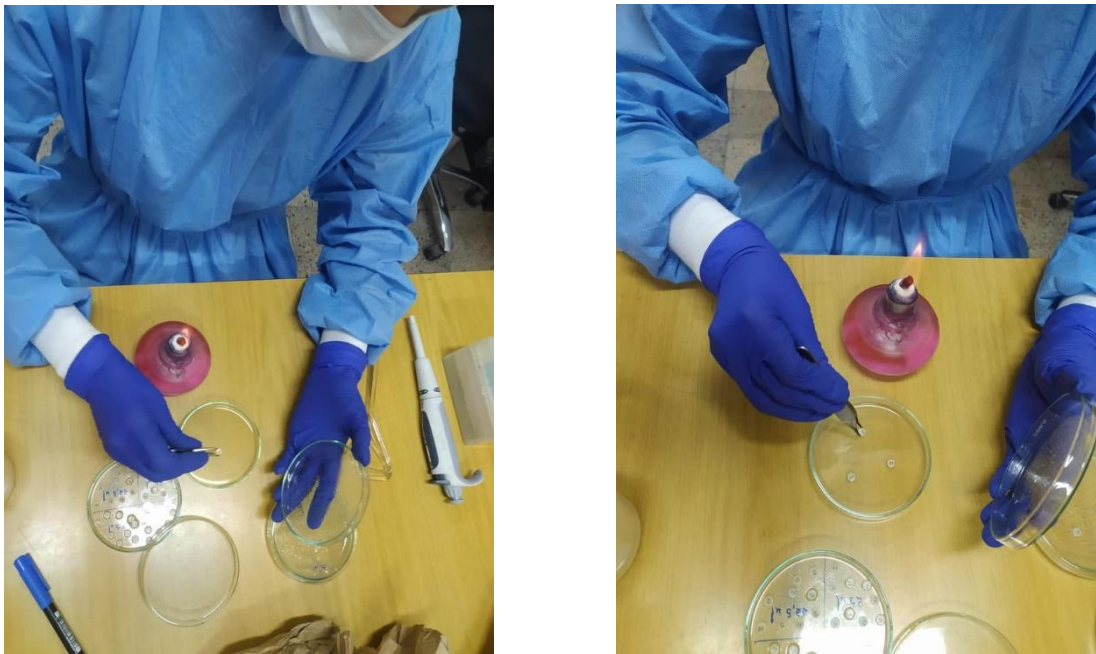


Figura 17-18: Distribución de los discos embebidos con aceite esencial sobre las placas inoculadas.

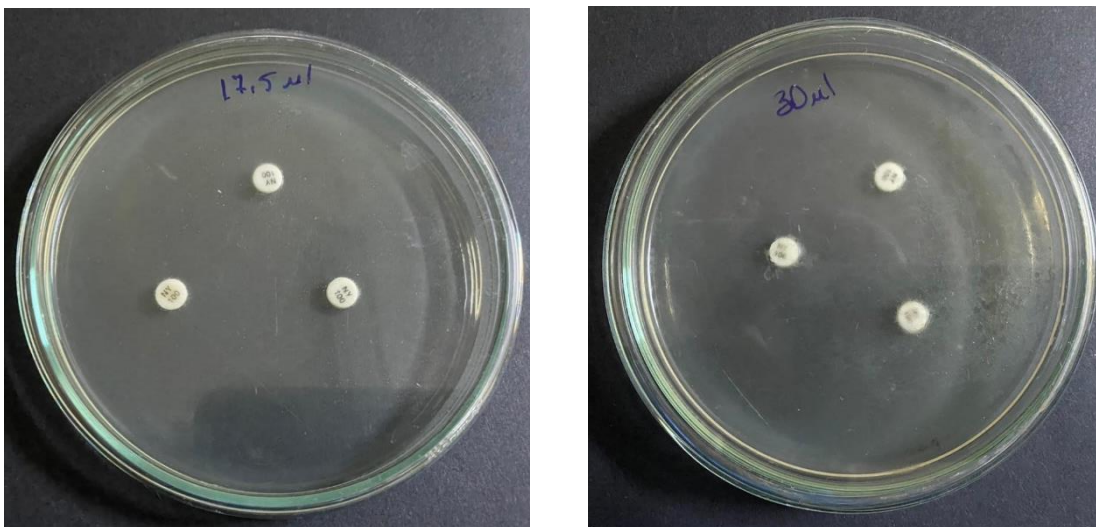


Figura 19-20: Primeros resultados de la sensibilidad de *Candida albicans* frente al aceite esencial de *Xenophyllum poposum* que indicaban que era necesario reducir las concentraciones para poder determinar la CMI debido a la fuerte actividad antimicótica que presentaba.

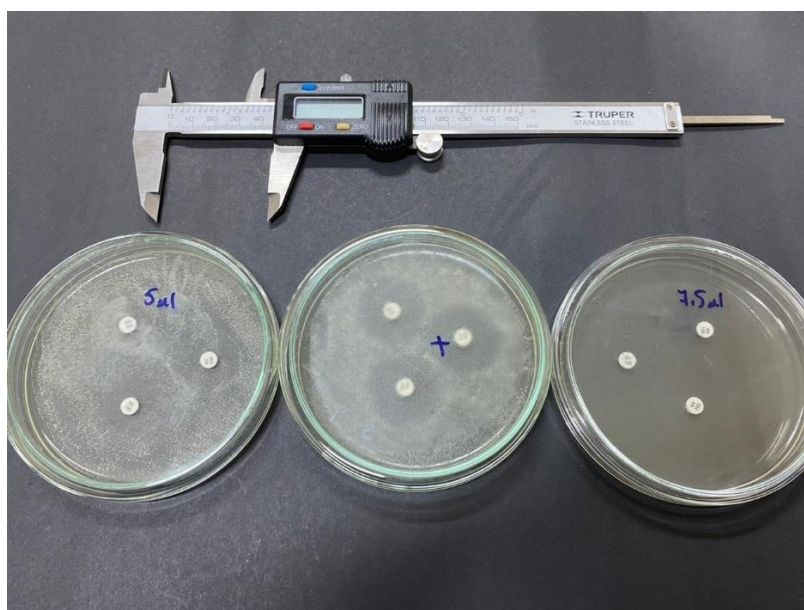
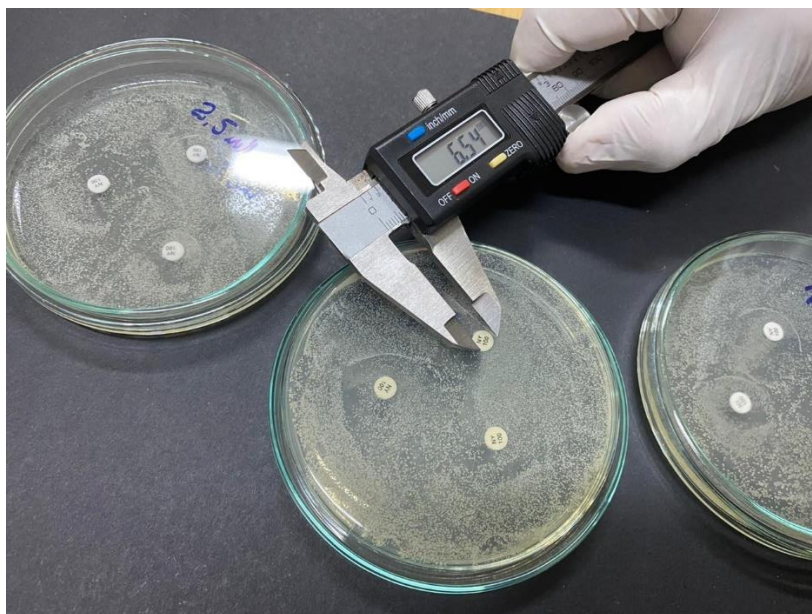


Figura 21-22: Halos representativos de la sensibilidad de *Candida albicans* frente al aceite esencial de *Xenophyllum poposum*, después de haber reducido las concentraciones.

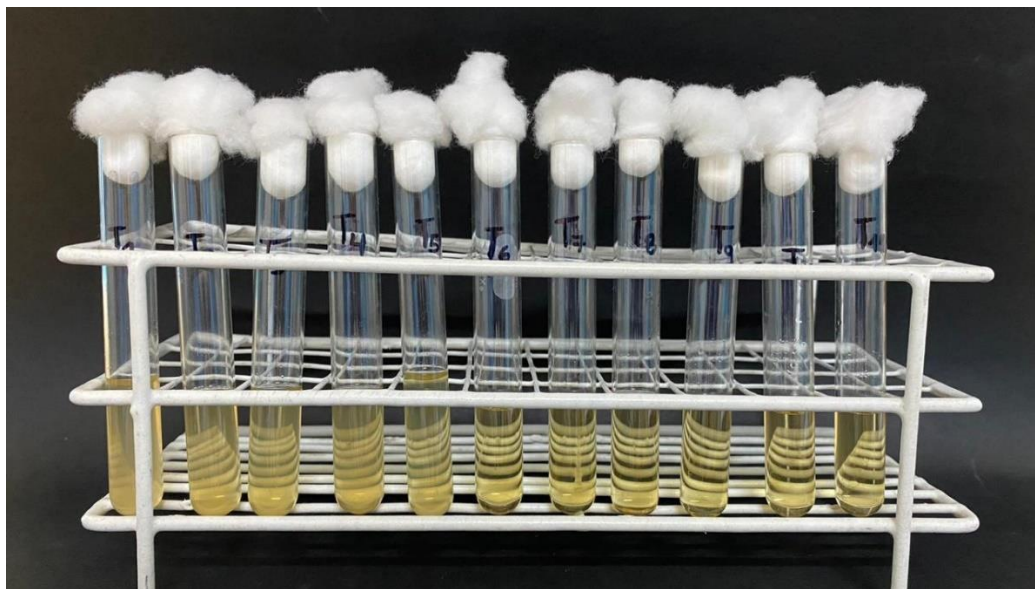


Figura 23: Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Xenophyllum poposum* frente a cepas microbianas de *Xenophyllum poposum* ATCC 10231

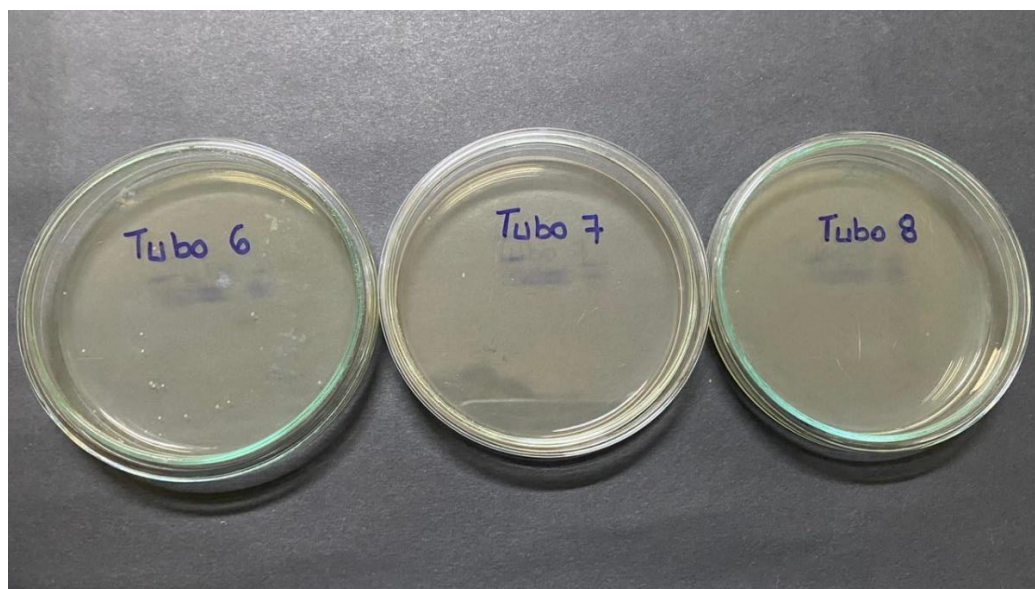


Figura 24: Unidades formadoras de colonias representativas de la prueba Concentración mínima fungicida (CMF)



Figura 25-26: Elaboración del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum*

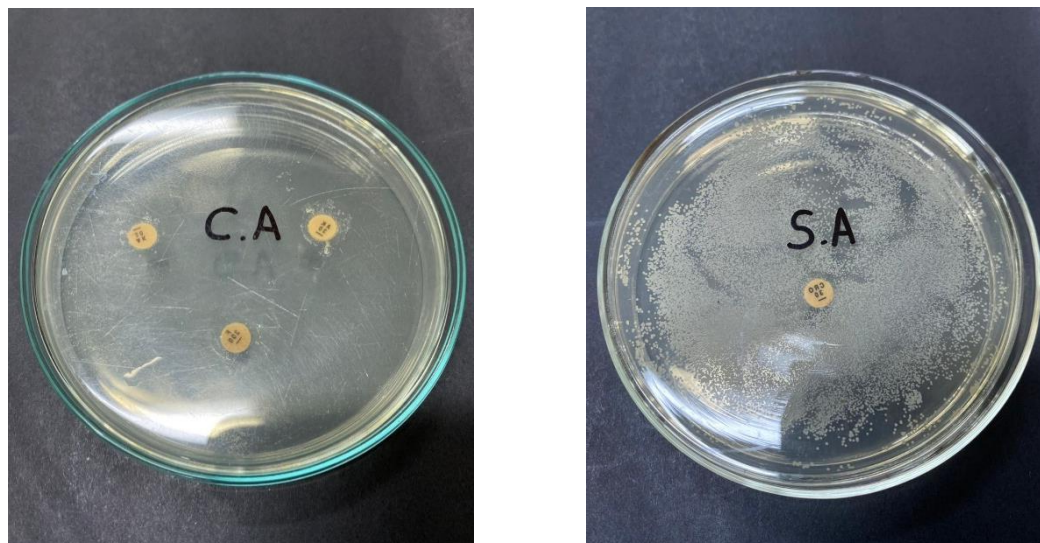


Figura 27-28: Efecto antimicótico del enjuague bucal a base de aceite esencial de *Xenophyllum poposum* versus la misma fórmula del enjuague sin el principio activo del aceite